



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

**CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES Y SU APLICACIÓN
COMO ENVASE ACTIVO EN ZARZAMORA (*Rubus fruticosus*) PARA EL
CONTROL DE PODREDUMBRE GRIS.**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

AHTZIRI SÁNCHEZ SOTO

ASESOR: DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ

CO-ASESOR: M. en C. ALMA ADELA LIRA VARGAS

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

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



**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

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

Caracterización de películas biodegradables y su aplicación como envase activo en zarzamora (Rubus fruticosus) para el control de podredumbre gris

Que presenta la pasante: Ahtziri Sánchez Soto

Con número de cuenta: 306523133 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 13 de junio de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Francisco Montiel Sosa	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	IA. Verónica Romero Arreola	
2do. SUPLENTE	Dr. Omar Reyes Martínez	

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

*El presente trabajo fue financiado por el proyecto
PAP997: Desarrollo de envases activos para la
conservación de productos frescos y mínimamente
procesados (IT201513), de la Dirección General de
Asuntos del personal Académico de la UNAM.*



DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mi familia, a mi mami Rosario y a mi papá Gerardo, por todo el amor, felicidad, confianza y alegría durante toda mi vida a su lado, a mi hermana Liz y hermano José, a todos y cada uno de mis sobrinos que me han brindado tanta alegría y dicha en estos años, a mis tíos y primos que me han dado todo su cariño y confianza para ser la persona que soy ahora, a mis amigos Ailed, Nayeli, Mary, Jess, Paola y Nata por estos años en los que aprendí a compartir, disfrutar y sobre todo a confiar, gracias por todo su cariño.

Finalmente este trabajo de investigación también es para ti mi amor, que has sido un apoyo fundamental y único en mi vida, esto es por y para ti Cristian.

Sin ustedes lo que he logrado hasta el momento no sería lo mismo, agradezco a Dios por cada una de las personas que han tocado mi vida en distintas maneras porque son la esencia de lo que soy y seré.

¡Vamos por más!

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por darme la fortuna de formar parte de una familia extraordinaria rodeada de amor, seguridad, confianza, apoyo y entusiasmo para seguir adelante.

A mis padres, que sin importar lo que suceda han luchado para que siga y consiga mis sueños.

A mi mami **Rosario Soto**, por ser la mujer fuerte e inteligente que me ha enseñado a no rendirme sin importar los obstáculos que se presenten, gracias por nunca dejarme sola, por darme más de lo que necesito, por ser mi guía, mi fuerza, mi motivación, por ser más que una buena madre, **TE AMO** mamá, gracias por esto y por todo.

A mi papi **Gerardo Sánchez**, por ser el hombre que me ha enseñado a ser trabajadora y responsable, por enseñarme a valorar lo que se tiene. Gracias papá porque sé que luchaste cada día para darme lo mejor **TE AMO** por ser el gran ser humano que eres.

A mi hermana **Lizbeth Sánchez**, por ser mi confidente, mi alegría y mi apoyo incondicional, gracias hermana por cada momento que hemos pasado juntas, estoy orgullosa de la mujer que eres y de lo que has logrado, **TE AMO** mucho.

A mi hermano **José Sánchez**, porque a pesar de la distancia siempre no has procurado, por ser el gran hombre de familia en el que te convertiste, gracias por ser mi hermanito **TE AMO**.

A mis sobrinos **Layla, Erick, Andrés y Miguel Ángel**, por darme tantas horas de alegría y de risas, por demostrarme todo su amor con tan sólo una sonrisa, por esas horas de juego y cansancio, por enseñarme que la vida sin ustedes no sería igual, **LOS AMO** como no se imaginan.

*A mis tíos y tías, primos y primas, que me han motivado para seguir adelante y que de alguna manera sin saberlo me impulsan con su cariño y confianza en mí para querer lograr más cada día, pero en especial gracias mi tía **Toña** por ser mi segunda mamá, por abrazarme con tanto amor, por darme los consejos que sólo una madre podría dar, por siempre sonreírme y recibirme con la más cálida de las bienvenidas, gracias Toñita **TE AMO**, a mi prima **Lupita** por ser mi hermanita, por compartir conmigo tantos momentos inigualables y que sin duda hemos aprendido tanto de ellos, por darme tanto amor con tan sólo mirarte, por hacerme sentir ese cariño y admiración por una persona, por ser más de lo que siempre he necesitado, estoy orgullosa de ti prima de quien eres y de lo que llegarás a ser y agradezco a la vida la oportunidad de tenerte a mi lado, **TE AMO**.*

*A **Ailed Pérez y Nayeli Cervantes**, por ser mis amigas y hermanas durante tanto tiempo, por quererme, aconsejarme y cuidarme de una manera tan especial, por ser de las mujeres que luchan por conseguir lo que quieren y que arrastran a los demás con su alegría y ganas de seguir adelante como lo han hecho conmigo, **LAS AMO** amigas, gracias por todo y por tanto.*

*A **Maria Helena Cano**, porque definitivamente sin ti la carrera no hubiera sido la misma, gracias por toda tu confianza, amor, seguridad y amistad, gracias por tantas y tantas pláticas con las que me permitías aprender más de ti, conocerte mejor y quererte aún más, **TE AMO** burrita, gracias por ser parte de mi vida.*

*A **Jessica Manriquez**, por todos tus consejos, detalles, cariño y por tu gran amistad, por ser de las personas que logran sus metas y que sin importar los momentos buenos o malos de la vida todo lo controlas con una sonrisa sincera y tranquila, gracias por enseñarme que un mal momento se vive mejor con una sonrisa, **TE AMO** Jess.*

*A **Natanael Montiel**, por ser el amigo que siempre quise, por tus cuidados, cariño y por tu gran actitud para resolver cada problema al que te enfrentaste, porque aún recuerdo que fuiste tú a la primera persona con quien hablé el primer día de la carrera y espero seguir contando contigo durante toda mi vida, gracias Nats, **TE QUIERO MUCHO**.*

*A **María Paola Juárez**, por tus carcajadas a todo momento, por tus ganas de seguir adelante, porque siempre me enseñaste a ver lo mejor de las personas y a disfrutar de cada momento, gracias Pao por tu confianza y cariño, gracias por ser la niña encantadora que eres.*

*Al amor de mi vida **Cristian Moreno**, porque has sido tú mi apoyo en todo momento, porque me enseñaste que la vida es hermosa cuando se comparte con personas como tú, por todos tus consejos, seguridad y amor, por tu mirada que me impulsa a seguir adelante y a lograr más, gracias por nunca dejarme sola y por estar ahí cuando he necesitado de alguien, porque no me imagino sin ti, **TE AMO** Cris y no hay día que pase sin agradecer a la vida por haberte conocido, eres simplemente todo lo que quiero.*

*A la **M. en C. Selene Pascual**, por tu disposición y ayuda desinteresada durante la realización de este proyecto, por siempre brindarme lo mejor de ti mediante sugerencias para lograr la mejora continua de este trabajo, gracias por tu tiempo invertido en ayudarme.*

*A la **M. en C. Alma Adela Lira**, por darme la oportunidad de conocerte, por todo el apoyo para la realización de este proyecto, por compartir conmigo tu conocimiento y experiencia sobre el tema, por esperar siempre lo mejor de mí y motivarme a lograrlo, por tus consejos, dedicación y tiempo que me ofreciste en la realización de mi tesis, muchas gracias Ade, te voy a recordar siempre.*

*A la **Dra. Andrea Trejo**, por darme la oportunidad de tenerla como asesora, por todas y cada una las facilidades en el laboratorio de postcosecha, además de las nuevas y maravillosas experiencias que me permitió vivir durante el taller, gracias por proporcionarme su apoyo, experiencia, conocimiento y tiempo en la realización y mejora de este proyecto, pero sobre todo quiero agradecerle sus consejos y la exigencia profesional que siempre mostró ya que fueron esas cosas las que me impulsaron a lograr lo mejor y las más altas de mis expectativas, gracias Doctora porque es usted un ejemplo a seguir en mi vida profesional, todo mi respeto, cariño y admiración a usted. ¡Muchas gracias Doc!*

*A mis compañeros que formaron parte del laboratorio de postcosecha: **Betty, Marisol, Karla, Rodrigo y Mauricio** por permitirme conocerlos mejor, por su compañerismo y por hacer que mi experimentación fuera más amena y hasta divertida ¡gracias por hacer de este taller el mejor!*

*A la generación **J.A. 33** por compartir tristezas, alegrías, euforias, triunfos, desvelos, esfuerzo e infinidad de sentimientos que nos hicieron llegar hasta donde hoy nos encontramos, por permitirme conocer a tantas personas de maneras distintas porque también ustedes son parte de este logro...*

*A mis sinodales el **Dr. José Francisco Montiel Sosa**, a la **Dra. Carolina Moreno Ramos**, la profesora **J.A. Verónica Romero Arreola** y el **Dr. Omar Reyes Martínez**, por su tiempo invertido en la revisión y mejora de este proyecto ¡Muchas gracias!*

*A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por permitirme formar parte de ella, por brindarme todas las facilidades durante el transcurso de mi carrera, los mejores profesores, la mejor formación, por hacerme una egresada segura capaz de competir con cualquier profesionista, por brindarme las bases*

sólidas para lograr un excelente futuro... Porque sé que lo demás sólo depende de mí.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán la cual siempre me brindó su apoyo y todo tipo de disposiciones durante toda mi carrera, permitiéndome alcanzar uno más de mis sueños ¡Gracias!

La confianza en sí mismo es el primer secreto del éxito.

Ralph W. Emerson

Poeta y pensador estadounidense

La ignorancia afirma o niega rotundamente, la ciencia duda.

Voltaire

Filósofo y escritor francés

Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad.

Albert Einstein

Físico alemán

Lo que hacemos no es nunca comprendido, y siempre es acogido sólo por los elogios o por la crítica.

Friedrich Nietzsche

Filósofo alemán

Convenría sentir menos curiosidad por las personas y más por las ideas...

Marie Curie

Química y física polaca

**ÍNDICE GENERAL**

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ABREVIATURAS	XIV
RESUMEN	2
1. INTRODUCCIÓN	5
2. ANTECEDENTES	
2.1. Generalidades de la zarzamora	7
2.1.1. Origen	7
2.1.2. Morfología y taxonomía	9
2.1.3. Importancia económica	11
2.1.3.1. Mercado internacional	11
2.1.3.2. Mercado nacional	13
2.1.4. Composición química y valor nutrimental	16
2.1.5. Variedades	20
2.1.6. Plagas y enfermedades	21
2.1.6.1. Podredumbre gris	24
2.1.7. Métodos de conservación de la zarzamora	27
2.2. Generalidades de recubrimientos comestibles	29
2.2.1. Definición y origen	29
2.2.2. Propiedades	30
2.2.3. Componentes de formación	32
2.2.3.1. Matriz	32
2.2.3.2. Aditivos	34
2.2.4. Aplicaciones	35
2.3. Generalidades de extractos vegetales	38



2.3.1. Definición	38
2.3.2. Plantas empleadas para extractos	38
2.3.3. Métodos de extracción	40
2.3.4. Composición química de los extractos vegetales	42
3. OBJETIVOS	51
4. MATERIALES Y MÉTODOS	54
4.1. Materiales biológicos	56
4.2. Elaboración de películas	56
4.3. Extracción de componentes bioactivos	57
4.4. Evaluación de las propiedades antifúngicas de extractos de plantas	57
4.4.1. Crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i>	57
4.4.2. Pruebas <i>in vitro</i> de las propiedades antifúngicas de los distintos extractos etanólicos	58
4.5. Elaboración de modelos de películas comestibles	59
4.6. Pruebas <i>in vitro</i> de los envases activos	60
4.6.1. Pruebas <i>in vitro</i> de las propiedades antifúngicas de los distintos envases activos	60
4.7. Caracterización de las propiedades de los modelos de películas	61
4.8. Pruebas <i>in vivo</i> en zarzamora fresca	61
4.8.1. Tratamiento de la muestra	61
4.8.2. Obtención del inóculo	62
4.8.3. Aplicación del inóculo y recubrimiento a zarzamoras frescas	63
4.9. Técnicas analíticas	65
4.9.1. Compuestos fenólicos de los extractos etanólicos	65
4.9.2. Propiedades físicas de las películas	65
4.9.2.1. Determinación de color	65
4.9.2.2. Determinación de espesor	67
4.9.2.3. Determinación de transparencia	67
4.9.3. Propiedades de barrera de películas	67



4.9.3.1. Determinación de permeabilidad al vapor de agua	68
4.9.4. Parámetros de calidad de las zarzamoras	70
4.9.4.1. Determinación de color	70
4.9.4.2. Determinación de pérdida de peso	70
4.9.4.3. Determinación de índice de decaimiento	70
4.9.4.4. Determinación de liberación de líquido	71
4.9.5. Parámetros fisicoquímicos	72
4.9.5.1. Determinación de sólidos solubles	72
4.9.5.2. Determinación de acidez titulable	72
4.9.5.3. Determinación de pH	73
4.9.6. Parámetro fisiológico	74
4.9.6.1. Determinación de respiración	74
4.9.7. Parámetros químicos	75
4.9.7.1. Determinación de capacidad antioxidante	75
4.9.7.2. Determinación de antocianinas	76
4.9.8. Determinación de parámetros sensoriales	77
4.9.9. Análisis estadístico	78
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
5.1. Propiedades físicas	80
5.1.1. Determinación de color	80
5.1.2. Determinación de espesor	85
5.1.3. Determinación de transparencia	87
5.2. Propiedades de barrera	89
5.2.1. Permeabilidad al vapor de agua	89
5.3. Evaluación de las propiedades antifúngicas de extractos de plantas	94
5.3.1. Pruebas <i>in vitro</i> de las propiedades antifúngicas de los distintos extractos etanólicos	94
5.3.2. Inhibición del crecimiento micelial empleando extractos acuosos	100
5.4. Evaluación de las propiedades antifúngicas de envases activos	105
5.4.1. Inhibición del crecimiento micelial empleando envases	



activos	105
5.5. Pruebas <i>in vivo</i> en zarzamora fresca con aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionados con extractos naturales	108
5.5.1. Parámetros de calidad	108
5.5.1.1. Determinación de color	108
5.5.1.2. Determinación del índice de decaimiento	114
5.5.2. Parámetros fisicoquímicos	119
5.5.2.1. Determinación de sólidos solubles	119
5.5.2.2. Determinación de pH	122
5.5.2.3. Determinación de acidez	124
5.5.3. Parámetro fisiológico	127
5.5.3.1. Determinación de respiración	127
5.6. Pruebas <i>in vivo</i> en zarzamora fresca con aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionados con extractos naturales	130
5.6.1. Parámetros de calidad	130
5.6.1.1. Determinación de color	130
5.6.1.2. Determinación de pérdida de peso	135
5.6.1.3. Determinación del índice de decaimiento	139
5.6.1.4. Determinación de liberación de líquido	143
5.6.2. Parámetros fisicoquímicos	146
5.6.2.1. Determinación de sólidos solubles	146
5.6.2.2. Determinación de pH	148
5.6.2.3. Determinación de acidez	151
5.6.3. Parámetro fisiológico	153
5.6.3.1. Determinación de respiración	153
5.6.4. Parámetros químicos	155
5.6.4.1. Determinación de capacidad antioxidante	155
5.6.4.2. Determinación de antocianos	160
5.6.5. Determinación de parámetros sensoriales	165
6. CONCLUSIONES	170



7. RECOMENDACIONES

173

8. REFERENCIAS

176



ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Clasificación taxonómica de la zarzamora.	9
Tabla 2. Descripción morfológica de la zarzamora.	9
Tabla 3. Composición nutritiva por 100 g de proporción comestible de zarzamora.	16
Tabla 4. Características de los principales compuestos fenólicos presentes en frutillas.	19
Tabla 5. Variedades de zarzamora.	20
Tabla 6. Principales enfermedades presentes en la zarzamora.	22
Tabla 7. Plagas presentes en la zarzamora.	23
Tabla 8. Clasificación taxonómica de <i>Botrytis cinerea</i> .	25
Tabla 9. Métodos de conservación en frutillas.	28
Tabla 10. Funciones de los películas comestibles.	31
Tabla 11. Materiales empleados como matrices en recubrimientos comestibles.	32
Tabla 12. Usos y aplicaciones de carboximetilcelulosa y maltodextrina.	34
Tabla 13. Aditivos empleados en la elaboración de recubrimientos comestibles.	35
Tabla 14. Aplicación de diversas formulaciones de recubrimientos comestibles.	37
Tabla 15. Consistencia de los extractos etanólicos.	38
Tabla 16. Plantas utilizadas para extractos etanólicos.	39
Tabla 17. Métodos de extracción.	41
Tabla 18. Compuestos polifenólicos identificados en el extracto etanólico de Orégano.	45
Tabla 19. Estándares empleados para la identificación de compuestos polifenólicos en el extracto etanólico de Hoja Sen.	46
Tabla 20. Componentes bioactivos del Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago.	47
Tabla 21. Escala de índice de decaimiento.	71
Tabla 22. Escalas hedónicas empleadas para los parámetros sensoriales de las zarzamoras.	77
Tabla 23. Seguimiento fotográfico de la inhibición de crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i> por la actividad de los extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago a las distintas concentraciones estudiadas.	99
Tabla 24. Seguimiento fotográfico de la inhibición de crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i> por la actividad de los extractos acuosos de	



	Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago a concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm.	104
Tabla 25.	Seguimiento fotográfico de la inhibición de crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i> por la actividad de los recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa 0.5% y maltodextrina 7% adicionados extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago a 3000 ppm.	107
Tabla 26.	Seguimiento fotográfico de las zarzamoras recubiertas a base de carboximetilcelulosa 0.5% adicionadas con extractos etanólicos de Orégano y Hoja Sen a 3000 ppm para el parámetro de índice de decaimiento.	118
Tabla 27.	Seguimiento fotográfico de las zarzamoras recubiertas a base de carboximetilcelulosa 0.5% adicionadas con extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm para el parámetro de índice de decaimiento.	142



ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Imagen de un racimo de zarzamoras.	7
Figura 2. Estados productores de zarzamora en México.	8
Figura 3. Porcentaje de exportaciones de zarzamora mexicana a diferentes países del 2006-2011.	12
Figura 4. Producción de zarzamora mundial.	13
Figura 5. Producción de zarzamora en México.	14
Figura 6. Principales estados productores de zarzamora en México.	15
Figura 7. Características macroscópicas (A) y microscópicas (B) de <i>Botrytis cinerea</i> .	25
Figura 8. Zarzamoras infectadas con <i>Botrytis cinerea</i> .	26
Figura 9. Ciclo de infección de <i>Botrytis cinerea</i> .	27
Figura 10. Estructura de la carboximetilcelulosa.	33
Figura 11. Electroferograma de la identificación de los compuestos polifenólicos de los extractos preparados con Orégano (<i>Lippia greveolens</i>) proveniente de Saltillo, Coahuila. (A) Extracto acuoso, (B) Extracto etanol: agua (30:70), (C) Extracto etanol: agua (50:50), (D) Extracto etanol: agua (70:30).	44
Figura 12. Electroferograma de la identificación de los compuestos polifenólicos del extracto etanólico de Hoja Sen (<i>Cassia angustifolia Vhal</i>).	45
Figura 13. Electroferograma de la identificación de los compuestos polifenólicos del extracto etanólico de Sangre de Drago (<i>Jatropha spp.</i>).	47
Figura 14. Cuadro metodológico.	54
Figura 15. Material biológico para la experimentación.	56
Figura 16. Siembra de un cultivo nuevo de <i>Botrytis cinerea</i> .	58
Figura 17. Obtención de explantes de <i>Botrytis cinerea</i> para las pruebas <i>in vitro</i> .	59
Figura 18. Imagen de las distintas formulaciones de películas adicionadas con extractos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago durante el periodo de secado.	59
Figura 19. (A) Prueba <i>in vitro</i> de medio conformado por recubrimiento más agar adicionado con extracto etanólico de Orégano día cero. (B) Medio conformado por recubrimiento más agar adicionado con extracto etanólico de Sangre de Drago día cero. (C) Medio conformado con recubrimiento más agar adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen día cero.	60
Figura 20. Selección de la zarzamora.	61



Figura 21.	(A) Solución de Tween al 0.5 % estéril y cultivo de <i>Botrytis cinerea</i> de 10 días (B) Adición de 5 ml de Tween 0.5% al cultivo de <i>Botrytis cinerea</i> (C) Raspado del cultivo.	62
Figura 22.	Cámara de NeuBauer para el conteo de esporas.	63
Figura 23.	Diagrama de aplicación de recubrimiento comestible a zarzamora fresca.	64
Figura 24.	Colorímetro marca Minolta modelo CR-300.	66
Figura 25.	Medición de espesor del recubrimiento comestible de carboximetilcelulosa al 1 % con orégano en modelo de película.	67
Figura 26.	Muestra de dos formulaciones de recubrimiento comestible en modelo de película para la prueba de transparencia.	68
Figura 27.	Cámara de ambientación durante la determinación de permeabilidad al vapor de agua.	69
Figura 28.	(A) Lote de zarzamora marcado para su identificación durante la cinética de pérdida de peso. (B) Determinación de pérdida de peso de cada zarzamora.	70
Figura 29.	(A) Vista superior durante la determinación de desprendimiento de líquido de la zarzamora (B) Vista lateral durante la aplicación de peso (100 g) en la zarzamora.	71
Figura 30.	Refractómetro manual.	72
Figura 31.	Titulación volumétrica del jugo de zarzamora.	73
Figura 32.	Potenciómetro manual HANNA.	73
Figura 33.	(A) Analizador de gases. (B) Determinación del parámetro de respiración de zarzamoras.	75
Figura 34.	Elaboración del extracto de zarzamora para la realización de la prueba de capacidad antioxidante.	76
Figura 35.	Muestras montadas de zarzamoras a los 12 días de almacenamiento refrigerado para la realización de la evaluación sensorial de las mismas.	77
Figura 36.	Croma de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm.	80
Figura 37.	Tono (°Hue) de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm.	82
Figura 38.	Luminosidad de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y	



- maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. **85**
- Figura 39.** Espesor de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. **86**
- Figura 40.** Transparencia de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. **88**
- Figura 41.** Permeabilidad al vapor de agua de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. **90**
- Figura 42.** Porcentaje de inhibición de los extractos etanólicos de (A) Orégano (B) Hoja Sen y (C) Sangre de Drago en pruebas *in vitro* a tres distintas concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm). **94**
- Figura 43.** Porcentaje de inhibición de los extractos acuosos de (A) Orégano (B) Hoja Sen y (C) Sangre de Drago en pruebas *in vitro* a tres distintas concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm). **100**
- Figura 44.** Porcentaje de inhibición de los recubrimientos comestibles adicionados con extractos etanólicos de Sangre de Drago, Hoja Sen y Orégano a una concentración de 3000 ppm en matriz de carboximetilcelulosa (A) y maltodextrina (B) empleando el método de adición del extracto al medio de cultivo envenenado (PDA). **105**
- Figura 45.** Cambios en croma de las zarzamoras recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento en refrigeración. (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). **108**
- Figura 46.** Cambios en el tono de las zarzamoras recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento en refrigeración. (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). **111**



- Figura 47.** Cambios en la luminosidad de las zarzamoras recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento en refrigeración. (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). 112
- Figura 48.** Índice de decaimiento de las zarzamoras cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos sin infectar (B) Tratamientos infectados. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). 115
- Figura 49.** Sólidos solubles de las zarzamoras cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos sin infectar (B) Tratamientos infectados. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). 120
- Figura 50.** Cambios de pH de las zarzamoras cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos sin infectar (B) Tratamientos infectados. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). 122
- Figura 51.** Cambios en la acidez titulable de las zarzamoras cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos sin infectar (B) Tratamientos infectados. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). 125
- Figura 52.** Respiración de zarzamora cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% sin extractos etanólicos durante almacenamiento refrigerado. Donde: Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE). 128



- Figura 53.** Cambios de croma en zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 130
- Figura 54.** Cambios de tono en zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 132
- Figura 55.** Cambios de luminosidad en zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 134
- Figura 56.** Pérdida de peso de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 137
- Figura 57.** Índice de decaimiento de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 140
- Figura 58.** Liberación de líquido de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 144
- Figura 59.** Sólidos solubles de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: ZC= Zarzamora de campo, ZSI= Zarzamora sin infectar,



- ZI=Zarzamora infectada, RSE= Recubrimiento sin extracto, RH= Recubrimiento + extracto Hoja Sen. 146
- Figura 60.** pH de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 149
- Figura 61.** Acidez de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 151
- Figura 62.** Capacidad antioxidante de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 156
- Figura 63.** Contenido de antocianos de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 162
- Figura 64.** Perfiles sensoriales de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Día 0 (B) Día 12. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). 166



ABREVIATURAS

CMC: carboximetilcelulosa

PC: películas comestibles

RC: recubrimientos comestibles

PDA: agar papa y dextrosa

mL: mililitros

L: litros

ppm: partes por millón

mg: miligramos

μL: microlitros

HR: humedad relativa

mm: milímetros

nm: nanómetros

Fd: factor de dilución

PVA: permeabilidad al vapor de agua

Pa: pascales

HPMC: hidroxipropilmetilcelulosa

UVC: ultravioleta

ID: índice de decaimiento

GRAS: generally recognized as safe

ZC: zarzamoras de campo

ZSI+RSE: zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto

ZSI+RH: zarzamoras sin infectar con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen

ZSI+RO: zarzamoras sin infectar con recubrimiento adicionado con extracto de Orégano

ZI: zarzamoras infectadas

ZI+RSE: zarzamoras infectadas con recubrimiento sin extracto

ZI+RH: zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen

ZI+RO: zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto de Orégano



Resumen



RESUMEN

Uno de los principales problemas para la comercialización de la zarzamora es su alta perecibilidad. Por lo que, se comparó la efectividad de distintos recubrimientos comestibles con extractos etanólicos a base de: Orégano (*Lippia graveolens*), Sangre de Drago (*Jatropha sp.*) y Hojas Sen (*Cassia angustifolia Vahl*) en la vida útil de la zarzamora (*Rubus fruticosus*), para evitar la pudrición por *Botrytis cinerea* e incrementar su vida útil.

Las zarzamoras fueron seleccionadas, lavadas, desinfectadas y sumergidas en una solución de 0.5% de carboximetilcelulosa (CMC), 0.5% de polysorbato 80, 1% de glicerol y adicionada con extractos etanólicos de Orégano, Sangre de Drago y Hoja Sen por separado a 3000 ppm a una temperatura de 25°C y un tiempo de inmersión de 1:30 minutos. Los frutos se colocaron en charolas de PET para su almacenamiento a 4°C y a una H.R. de 85% durante 12 días. La caracterización de las películas modelo se realizó a base de propiedades físicas (color, transparencia y espesor) y de barrera (permeabilidad a vapor de agua), así como la evaluación del efecto antifúngico de los extractos etanólicos estudiados y los envases activos, finalmente se determinaron parámetros físicos (color, firmeza de la pulpa, pérdida de peso e índice de deterioro), fisicoquímicos (sólidos solubles, acidez titulable, pH), fisiológicos (tasa de respiración), químicos (capacidad antioxidante, fenoles, antocianinas) y características sensoriales de las zarzamoras una vez aplicados los distintos recubrimientos.

Para la caracterización de las diferentes películas, el mejor polisacárido fue carboximetilcelulosa al 0.5% presentando los valores más elevados en transparencia y luminosidad, además presentó la menor permeabilidad con respecto a todas las demás películas estudiadas.

El extracto que presentó valores más cercanos en luminosidad e intensidad de color a los obtenidos en las películas control fue el de Sangre de Drago.

Las pruebas *in vitro* mostraron que el extracto etanólico de Hoja Sen presentó una inhibición en el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* 22% mayor en comparación con los extractos de Orégano y Sangre de Drago.



En las pruebas *in vitro* de los envases activos al final del tiempo de incubación (12 días) la formulación a base de CMC y maltodextrina con extracto de Hoja Sen presentaron una inhibición del 11.07 y 10%, respectivamente.

La aplicación del recubrimiento CMC 0.5% adicionado con extracto etanólicos de Hoja Sen controló la pérdida de peso, pérdida de capacidad antioxidante, el índice de decaimiento, liberación de líquido, pérdida de antocianos y no afectó los parámetros de calidad (color, pH, acidez, °Brix) y fisiológicos (respiración), en la evaluación sensorial los panelistas no se percataron del sabor u olor del extracto de Hoja Sen en las zarzamoras en el día 0, mientras que al final del almacenamiento (día 12) las zarzamoras recubiertas fueron calificadas como “buenas” y las no recubiertas como “aceptables como límite de consumo”, por lo que los recubrimientos comestibles pueden ser una alternativa tecnológica para conservar esta fruta.



Introducción



1. INTRODUCCIÓN

La zarzamora (*Rubus fruticosus*) es un fruto especialmente rico en vitamina C y betacarotenos que, una vez ingeridos se convierten en vitamina A, lo que la hace una fuente rica en antioxidantes. Este fruto además presenta propiedades astringentes, antiescorbúticas, antiulcerosas, antiinflamatorias y anticancerígenas debido a su alto contenido de compuestos como son: ácido clorogénico, felúrico, ursólico y málico (García-Méndez, 2008).

La producción mundial de zarzamora, es de aproximadamente 735,162.93 Ton/año y en México, para el 2011 la producción sobrepasó las 133,000 Ton, siendo Michoacán el que produce alrededor del 93 % de toda la producción nacional (Chávez-Martínez, 2011).

Sin embargo, uno de los principales problemas para la comercialización y la vida de anaquel de la zarzamora, es su rápida perecibilidad en postcosecha, esto se debe principalmente a su alta tasa respiratoria, textura blanda, a su poca resistencia al manipuleo y al transporte. Además que se ve seriamente afectada por la enfermedad de podredumbre gris, ocasionada por el moho *Botrytis cinerea* (García-Méndez, 2008; Molina *et al.*, 2004; Alencastro, 2011).

Por otro lado, existen diversos métodos para conservación de la zarzamora como son: la refrigeración, las atmósferas controladas y modificadas. La aplicación de recubrimientos comestibles permite extender la calidad comercial del producto fresco, por un periodo preestablecido entre los siete y diez días en rubros altamente perecederos, siendo el grado de descomposición controlado por la acción de sustancias antioxidantes (Quintero *et al.*, 2010; Figueroa *et al.*, 2011).

Además el uso potencial de extractos de plantas como Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago adicionadas en matrices de recubrimientos para el control de microorganismos han sido evaluados y demostrada su efectividad a nivel laboratorio (Ramos-García *et al.*, 2010).

Por lo anterior, el presente trabajo tiene el objetivo de caracterizar películas biodegradables a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina, adicionadas con extracto de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago mediante propiedades físicas y de barrera, así como evaluar el efecto de su aplicación como envases activos en los parámetros de calidad, químico y sensorial de la zarzamora evitando la podredumbre gris y alargar la vida útil del fruto



Antecedentes



2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de la zarzamora

2.1.1. Origen

La zarzamora (Figura 1) es una planta invasora de crecimiento rápido generando raíces desde sus ramas. Alcanza a colonizar extensas zonas de bosque, monte bajo, laderas o formar grandes setos en un tiempo relativamente corto. También se conoce como blackberry y dewberry en inglés, mure sauvage en francés, brombeere en alemán y mora en italiano. (Chávez-Martínez, 2011).



Figura 1. Imagen de un racimo de zarzamoras.
Fuente: Chávez-Martínez (2011).

El conocimiento de la zarzamora se remonta al año 370 A.C. donde ya se usaba como alimento y con fines medicinales por lo que desde entonces y hasta el siglo XVI se han colectado de manera silvestre no solo en Grecia sino también en Europa. La zarzamora silvestre llegó a ser plaga en Australia y Sudamérica después de ser introducida por los colonizadores, debido principalmente a su rápida reproducción vegetativa y a la diseminación de semillas para aves (Chávez-Martínez, 2011).

Fue hasta el siglo XVII que se domesticó el cultivar “Evergreen” y el resto de los cultivares conocidos actualmente fueron producidos hasta el siglo XIX y XX. En América comenzaron a ser cultivadas por los años 1850-1860, el tipo “Himalaya” y “Evergreen” de Europa fueron las primeras en introducirse. En 1867 se listaron 18 cultivares, la mayoría seleccionados de plantas nativas. En Norteamérica fue a fines del siglo XIX que comenzaron a establecerse huertos comerciales en forma notable (Chávez-Martínez, 2011).



En México se encuentra distribuidas en zonas boscosas del centro y sur del país (Figura 2), la zarzamora crece aún silvestre y la utilización de sus frutillas data de tiempo inmemorables (López-Cruz, 2009).

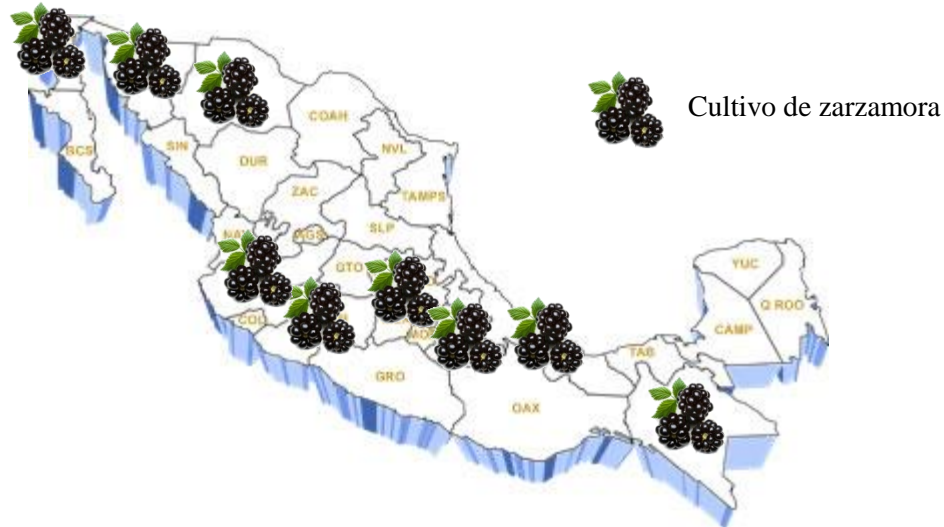


Figura 2. Estados productores de zarzamora en México.

Fuente: Muñoz y Juárez (2006).

Los aztecas ya conocían a la zarzamora y la llamaban “Coatlanti” o “Coatlmiltli”. Los Purépechas del estado de Michoacán conocen a la zarzamora con el nombre de “Satuni” y es en esta región donde la recolección y plantaciones tienen mayor importancia (López-Cruz, 2009).

La industria de la zarzamora en México data de mediados de los 80’s cuando se inician los primeros huertos comerciales en Morelos con el cultivar “Logan” y en Michoacán con “Brazos”. Nuevos cultivares provenientes de la universidad de Arkansas, fueron introducidos por Rodríguez Alcázar del colegio de Posgraduados del área de la fruticultura más importante de país. Además las condiciones favorables del clima y suelo así como la alta rentabilidad del cultivo ha sido un atractivo que ha permitido su establecimiento comercial en México (López-Cruz, 2009).

En Estados Unidos su cultivo se inicia a partir de 1920 en donde se realizaron los primeros intentos por estudiar la adaptación de cultivares de zarzamora introducidos hace ya varios años. Sin embargo, la zarzamora comienza a llamar la atención de los productores nacionales hasta 1992 (Chávez-Martínez, 2011).



2.1.2. Morfología y Taxonomía

La zarzamora pertenece a la familia de las *Rosaceae* una de las más importantes por números de especies, por su relevancia económica y su amplia distribución. Se ha reportado la siguiente clasificación taxonómica (Tabla 1) (Parra Quezada *et al.*, 2005):

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la zarzamora.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Subfamilia	<i>Rosoideae</i>
Género	<i>Rubus</i>
Especie	<i>Rubus fruticosus L.</i>

Fuente: Parra Quezada *et al.*, (2005).

En la actualidad existen varios cultivares de esta especie como son: “Shwnee”, “Rosborough”, “Brazos”, “Cheyenne”, “Darrow”, “Cherokee”, “Comanche”, “Navaho” y “Choctaw”. Algunos de esto se han adaptado a México, particularmente en zonas de estados como Michoacán, México y Puebla (Parra Quezada *et al.*, 2005).

La zarza, zarzamora o mora (*Rubus fruticosus*) está definida como un arbusto de aspecto sarmentoso, cuyas ramas, espinosas y de sección pentagonal, pueden crecer hasta 3 metros. En la Tabla 2 se muestran la descripción de cada una de las partes que componen a la zarzamora:

Tabla 2. Descripción morfológica de la zarzamora.



Parte de la planta	Descripción
Raíz 	<p>En la base de la planta se encuentra la corona, de donde se forman los tallos, la cual está conformada por una gran cantidad de raíces que se distribuyen en los primeros 30 cm del suelo y tienen disposición horizontal, formada por un rizoma secundario, la longitud varía entre 0.5 a 1.2 m. La raíz se forma a partir del cuello cicatrizal, en las estacas y acodos, y además, ésta permite la propagación al presentar yemas vegetativas capaces de activarse produciendo nuevos brotes.</p>



Tabla 2. Descripción morfológica de la zarzamora (continuación).

Parte de la planta	Descripción
<p>Tallo</p> 	<p>Es una planta de vegetación perenne, arbustiva semi-erecta, conformada por varios tallos espinosos con un diámetro entre 1 y 2 cm y que pueden crecer hasta 3 metros. Se encuentran cubiertos por polvo blanquecino.</p>
<p>Ramas</p> 	<p>La zarza puede presentar distintos tipos de ramas:</p> <p>Látigo. Son delgadas, con hojas pequeñas que crecen horizontalmente buscando el suelo y tienden a enterrarse, son improductivas.</p> <p>Vegetativas. Son ramas gruesas, con muchas espinas, presentan hojas cerradas, generalmente no son productivas, deben podarse para estimular la producción de nuevas ramas productivas.</p> <p>Productivas. Son ramas más gruesas que las látigos, pero más delgadas que las vegetativas, el crecimiento es vertical.</p>
<p>Hojas</p> 	<p>La mayoría son hojas alternas, compuestas y poseen tres folíolos ovoides de 3 a 5 cm, de largo, con espinas ganchudas. Son verde oscuro en el haz y blanquecinas en el envés.</p>
<p>Flor</p> 	<p>Son hermafroditas, ubicadas en racimos de unos 30 cm de largo que se distribuyen a lo largo de la rama o al final de la misma. El tamaño es de unos 2 cm de diámetro. Presentan 5 sépalos persistentes, el cáliz tiene 5 pétalos son ovados, de color blanco o rosados, los estambres son numerosos, separados y se disponen en series sobre las bases del receptáculo. Los estilos son filiformes, simples, cada pistilo tiene un ovario que da origen a un pequeño fruto carnoso llamado drupa.</p>
<p>Fruto</p> 	<p>Es un agregado de frutas adheridas al receptáculo floral común, que se desarrollan independientes cada una, en conjunto parecen un cono de 1 a 2.5 cm de longitud, de color rojo oscuro en la madurez y púrpura cuando están sobremaduros, ácidos, las partes carnosa y jugosa son el epicarpio y el mesocarpio; el endocarpio es una poción lignificada, dura y envuelve a la semilla, en cada drupa madura existe una semilla. La maduración de los frutos no es uniforme cuando la floración no es homogénea.</p>

Fuente: Alencastro (2011); González (2010); Navarrete (2009).



2.1.3. Importancia económica

2.1.3.1. Mercado internacional:

Con la apertura comercial, las exportaciones se han incrementado favorablemente para los productos certificados, orgánicos y exóticos; entre estos últimos se encuentra la zarzamora. En el mercado internacional, la zarzamora mexicana se reconoce por su calidad en el sabor (López-Cruz, 2009).

En el mercado internacional, el comportamiento productivo de la zarzamora está determinado por dos grandes regiones de consumo: el mercado norteamericano y el mercado europeo. Del mercado norteamericano destaca el oeste de los Estados Unidos de Norteamérica, Oregon y Washington, zona proveída por Nueva Zelanda, México, Guatemala, Chile y Colombia. En el mercado europeo destacan como los principales países importadores y demandantes de zarzamora fresca: Inglaterra, Francia, Polonia, Yugoslavia, Alemania, Holanda, Italia y Bélgica-Luxemburgo; en este continente participa como exportador Chile, como único representante latinoamericano (Muñoz y Juárez, 2006).

Para el caso particular de México, el mercado europeo es el principal panorama de exportación (promedio de consumo del 97.8 % de las exportaciones). Asimismo se realizan algunos envíos a Canadá, España, Hong Kong y Argentina; los envíos a estos dos últimos, no son consistentes, se manejan ocasionalmente y con volúmenes marginales (Chávez-Martínez, 2011).

La Figura 3 muestra los porcentajes de la producción total exportada por México, así como los principales países importadores durante el periodo 2006-2011.

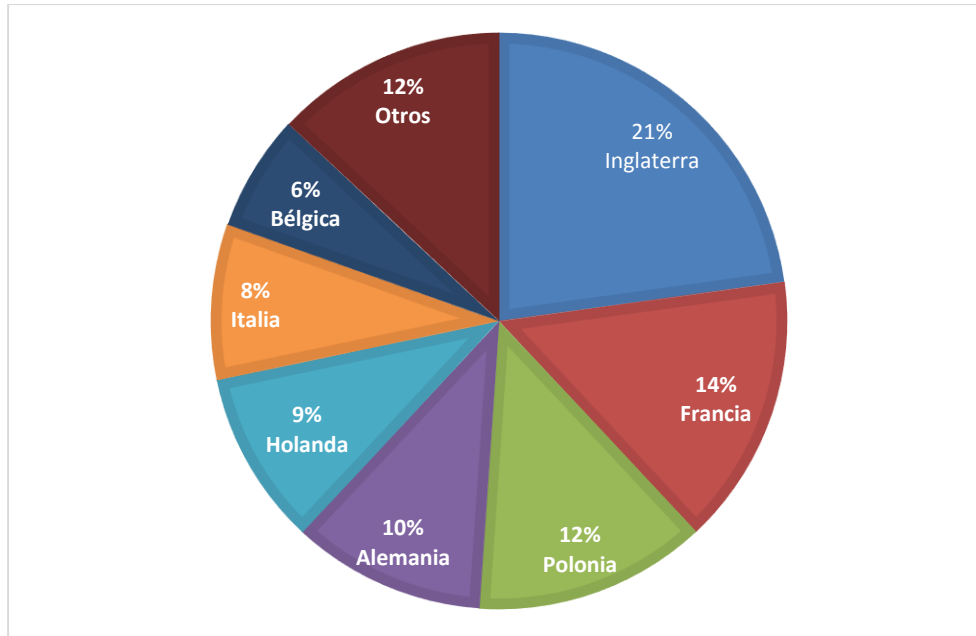


Figura 3. Porcentaje de exportaciones de zarzamora mexicana a diferentes países 2006-2011.

Fuente: Muñoz y Juárez (2006); Chávez-Martínez (2011).

Las importaciones de frambuesas y zarzamorras congeladas a México, provenientes de Chile, EUA y Guatemala se han efectuado con el objeto de satisfacer una demanda interna selectiva de abasto a nivel consumo en fresco, mermeladas y conservas. Ahora bien, el incremento registrado en las importaciones obedece principalmente, al descuido tradicional del mercado interno por los propios comercializadores nacionales que privilegian los envíos de la mejor fruta a los mercados de exportación, sin considerar el consumo interno en su planeación de ventas (González, 2010).

La producción mundial de zarzamora se estima que es de aproximadamente 730,000 Ton/año y se destina en su mayor parte a congelado (75%), aunque la presentación en fresco representa los mejores niveles de precio (Chávez-Martínez, 2011).

A continuación se presentan los principales países productores de zarzamora reportados por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en 2012 (Figura 4).

Entre los primeros países productores se encuentra México con un importante porcentaje (17 %) de tonelaje de zarzamora anual. Como líder de producción mundial se encuentra Estados Unidos seguido por Guatemala.

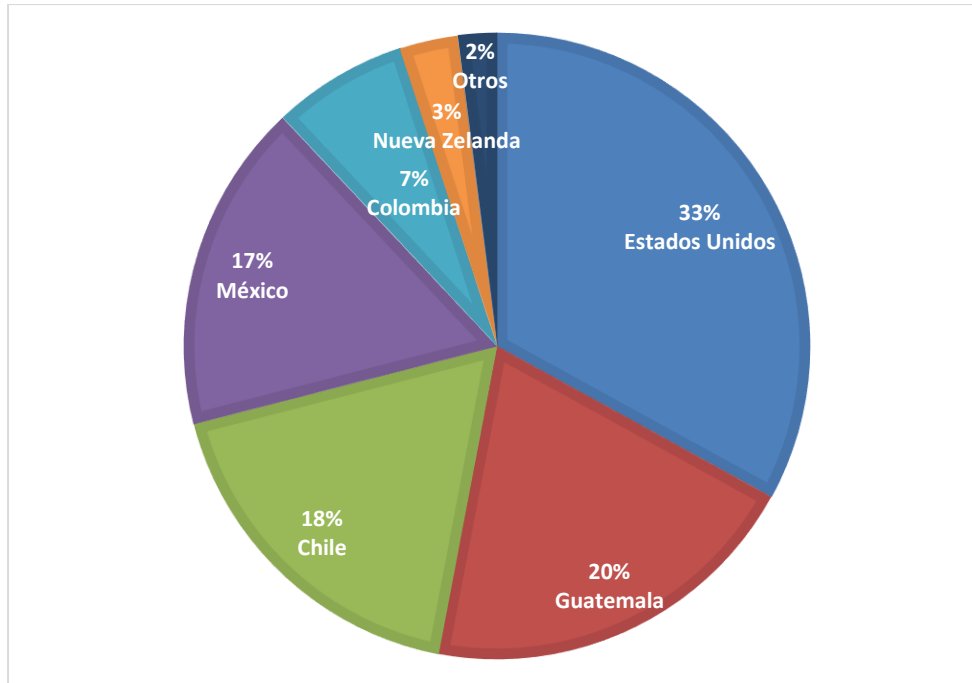


Figura 4. Producción de zarzamora mundial.
Fuente: SIAP (2012).

2.1.3.2. Mercado nacional:

La principal problemática que se presenta en la comercialización de zarzamora en México es la siguiente (FAO, 2011):



La ausencia de líneas de crédito ha limitado el potencial productivo/comercial de las explotaciones.



Se presentan problemas de asesoramiento técnico, como la adaptación de algunas variedades, prácticas y manejos inadecuados, sobre todo en las podas, no permiten el crecimiento comercial de las plantaciones.



En el mercado nacional la zarzamora no ha tenido una buena promoción.



Rápida perecibilidad en postcosecha del producto. Esto se debe principalmente a su tasa respiratoria, textura blanda, susceptibilidad al ataque fungoso, así como poca resistencia al manipuleo y al transporte.



Existe demanda de zarzamora fresca para el consumo y congelada para su industrialización en yogurts, así como en la industria pastelera.



Sin embargo, la producción de zarzamora en el país ha crecido rápidamente, desde 2005 hasta mediados del 2012, para el año 2011 la producción de zarzamora fue de 135,562.83 Ton/año (Figura 5) (SIAP, 2012).

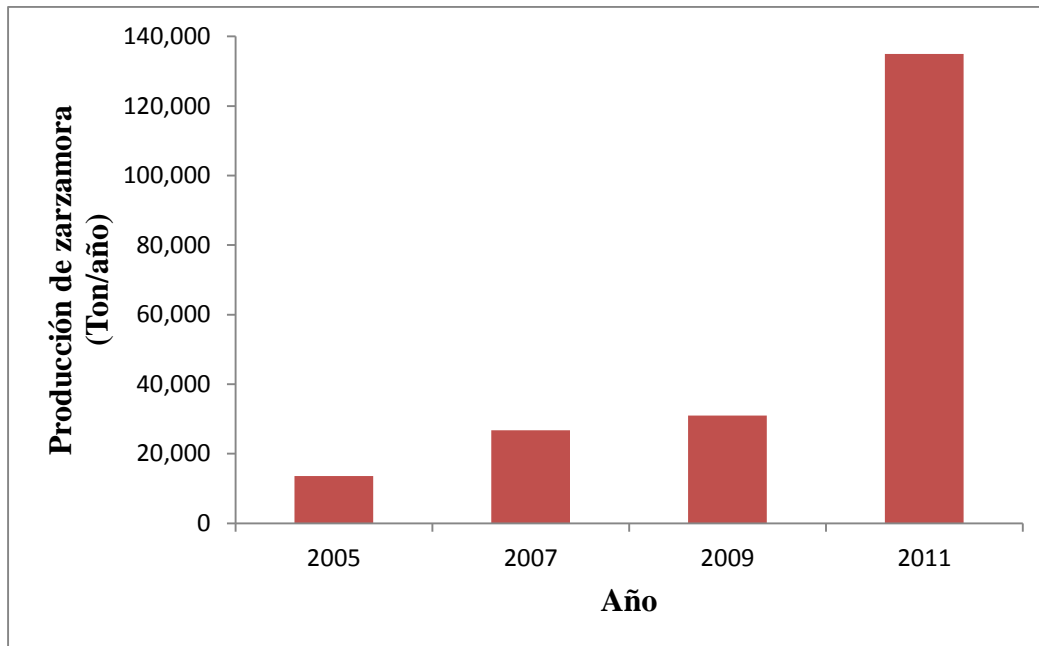


Figura 5. Producción de zarzamora en México.
Fuente: SIAP (2012).

La competencia entre las organizaciones productoras de zarzamora en el país, no representa una limitante para continuar con la actividad, considerando la tendencia de mejorar el cultivo con nuevas variedades o bien desarrollando técnicas apropiadas, de acuerdo a las exigencias del mercado.

Entre los estados con mayor perspectiva de crecimiento destacan: Morelos, Estado de México, Chihuahua y Michoacán, este último destaca por la posibilidad de producir el cultivo durante prácticamente todo el año, lo que garantiza un volumen consolidado de oferta. Cabe destacar que la presencia de intermediarios afecta negativamente la concentración del producto para exportación, estableciéndose una competencia continua por el acopio del producto (Muñoz y Juárez, 2006).

En la Figura 6 se muestra el porcentaje de producción nacional de zarzamora reportado en el 2012, se observa claramente que Michoacán acapara la gran parte de la producción



nacional, esto gracias a plantaciones como Tacambaro, Los Reyes y Uruapan principalmente.

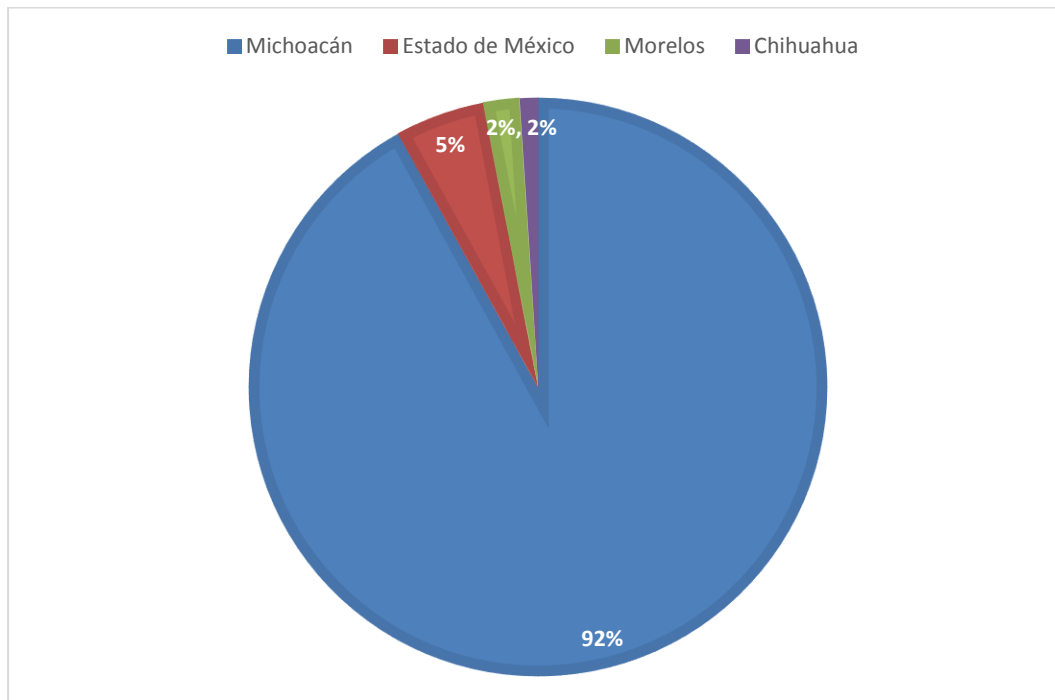


Figura 6. Principales estados productores de zarzamora en México.
Fuente: SIAP (2012).

En el estado de Michoacán, las cosechas se realizan entre los meses de Diciembre a Junio; en el Estado de México, se realizan de Abril a Agosto. Asimismo, en Morelos se cosecha de Enero a Mayo. A nivel nacional, en el mes de Octubre la cosecha es de baja a nula. Además en la temporada de lluvias, la calidad disminuye (López-Cruz, 2009).

Los niveles de precios varían a lo largo de la temporada, de acuerdo a los movimientos que se registren en los mercados mayoristas de los Estados Unidos de Norteamérica, teniendo así que el mes con más alto precio es Abril, continuando en orden: Mayo, Octubre, Diciembre, Marzo, Febrero y Enero. Los precios más bajos en el mercado se presentan en Junio, Julio, Agosto y Septiembre, considerando la etapa de mayor cosecha (SE, 2012).

En México el precio de zarzamora para el mes de Julio del 2012 fue de \$ 77.26-78.50 por kilogramo.



En el mercado internacional el costo de los 170 gramos de zarcamora (contenido de un clamshell) tiene un precio aproximado de 1 a 3 dólares, en otros países el equivalente de los precios es similar (SE, 2012).

2.1.4. Composición química y valor nutrimental

El agua es el componente que se encuentra en mayor proporción en las frutas de zarcamora con un porcentaje superior al 80 %, el contenido final depende de lo que haya tenido disponible el tejido al efectuarse la cosecha, las variaciones de temperatura y humedad relativa hacen que oscile a lo largo del día, por lo que la recolección de la mayor parte de los frutos conviene llevarla a cabo cuando el contenido de agua sea elevado (Navarrete, 2009).

Las semillas constituyen también una proporción alta en la zarcamora, en 100 g de dicha frutilla se encuentran 3,180 semillas representando un peso aproximado de 6.75 g (Navarrete, 2009).

Las zarcamoras son frutas con bajo valor calórico por su escaso aporte de carbohidratos. Sin embargo son muy ricas en vitamina C, aportan fibra (incluyendo el tipo conocido como pectina), potasio, hierro y calcio (estos dos últimos de menor calidad que los de origen animal), taninos (sustancia con acción astringente) y diversos ácido orgánicos como el ácido oxálico, cítrico y málico que son responsables de su sabor (Tabla 3) (González, 2010).

Tabla 3. Composición nutritiva por 100 g de proporción comestible de zarcamora.

Componente	Cantidad
Agua (g)	85.64
Grasa (g)	0.39
Proteína (g)	0.72
Carbohidratos (g)	12.7
Fibra (g)	5.6
Potasio (mg)	196
Fósforo (mg)	40
Hierro (mg)	0.57
Sodio (mg)	0
Magnesio (mg)	20
Manganeso (mg)	1.29
Selenio (mg)	0.6



Tabla 3. Composición nutritiva por 100 g de porción comestible de zarzamora (continuación).

Componente	Cantidad
Zinc (mg)	0.27
Cobre (mg)	0.14
Calcio (mg)	32
Vitamina C (mg)	21
Vitamina E (mg)	0.71
Vitamina A (mg)	165
Vitamina B1 (Tiamina) (mg)	0.030
Vitamina B2 (Riboflavina) (mg)	0.40
Ácido fólico (mg)	34
Niacina (mg)	0.40
Fenoles (mg)	29.23
Capacidad antioxidante (µM)	37.5-73.8
Antocianos (g)	12.3
Energía (Kcal)	52

Fuente: González (2010), Martínez-Cruz *et al.* (2011).

En la actualidad hay un interés creciente en los antioxidantes, en particular en aquellos que previenen los efectos nocivos de los radicales libres en el cuerpo humano, preferentemente de fuente natural como son los alimentos (Martínez-Cruz *et al.*, 2011). Por otro lado, se encuentra bien documentado la actividad antioxidante por diferentes compuestos fenólicos presentes en las frutillas (frambuesa, moras azules y zarzamoras) de igual manera la importancia de la misma radica en el rol protector contra el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas (Peña-Varela *et al.*, 2006).

Para comenzar, los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Los fenoles son sintetizados por las plantas y son regulados genéticamente, tanto a nivel cualitativo como a nivel cuantitativo, aunque a este nivel también existen factores ambientales. Además actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de las plantas (por ejemplo: antocianos los cuales son responsables del color rojo, naranja, azul, púrpura o violeta encontrados en las pieles de frutas y hortalizas) (Gimeno, 2004).



Los fenoles se encuentran en casi todos los alimentos de origen vegetal, dichas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos, ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionando sabor (Siriwoharn *et al.*, 2004).

Las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos son el motivo de sus posibles implicaciones con la salud humana, como son la prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares, o incluso enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. Además también existen sustancias con actividad estrogénica (fitoestrógenos) como las isoflavonas, lignanos y el estilbeno resveratrol, y otras con propiedades antimicrobianas. De todos los compuestos fenólicos, el grupo de los flavonoides es el más extendido en la naturaleza y dentro de ellos, los flavonoles son los que poseen una mayor actividad antioxidante. Estudios epidemiológicos han demostrado que una ingestión rica en flavonoides se correlaciona con un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares. Por un lado, disminuyen las tasas de colesterol y de LDL oxidada debido a sus propiedades antioxidantes como fuertes quelantes de metales como donadores de hidrógeno (a través de grupos hidroxilo) (Gimeno, 2004).

Las zarzamoras son unas frutillas que se caracterizan por su contenido de otro grupo importante de compuestos fenólicos: los antocianos, que son sustancias con acción antioxidante, es decir, que previenen el desarrollo de ciertas enfermedades y tipos de cáncer. Los antocianos son los causantes de proporcionar color negro y brillante a la zarzamora (González, 2010).

Las antocianinas (del griego *anthos* flor y *kyanos* azul), son el grupo más importante de pigmentos solubles al agua visible para el ojo humano. Las antocianinas forman parte de la familia de polifenoles y se definen como flavonoides fenólicos. Los colores rosa, rojo, azul, malva y violeta de las frutas y verduras se deben a la presencia de estos pigmentos (Cuevas-Montilla *et al.*, 2008). Las antocianinas se localizan principalmente en la piel de frutas como manzanas, peras, uvas, zarzamoras, ciruelas, en flores como la jamaica, rosas y verduras como la col morada y maíz morado. La función que cumplen es la de atraer seres vivos (principalmente insectos y pájaros) para propósitos de polinización y dispersión de semillas. La diferencia de color entre las frutas, flores o verduras depende de la naturaleza y concentración de las antocianinas. Existen factores adicionales que afectan el color como el



pH de la célula, efecto de la copigmentación determinado por la presencia de otros flavonoides, temperatura, luz, etc. (Cuevas-Montilla *et al.*, 2008).

Además de su función natural en frutos y flores, las antocianinas poseen conocidas propiedades farmacológicas utilizadas para la terapia de un amplio espectro de enfermedades. Diversas investigaciones realizadas con extractos de *Vitis vinifera* ricos en antocianinas han demostrado que disminuyen la fragilidad y permeabilidad capilar; también efectos antiinflamatorios y actividad antiedema. Además tienen la propiedad de proteger los vasos sanguíneos del daño ocasionado por los altos niveles de azúcar en la diabetes. Las antocianinas protegen de muchas maneras. Primero, neutralizan las enzimas que destruyen el tejido conectivo. Segundo, su capacidad antioxidante previene los oxidantes del tejido conectivo dañado. Finalmente, reparan proteínas dañadas en las paredes de los vasos sanguíneos. (Martínez-Cruz *et al.*, 2011).

La capacidad antioxidante se relacionan con el número de grupos –OH que presenten y el lugar de la sustitución. Gracias a esa capacidad antioxidante, las antocianinas son catalogadas como agentes nutraceuticos. Actualmente se han reportado sus efectos benéficos al prevenir la proliferación de células cancerígenas contra enfermedades del corazón y prevención del daño a lípidos de alimentos (Cuevas-Montilla *et al.*, 2008).

En la Tabla 4 se presentan las principales características y ejemplos de los compuestos fenólicos presentes en las frutillas.

Tabla 4. Características de los principales compuestos fenólicos presentes en frutillas.

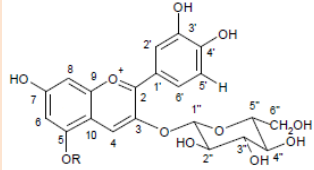
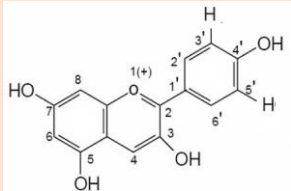
Compuesto	Características	Ejemplos	Estructuras
Antocianos	Se encuentran en la naturaleza en forma de glicósidos, siendo conocidas sus agliconas como antocianinas las cuales son unidas a un azúcar por medio de un enlace β -glicosídico. El color particular de cada antociano depende del número y orientación de los grupos hidroxilos y metoxilos. Mayor hidroxilación obtiene un color azul mientras que Mayor metoxilación presenta un color rojo. Toda antocianina es derivada del catión flavilo básico. Se conocen más de 100 tipos de antocianos.	Pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, malvidina y petunidina.	 <p>Cianidina 3-glucósido</p>  <p>Pelargonidina</p>



Tabla 4. Características de los principales compuestos fenólicos presentes en frutillas (continuación).

Compuesto	Características	Ejemplos	Estructuras
Fenoles	Son compuestos susceptibles a ser oxidados pero por otro lado impide que los metales catalicen las reacciones de oxidación. Puede actuar como quelantes (sobre todo los fenoles no flavonoides) y formar complejos con metales di o trivalentes especialmente con hierro y aluminio lo que puede tener implicaciones nutricionales.	No flavonoides: Fenoles no carboxílicos, ac. fenoles: derivados del ac. benzoico y cinámico. Flavonoides: Antocianos, flavonas, flavononas, taninos, etc.	<p>Ácido gálico (tanino)</p>

Fuente: Gimeno (2004), Martínez-Cruz *et al.* (2011).

2.1.5. Variedades





La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) reportó en el año 2008 una producción de 5,800 hectáreas en los diferentes municipios de Michoacán. Las variedades en orden de importancia que se cultivan en el estado son: Tupy, Brazos, Comanche, Cheyenne, Cherokee y Chickasaw (López-Cruz, 2009). A continuación en la Tabla 5 se describen las características de las variedades anteriormente mencionadas:

Tabla 5. Variedades de zarzamora.

Variedad	Hábito de crecimiento	Descripción
<p>Tupy</p>	Erecto	La variedad "Tupy" o brasileña, fue desarrollada para adaptarse a zonas templadas, subhúmedas y en alturas que van de 2000 a 3000 msnm. Presenta una mayor concentración de antocianinas, mayor consistencia y alrededor de 18 a 22 días de anaquel, tiene poca semilla y mucha pulpa. En los últimos años la variedad Tupy ha venido desplazando a la variedad Brazos en más del 80 % de la superficie.
<p>Brazos</p>	Semierecto	El cultivo necesita espaldera para la conducción. Produce frutos firmes y grandes (6 a 7 g), de sabor ácido y astringente. Sin embargo, su vida de anaquel es más corta que Tupy, razón por la que está siendo desplazada por este cultivo.



Tabla 5. Variedades de zarzamora (continuación).

Variedad	Hábito de crecimiento	Descripción
Comanche 	Erecto	Proviene del cruzamiento entre “Darrow” y “Brazos”. Presenta moderada presencia de espinas. Produce frutos muy grandes (aproximadamente de 5 a 7 g) atractivos y firmes, de sabor ácido y astringente. Produce de 10 a 15 días después de la variedad de Brazos.
Cheyenne 	Erecto	Muestra su hábito de crecimiento erecto al segundo año de establecida. La floración normal es de 30 días. Después de Comanche, es de fácil cosecha, tiene una duración de 50 días de flor a fruto, el cual tiene un peso promedio de 6.2 g es firme y de mejor sabor que el fruto de la variedad Comanche.
Cherokee 	Erecto	Es una variedad vigorosa, de hábito erecto y muy productivo. La floración es de 15 días y su periodo de flor a fruto es de aproximadamente 50 días. Los frutos son firmes, de baja acidez (0.22 %), muy dulce y brillante.
Chickasaw 	Erecto	Es de variedad espinosa. Produce uno de los más altos rendimientos de cualquier cultivo en Arkansas, es muy resistente a las enfermedades, tienen un alto rendimiento superando a todos los demás cultivares. Sus frutos maduran a partir de junio y se extiende hasta cinco o seis semanas, con un promedio de 10 a 11 g por fruto.

Fuente: López-Cruz (2009); Navarrete (2009).

2.1.6. Plagas y enfermedades

Las enfermedades son la principal causa de pérdidas postcosecha en las bayas. En México las pérdidas postcosecha por ataque fungoso en zarzamora se encuentran de un 17 al 21 % de la producción total (SIAP, 2012).

Entre las enfermedades más comunes que afectan a la zarzamora se encuentran las mencionadas en la Tabla 6.





Tabla 6. Principales enfermedades presentes en la zarzamora.

Enfermedad	Agente	Síntomas	Control
Podredumbre gris 	<i>Botrytis cinerea</i>	Alteraciones internas y externas, pérdida de textura y brillo, liberación de líquido y lesiones en el pericarpio del fruto, así como tizones en inflorescencias, pudrición en frutos, marchites del tejido, pústulas y manchas foliares, caída de plántulas, canchros en los tallos.	Químico. Fungicidas (captan, thiram, benomyl e iprodione). Físicos. Eliminación de plantas y hojas infectadas, buena ventilación e iluminación, humedad <80 % y control de niveles de nitrógeno en el suelo. Biológicas. Uso de biocontroladores (<i>Gliocadium roseum</i>).
Mildeo vellosó ó Peronospora 	<i>Peronospora corda</i>	Afecta a hojas, tallos, pedúnculos y frutos. Los pedúnculos y los tallos presentan lesiones irregulares de color blanco sobre las cuales crece una vellosidad de color blanco o grisáceo claro, que corresponde a los esporangióforos y esporangios del patógeno. El pedúnculo se va secando de arriba hacia abajo.	Químico. Fungicidas (captan, thiram, benomyl e iprodione). Físicos. Eliminación de plantas y hojas infectadas
Antracnosis 	<i>Colletotrichum</i>	El principal daño que ocasiona en cultivos de zarzamora en la muerte progresiva y descendente de los brotes y ramas, quedando los frutos adheridos a éstas	Químico. Fungicidas (captan, thiram, benomyl e iprodione). Físicos. Eliminación de plantas y hojas infectadas, buena ventilación e iluminación, y control de niveles de nitrógeno en el suelo.



Tabla 6. Principales enfermedades presentes en la zarzamora (continuación).

Enfermedad	Agente	Síntomas	Control
Agalla de la corona 	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Producción de agallas y tumores en los tallos cerca del cuello.	Químico. Fungicidas (captan, thiram, benomyl e iprodione). Físicos. Eliminación de plantas y hojas infectadas
Marchitez 	<i>Varticillum alboatrum</i>	Amarillamiento de las hojas que caen posteriormente, manchas negras y azuladas en el tallo (color característico) En el fruto ocasiona pérdida de color y evita la maduración fisiológica.	Químico. Fungicidas (captan, thiram, benomyl e iprodione). Físicos. Eliminación de plantas y hojas infectadas

Fuente: González (2010).

Además de las enfermedades que pueden afectar a las zarzamoras el cultivo de las mismas se puede dañar por diversas plagas, en la Tabla 7 se muestran las principales plagas que presenta el cultivo de zarzamora:

Tabla 7. Plagas presentes en la zarzamora.





Plaga	Agente	Síntomas	Control
Áfidos o pulgones 	<i>Aphis spp</i>	Son insectos que atacan a las hojas tiernas de la zarzamora, absorben su sabia y son transmisores de virus.	Químicos: Aceites minerales de invierno + esteres fosfóricos (larvas invernantes). Físicos: Limpieza y desinfección de la fruta, lugares de almacenamiento y cajas de transporte.
Mosca de la fruta 	<i>Anastrepha spp</i>	El huevo eclosiona y la larva se alimenta dentro de la fruta. Ataca a los frutos maduros. Es común observar un gusano blanco por dentro de la fruta, dejándola inservible comercialmente.	Químicos: Control de poblaciones con mosqueros (fosfato biamónico + proteínas hidrolizadas) Físicos: Limpieza de las frutas y almacenes, cajas, etc.



Tabla 7. Plagas presentes en la zarzamora (continuación).

Plaga	Agente	Síntomas	Control
Araña roja 	<i>Tetranychus spp</i>	Esta araña se localiza en el envés de la hoja, causando la formación de manchas pardas y marillentas que en muchos casos pueden confundirse con una deficiencia foliar.	Físicos: Eliminación de hospederos alternos (palma o plátano), buena preparación del terreno antes del cultivo.
Cutzo 	<i>Barotheus spp</i>	Es una plaga del suelo que se encuentra en las zonas húmedas, la característica de este gusano es masticar las raíces de diferentes cultivos, produciendo daños muy severos; el daño físico que provoca, puede ser la puerta de entrada para el ataque de diferentes patógenos.	Físicos: Buena preparación del terreno antes de iniciar el cultivo, mantener buenos drenajes. Químicos: Aplicación de productos como Bromores y Dazitol.

Fuente: González (2010).

2.1.6.1. Podredumbre gris

Generalmente llamada “Moho gris” o pudrición del fruto, es el más común y seria enfermedad en el mundo en plantas del género *Rubus* spp (Alencastro, 2011).

El nombre *Botrytis cinerea* aparece por primera vez mencionado por Von Haller en 1771, en su “sinopsis Methodica Fungorum”. En 1886, de Bary descubre la conexión genética entre este patógeno y *Botryotinia fuckeliana* (Chávez-Martínez, 2010).

Botrytis cinerea es un hongo fitopatógeno que causa importantes pérdidas económicas en un amplio rango de cultivos de importancia agrícola, constituyendo actualmente en Ecuador, México, Chile, Bolivia y otros países, uno de los principales problemas fitosanitarios (Figura 7).

Este patógeno puede atacar a los cultivos en cualquier estado de su desarrollo e infectar cualquier parte de la planta, colonizando tallos, hojas, flores y frutos, por lo que las infecciones por este hongo afectan no solo el rendimiento; sino además la calidad de los



cultivos, provocando deterioros de gran magnitud incluso durante las etapas de transporte y almacenamiento de los productos (Alencastro, 2011).

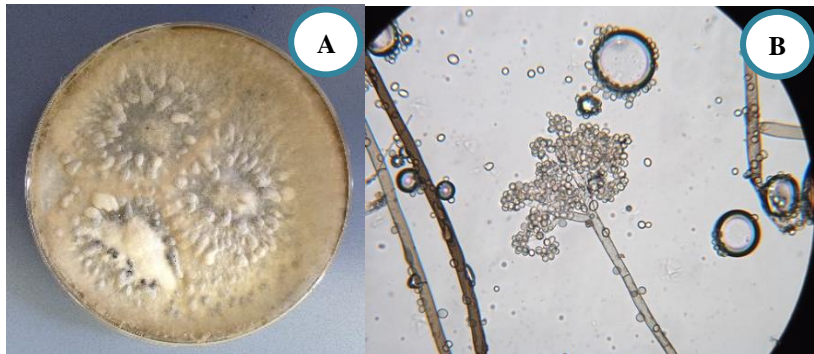


Figura 7. Características macroscópicas (A) y microscópicas (B) de *Botrytis cinerea*.
Fuentes: (A) Elaboración propia, (B) Bolda y Koike (2012).

La etimología del género *Botrytis* deriva del Griego *botrys*, que significa grupo de uvas, por la organización de sus conidias en forma de racimos, mientras el nombre de la especie deriva del latín *cinereus-a-um* (de color grisáceo o ceniza), aludiendo al color grisáceo de las esporas acumuladas en el tejido vegetal infectado (Duarte *et al.*, 2006).

A continuación en la Tabla 8 se presenta la clasificación taxonómica de *Botrytis cinerea* (Rebordinos *et al.*, 2004):

Tabla 8. Clasificación taxonómica de *Botrytis cinerea*.

Reino	Fungi
División	Deuteromycota
Clase	Hyphomycetes
Orden	Moniliales
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Botrytis</i>
Especie	<i>Botrytis cinerea</i>

Fuente: Rebordinos *et al.* (2004).

Botrytis cinerea produce un micelio blanquecino y de aspecto lanoso en el tejido infectado como se observa en la Figura 8, el cual se vuelve gris durante la esporulación, lo cual puede ocurrir dentro de unos pocos días luego de que la infección se ha iniciado, debido a esto, las enfermedades causadas, por este hongo son comúnmente denominadas “pudrición gris” (Alencastro, 2011).



Las lesiones pueden desarrollarse en cualquier punto de su superficie, pero en la mayoría de los hospedantes es más fácil que aparezcan en la corona o en la base de esos órganos. La enfermedad raramente ocurre en botones florales cerrados, pero cuando estos se abren las estructuras florales aparecen colonizadas (Duarte *et al.*, 2006).



Figura 8. Zarzamoras infectadas con *Botrytis cinerea*.

El ciclo de infección de *Botrytis cinerea* comienza con las esporas, éstas pueden ser producidas sobre cualquier material vegetal y transportadas grandes distancias por corrientes de aire. Una vez que la spora ha alcanzado la superficie del huésped se inicia el ciclo de infección que, para facilitar su descripción y estudio, puede considerarse dividido en varias fases (Figura 9).

Botrytis inverna en el suelo en forma de esclerocios o de micelio, el cual se desarrolla sobre restos de plantas en proceso de descomposición. Los esclerocios germinan y forman micelio en una amplia gama de temperaturas formando conidios, y en óptimas condiciones (15-18 °C, Humedad relativa (HR) alta y luz), los conidios se pueden formar sólo en 8 horas. La liberación de los conidios tiene lugar principalmente durante el día y está influenciada por cambios en la humedad relativa. Los conidios pueden ser transportados a largas distancias por las corrientes de aire y en gotas de agua. Los procesos de germinación e infección dependen mucho más de la humedad que de la temperatura. En general cuando más altas son las temperaturas, hasta máximo de 15-20 °C, más corto es el periodo de humedad requerido (Molina *et al.*, 2004).



No es necesaria la lluvia si la humedad relativa es superior al 85 %. El conidio invade y penetra a los tejidos y las células infectadas se colapsan y desintegran causando la pudrición del tejido (Alencastro, 2011).

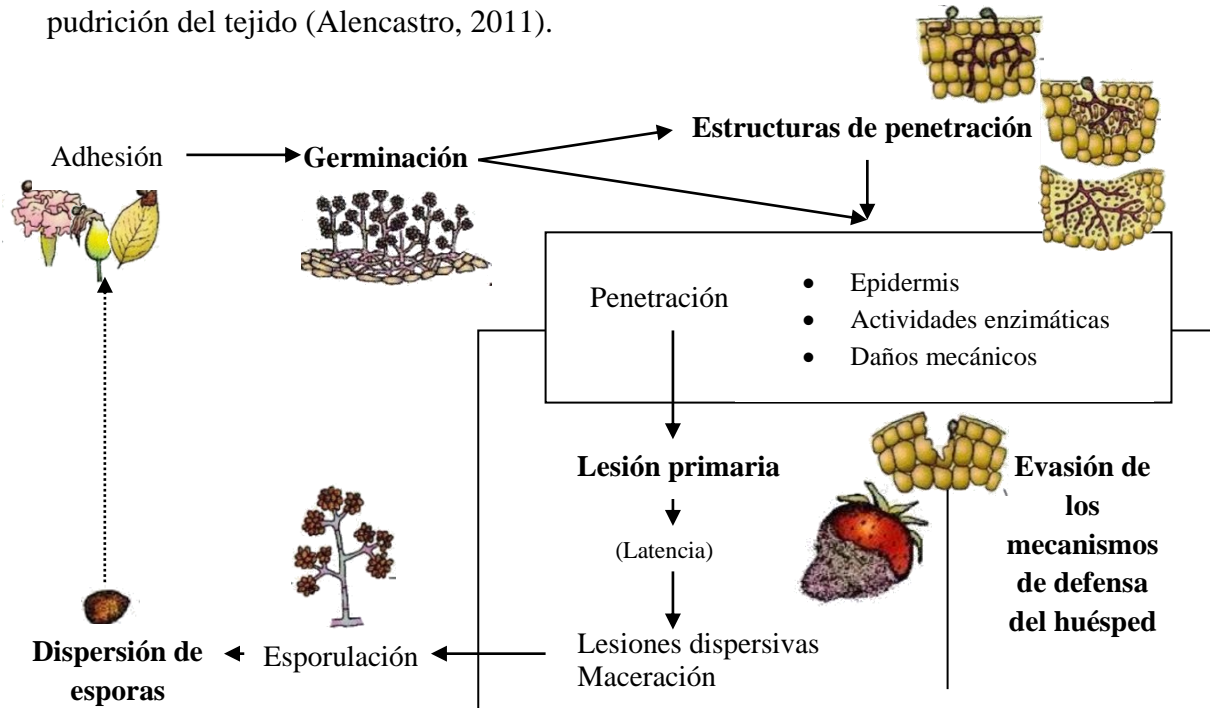


Figura 9. Ciclo de infección de *Botrytis cinerea*.

Fuente: Benito *et al.* (2000); Ogawa y Zher (2009).

Este patógeno infecta principalmente especies dicotiledóneas y monocotiledóneas, siendo uno de los patógenos más importantes en plantas cultivadas en condiciones de invernadero. El Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) en 2010 determinó los mejores fungicidas para el control de *Botrytis cinerea* de baja toxicidad como Iprodione (1 ml. L^{-1}), procloraz (1 ml. L^{-1}) y difeconazole (0.251 ml. L^{-1}) (Alencastro, 2011).

2.1.7. Métodos de conservación de la zarzamora

Las tecnologías postcosecha son métodos de conservación que se pueden aplicar al fruto o vegetal después de cosecharlo. El fin último de las tecnologías es evitar en cuanto sea posible, el deterioro de los productos durante el periodo que media entre la recolección y su consumo (Navarrete, 2009). En la Tabla 9 se muestran los principales métodos de conservación aplicados en frutillas para preservar la calidad de las mismas.




Tabla 9. Métodos de conservación en frutillas.

Método de conservación	Principio	Condiciones óptimas
Refrigeración 	<p>Mantiene los alimentos entre 0 y 5-6 °C, inhibiendo durante algunos días el crecimiento microbiano. Somete al alimento a bajas temperaturas sin llegar a la congelación. La temperatura debe mantenerse uniforme durante el periodo de conservación, dentro de los límites de tolerancia admitidos, en su caso, y ser la apropiada para cada tipo de producto.</p>	<p>Básicamente se consideran temperaturas de entre 0-5 °C y HR = 70-90 % según la frutilla almacenada, esto con la finalidad de evitar daños por frío y pérdida de peso en el fruto.</p>
Atmósferas Modificadas 	<p>La tecnología del envasado en atmósferas modificadas o protectoras corresponde al envasado en unidad/consumidor de productos en una atmósfera distinta a aquella natural y constituida por mezcla de gas en distintas proporciones: principalmente oxígeno, nitrógeno y anhídrido carbónico pero también potencialmente, argón, helio y protóxido de nitrógeno; todos definidos según normas europeas sobre los aditivos, como gases para envasado de alimentos.</p>	<p>Dependiendo de las características de la frutilla a envasar se determina la concentración de los gases en la atmósfera, las características propias del fruto son de vital importancia para determinar la formulación de las atmósferas a emplear.</p>
Envases Activos 	<p>Materiales y objetos destinados a ampliar el tiempo de conservación, o a mantener o mejorar el estado de los alimentos envasados. Se encuentran diseñados para incorporar deliberadamente componentes que:</p> <ul style="list-style-type: none"> *Transmitan sustancias a los alimentos o a su entorno (migración positiva). *Absorban sustancias de los alimentos o de su entorno (sorción, permeación). <p>Los tipos de envases activos son los siguientes:</p> <p>Sistemas que absorben o retienen sustancias indeseables del producto o su entorno (absorbedores de oxígeno, humedad, etileno, olores, etc.).</p> <p>Liberadores de sustancias beneficiosas al producto o a su entorno (antioxidantes, vapor, aditivos, antimicrobianos).</p> <p>Sistemas con efectos térmicos: transferencia de calor (envases auto-enfriables, auto-calentables).</p> <p>Reguladores de entrada y/o salida de sustancias deseables o indeseables del entorno del producto (CO₂, presión, etc.)</p>	<p>Dependiendo de las características de la frutilla a envasar se determinan las características y tipo de envase estas son de vital importancia para elegir el envase correcto que permita una vida de anaquel más larga para el producto.</p>



Tabla 9. Métodos de conservación en frutillas (continuación).

Método de conservación	Principio	Condiciones óptimas
Recubrimientos Comestibles 	<p>Las películas y cubiertas comestibles han demostrado ser potenciales para transferencia a la humedad, oxígeno, dióxido de carbono, lípidos, aromas y compuestos de sabor en sistemas alimenticios. También pueden utilizarse como transporte de antioxidantes, antimicrobianos, saborizantes y pigmentos, resultando en un incremento en la calidad y vida de anaquel del producto, debido a lo anterior y dependiendo de las características de los mismos son considerados como un tipo de envase activo.</p>	<p>Se recomienda considerar ampliamente las características de la frutilla a recubrir, ya que debido a su delicadeza elevadas concentraciones en las matrices de los recubrimientos pueden ser perjudiciales para el aspecto físico y de calidad del fruto.</p>

Fuente: Navarrete (2009), Galet (2009).

2.2. Generalidades de recubrimientos comestibles

2.2.1. Definición y origen

Un recubrimiento comestible (RC) se define como la capa delgada formada por materiales comestibles depositada sobre la superficie del alimento con el propósito de extender su vida útil y proporcionarle una efectiva barrera contra los riesgos que generan las condiciones ambientales existentes (Figuroa *et al.*, 2011).

Dicho recubrimiento puede estar constituido por materiales poliméricos, como proteínas o polisacáridos en solución hidrocoloide, que actúan como sistema mejorador de las propiedades físicas y de barrera (Restrepo y Aristizábal, 2010).

Para su formulación se pueden incorporar productos naturales con actividad antimicrobiana procedentes de plantas, organismos marinos, insectos o microorganismos como alternativas viables al uso de los químicos de síntesis (Figuroa *et al.*, 2011).

El uso de recubrimientos para frutas y hortalizas es una práctica antigua que se desarrolló para imitar las cubiertas naturales de los productos vegetales comestibles (Bósquez, 2003).



Existen reportes que datan de los siglos XII y XIII en los que se menciona que en China se realizaba la inmersión en cera de naranjas y limas para retardar la pérdida de agua. Durante el S. XVI se practicaba en Inglaterra el “enmantecado”, esto es, el recubrimiento con grasa de productos alimentarios para prevenir también la pérdida de humedad de éstos (Bósquez, 2003).

En el S. XIX se emplearon películas a base de gelatina para la preservación de carnes y otros alimentos, alrededor de los 30's ya se encontraban comercialmente disponibles ceras parafínicas que se derretían con calor para el recubrimiento de cítricos y en los comienzos de los años 50's se desarrollaron emulsiones aceite-agua con cera de carnauba para el recubrimiento de frutas frescas y hortalizas (Bósquez, 2003).

De mediados de los 50's a mediados de los 80's se realizó bastante trabajo orientado al uso de películas y recubrimientos para extender la vida de anaquel y mejorar la calidad de alimentos frescos, congelados y procesados, el cual se ha reportado tanto en la literatura científica como de patente (Bósquez, 2003).

2.2.2. Propiedades

Los recubrimientos se han desarrollado con el fin de extender la vida útil de los productos alimenticios, usarse como soporte de agentes antimicrobianos, antioxidantes o nutrientes, para enlentecer la migración de humedad, lípidos o el transporte de gases y solutos (Figuroa *et al.*, 2011).

Los recubrimientos se consideran una tecnología relativamente nueva que se ha comenzado a emplear en la industria de alimentos en forma de finas capas mediante inmersión, aspersión, pulverización o envolturas y el método depende de las propiedades reológicas de las películas y la superficie de los frutos. Cabe resaltar que la divergencia en la aplicación de los recubrimientos es un factor limitante para el desarrollo e implantación de esta tecnología postcosecha, lo que reduce su versatilidad y condicionan su efectividad (Figuroa *et al.*, 2011). La Tabla 10 muestra algunas de las principales funciones de las películas comestibles.



Tabla 10. Funciones de los películas comestibles.

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

Fuente: Bósquez (2003).



2.2.3. Componentes de formación

2.2.3.1. Matriz

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

A continuación en la Tabla 11 se referencian algunos materiales como polisacáridos, proteínas y lípidos, que han sido objeto de investigación como matrices de películas y recubrimientos comestibles.

Tabla 11. Materiales empleados como matrices en recubrimientos comestibles.

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

Fuente: Quintero *et al.* (2010), Pastor (2010).

Destacando la utilización de polisacáridos en el desarrollo de esta tecnología de cuarta gama, se hondará en los polisacáridos empleados para el desarrollo del proyecto.



Carboximetilcelulosa (CMC).

La CMC es un polímero derivado de la celulosa, se encuentra formado por dos unidades de β -D-glucosa y β -D-glucopiranososa 2-O-(carboximetil)-sal monosódica las cuales están conectadas a través de enlaces glucosídicos β -1,4 (Rachtanapun *et al.*, 2012). Éste polímero es capaz de formar una película al solidificar, actúa como ligante, espesante y estabilizante, la concentración de este polisacárido para generar las propiedades anteriores dependerá del uso y del tipo de producto, aunque generalmente oscila del 4 al 10% en artículos comerciales; además de lo anterior CMC es capaz de producir materiales transparentes, lo cual es una cualidad importante en los recubrimientos, pues permite mantener la apariencia de los productos (Figura 10) (Valle-Guaderrama *et al.*, 2008).

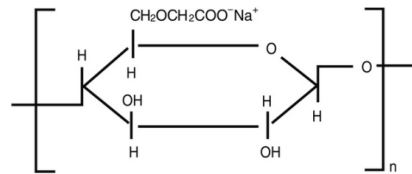


Figura 10. Estructura de la carboximetilcelulosa.

Fuente: Jiménez *et al.* (2011).

Maltodextrina.

La maltodextrina es el resultado de la hidrólisis del almidón o la fécula y de otros alimentos ricos en carbohidratos como el plátano o la yuca, normalmente se presenta comercialmente en forma de polvo blanco. Puede ser definida como un polímero de glucosa. Estas moléculas poliméricas son metabolizadas de forma rápida en el organismo humano (Jeantet *et al.*, 2010).

La maltodextrina es un ingrediente de uso extendido en gran cantidad de productos alimenticios, esto se debe a su sabor insípido y a las propiedades que posee para la fabricación de diversos alimentos, su producción es relativamente económica y su versatilidad la hace un elemento popular en muchos alimentos envasados (Galus *et al.*, 2012).

La Tabla 12 presenta los principales usos y aplicaciones de los polímeros empleados para el desarrollo de este proyecto.



Tabla 12. Usos y aplicaciones de carboximetilcelulosa y maltodextrina.

Polímeros	Usos y Aplicaciones	Disponibilidad	Costo
Carboximetilcelulosa^a (CMC)	En industrias de alimentos (formador de geles, espesante, agente suspensor, coloide protector) farmacéuticas (formador de geles), cementeras (estabilizador y agente hidrofílico), textiles, adhesivas, pesticidas (agente suspensor y pegamento), detergentes (inhibidor de redeposición de grasas en telas), papelera (dispersante, recubrimiento que mejora el brillo del papel, mayor suavidad y resistencia a la grasa) y como aglutinante en cerámicas.	Amplia	\$63.16 (250 g)
Maltodextrina	Las dextrinas se utilizan principalmente como adhesivos, y también como agentes espesantes y estabilizadores de suspensiones. Además tienen muchas aplicaciones en la industria de alimentos: son buenos espesantes y ligantes además sirven para dar cuerpo en platos preparados y en embutidos; sustituyen las grasas en pastelería, para dar textura deseada y en helados donde además impiden la cristalización del azúcar, sirven de recubrimientos en chicles, frutos glaseados, etc. y son base de alimentos dietéticos e infantiles por su fácil digestión.	Amplia	\$45.24 (1000 g)

Fuente: Jeantet *et al.* (2010), Rachtanapun *et al.* (2012), Cosmopolita (2012).

2.2.3.2. Aditivos

La necesidad del uso de aditivos en las formulaciones de recubrimientos o películas comestibles ha tomado gran importancia en los últimos años, y es que los aditivos promueven el mejoramiento de las características de los recubrimiento comestibles (RC) e incluso en algunos casos promueven el uso de los mismos no sólo como método de conservación del producto sino como método de control de enfermedades (Figuroa *et al.*, 2011).

Ciertos aditivos empleados en los recubrimientos comestibles permiten que exista mayor aprovechamiento de los mismos, generando un mayor interés en el estudio y aplicación de esta tecnología en distintos sectores alimentarios (Quintero *et al.*, 2010).

En la Tabla 13 se presentan algunos aditivos más empleados en las formulaciones de distintos recubrimientos.



Tabla 13. Aditivos empleados en la elaboración de recubrimientos comestibles.

Aditivo	Características	Ejemplos
Plastificante	Es un alcohol con tres grupos hidroxilos. Principal producto de la degradación digestiva de los lípidos. Se presenta en forma de líquido a una temperatura ambiental de 25 ° C y es higroscópico e inodoro. Posee un coeficiente de viscosidad alto y tiene un sabor dulce como otros polialcoholes. Se emplea en la elaboración de productos de extractos de té, café, jengibre y otros vegetales; fabricación de refrescos; aditivo (tipo tensoactivo comestible) para mejorar la calidad del producto.	Glicerol Manitol
Emulsificante	Son moléculas superficialmente activas que se adsorben en la superficie de las gotas, formando una membrana protectora que retarda la aproximación de las gotas y su agregación, fomenta la formación de la emulsión y estabilización a corto plazo por acción interfacial.	Lecitina de soya, polisorbatos, monoglicéridos, proteínas de huevo y leche
Surfactante	Los ésteres de sorbitan y de polioxoetileno reciben el nombre de polisorbatos y se conocen bajo la marca comercial de Tween; son mezclas de esterres de ácidos grasos con sorbitol y su anhídrido y se obtienen condensando 20 moles de óxido de etileno por mol de sorbitol. Se emplean para la modificación de la masa de pan, estabilizantes de espuma y control de aireación, control de viscosidad y efecto antiaglutinante.	Tween 80 Tween 60
Agentes antimicrobianos	Productos de composición general muy complejos que contienen los principales agentes volátiles que se encuentran en los vegetales de forma natural y que han sido más o menos modificados durante su preparación.	Extractos etanólicos Aceites esenciales (canela, clavo, pimienta, orégano, hoja sen, sangre de drago, etc)

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

2.2.4. Aplicaciones

La necesidad de utilizar un recubrimiento o encerar la fruta se origina en el propio proceso a que se somete la fruta en el equipo de almacén, que afectan a las ceras que naturalmente recubren el fruto. El restituir las pretende restablecer sus funciones, básicamente devolver a la cutícula su impermeabilidad al vapor de agua y al oxígeno. Además, las ceras y los recubrimientos tienen por finalidad aportar brillo, para aumentar el atractivo visual del producto. Los recubrimientos utilizados “tradicionalmente” han sido ceras solventes al agua. Para el desarrollo de recubrimientos naturales, se utilizan ingredientes naturales que



se engloban en los grupos químicos de polisacáridos, proteínas o lípidos, todos ellos ingredientes reconocidos como seguros (GRAS por sus siglas en inglés) de acuerdo a la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) a ellos se suman componentes minoritarios como plastificantes, emulsificantes, etc. (Saavedra y Algecira, 2010).

A continuación la Tabla 14 presenta algunos ejemplos de recubrimientos comestibles aplicados a diversas frutas.



Tabla 14. Aplicación de diversas formulaciones de recubrimientos comestibles.

Fruta	Recubrimiento	Aditivo	Análisis	Efecto	Referencia
Melón (<i>Cucumis melón L.</i>)	Alginato de sodio+ CaCl ₂ Pectina+ CaCl ₂ Goma gelano+ CaCl ₂	Aceite de girasol (ω3 y ω6)	Pérdida de humedad Firmeza Propiedades sensorial	Los tres tipos de recubrimientos evitaron la deshidratación e inhibieron la producción de etileno. CaCl ₂ permitió mantener la firmeza de la fruta troceada. RC de pectina presentó mejores características organolépticas.	Oms-Olin <i>et al.</i> (2008)
Calabaza auyama (<i>Cucurbit moschata Duch</i>)	CMC Quitosano	Oleoresinas	Microflora	Microflora nativa sensible a recubrimiento de quitosano adicionado con romero, olivo y aji, así como CMC adicionado con romero	Ponce <i>et al.</i> (2008)
Ajo (<i>Allium sativum</i>)	Agar-agar	Ácido acético Quitosano 0.2 % w/v	Pérdida de humedad Permeabilidad al vapor de agua	La pérdida de humedad fue 3 veces más baja en relación con las muestras no recubiertas. Hongos filamentosos y mesófilos fueron inhibidos en RC con quitosano y ácido acético. La permeabilidad al vapor de agua fue más baja en el RC con quitosano.	Geraldine <i>et al.</i> , (2008)
Nispero japonés (<i>Eryobotrya japonica I.</i>)	Quitosano	Glicerol+ Tween 80	Pérdida de peso Tasa de respiración	Se redujo la pérdida fisiológica de peso, la tasa de respiración y la producción de etileno en comparación con las muestras control.	Márquez <i>et al.</i> (2009)
Espárrago blanco (<i>Asparagus officinalis L.</i>)	CMC Pullulan	---	Pérdida de humedad Permeabilidad al vapor de agua	RC implementados actuaron como barrera ante la pérdida de humedad, e intercambio de gases, se retrasó la formación de color púrpura durante el almacenamiento a 4 °C durante 11 días. El mejor tratamiento fue CMC.	Tzoumaki y Biliaderis, 2009
Mango (<i>Mangifera indica var. Tommy Atkins</i>)	Goma policaju	---	Pérdida de peso Firmeza	RC de goma policaju mostró una significativa disminución en la pérdida de masa de mangos recubiertos y almacenados a baja temperatura (4 °C, 82 % HR) durante 28 días.	Souza y Grosso, 2010
Banano (<i>Musa paradisiaca L. cv. Pisang Berangan</i>)	Goma arábica+quitosano	Glutación N-acetil cisteína	Permeabilidad al vapor de agua Pardeamiento enzimático Producción de etileno	Se incrementó la resistencia al vapor de agua en los RC evaluados, la adición de los agentes antipardeantes no sólo redujo el pardeamiento enzimático sino también se ralentizó el deterioro por microorganismos, además se vio disminuida la producción de etileno.	Maqbool y Chinnan, 2010



2.3. Generalidades de extractos vegetales

2.3.1. Definición

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca (Lizcano-Ramón y Vergara-González, 2008).

En 1990 Alzate descubrió la consistencia ideal que debían de tener los extractos. De acuerdo con este aspecto fueron clasificados en cuatro grupos los cuales se muestran en la Tabla 15 (Lizcano-Ramón y Vergara-González, 2008).

Tabla 15. Consistencia de los extractos etanólicos.

Consistencia	Característica
Blandos	Tienen la consistencia de una miel espesa, algunas veces, debido a la absorción de la humedad atmosférica, presentan una consistencias menos densa.
Firmes o de consistencia pilular	Como su nombre lo indica deben de tener una estrecha semejanza con la masa con la cual se fabrican o manufacturan las píldoras; deben tener la característica especial de no adherirse a los dedos.
Secos	Son los extractos en los cuales el disolvente ha sido casi completamente eliminado. Contiene tan solo del 5 al 8 % de agua. Se reducen fácilmente a polvo y facilitan su manipulación y dosificación.
Fluidos	Son separados de tal forma que el peso del extracto corresponde exactamente al peso de la sustancia empleada como medicamento, desecada al aire y pulverizada.

Fuente: Lizcano-Ramón y Vergara-González, (2008).

2.3.2. Plantas empleadas para extractos

Los extractos etanólicos pueden ser obtenidos de diversas plantas tales como romero, olivo, ají, canela, entre muchas otras, la Tabla 16 presenta la descripción de diversas plantas que pueden ser consideradas para la obtención de extractos, también se incluyeron las plantas empleadas para la realización de este proyecto.



Tabla 16. Plantas utilizadas para extractos etanólicos.

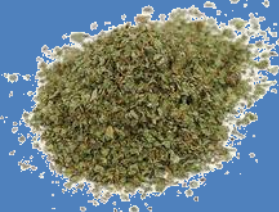




Planta	Descripción	Composición química	Usos y Aplicaciones	Referencia
<p>Orégano (<i>Lippia graveolens</i>)</p> 	<p>El orégano comprende varias especies de plantas que son utilizadas con fines culinarios, siendo las más comunes el <i>Origanum vulgare</i>, nativo de Europa, y el <i>Lippia</i>.</p>	<p>Se encuentran como componentes principales el limoneno, el β-cariofileno, el r-cimeno, el canfor, el linalol, el α-pineno, el carvacrol y el timol.</p>	<p>El orégano (<i>O. vulgare</i>) tiene usos medicinales, culinarios y cosméticos. El orégano tiene una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos patógenos como <i>Salmonella</i>.</p>	<p>Arcila-Lozano <i>et al.</i> (2009).</p>
<p>Ruda (<i>Ruta graveolens</i>)</p> 	<p>Arbusto de hojas perennes que contiene una concentración considerable de diversos metabolitos secundarios como famarocumarinas, quinonas y flavonoides.</p>	<p>Se encuentra conformado principalmente por cumarinas y famocumarinas, alcaloides como la dictaminina y metoxidictaminina presentes en los tejidos, además de omega 6 y omega 3 ambos conocidos por sus propiedades antioxidantes.</p>	<p>La ruda es empleada como planta medicinal para combatir la amenorrea, desmayos y problemas de hemorroides. Enfermedades de los nervios y calambres además previene enfermedades cardiovasculares, cancerígenas, circulatorias, neurológicas y actividades antiinflamatorias así como antimicrobianas.</p>	<p>Luján <i>et al.</i> (2010).</p>
<p>Hoja Sen (<i>Cassia angustifolia</i> Vahl)</p> 	<p>Es una planta pequeña y perenne, de 30 a 60 cms de altura, de tallo erguido y ramificado. Las diferentes especies de sen, se distribuyen desde zonas predesérticas del Mediterráneo hasta la India. La parte medicinal de la planta son los foliolos (los foliolos son las partes en las que se divide una hoja, cuando esta es compuesta) y en menor medida los frutos.</p>	<p>Se caracteriza por la presencia de derivados antracénicos (3%), los cuales se presentan normalmente en forma de glucósidos, y se les llaman genéricamente senósidos, hay senósidos A, B, C y D. Además posee mucílagos y flavonoides que favorecen su actividad laxante.</p>	<p>El sen está indicado para combatir el estreñimiento ocasional no inflamatorio y en situaciones en las que se requiere un vaciado intestinal, como en estudios radiográficos, y durante los procesos pre y postoperatorios.</p>	<p>Fonnegra (1990).</p>



Tabla 16. Plantas utilizadas para extractos etanólicos (continuación).

Planta	Descripción	Composición química	Usos y Aplicaciones	Referencia
<p>Sangre de Drago (<i>Jatropha sp.</i>)</p> 	<p>Es un árbol de copa amplia de 10 a 20 m de alto, con un tronco de unos 20 a 25 cm. de diámetro y corteza de color grisácea-blanquecina, que al corte exuda una resina rojiza (que es la parte utilizada). Originaria de América, crece en la Amazonía</p>	<p>En cuanto a su composición química, en la corteza (látex) se identificó: esteroides, cumarinas, alcaloides (taspina), flavonoides, taninos (54%), saponinas (baja concentración), antocianinas, compuestos fenólicos (ácido gálico); además contiene vitamina A, E y C, almidón, celulosa, grasas, lignanos (mucílagos, proteínas, catequinas (epicatequina, galocatequina, epigallocatequina), etc.</p>	<p>Entre sus efectos más importantes debemos destacar su actividad como astringente, cicatrizante y hemostática, lo que puede permitir tratar con eficacia diferentes tipos de heridas en piel y mucosas, incluso las que presentan dificultad como úlceras por decúbito ó varicosas. También se ha podido demostrar que presentan acción antibacteriana, antimicótica y antivírica, lo que mejoraría su eficacia en los malestares antes mencionados como ciertos tipos de gastritis, especialmente las G. erosivas, cuadros de úlceras gastro-duodenales</p>	Torres (2000).
<p>Perejil (<i>Petroselinum sativum</i>)</p> 	<p>Planta herbácea de la familia <i>Apiaceae</i>. Se encuentra naturalmente en huertos y jardines. Forma un conjunto de hojas divididas, alcanza hasta los 15 cm de altura, puede llegar a desarrollar flores amarillentas.</p>	<p>Su componente principal es la miriscina por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Además del ácido palmítico y el fitol.</p>	<p>Es utilizado ampliamente como una hierba para condimentos y como saborizantes de carnes salchichas, alimentos enlatados y como sazonador, induce la actividad de enzimas detoxificantes</p>	Luján <i>et al.</i> (2010).

2.3.3. Métodos de extracción

Dichos métodos deben obedecer a la información de la naturaleza química de las sustancias presentes en la planta y al propósito de la investigación. En el caso de la búsqueda de sustancias para la comprobación de actividad biológica, la extracción del material vegetal debe hacerse en agua o con solución disotónica (0.9 % NaCl) (Arévalo, 1996).

La Tabla 17 muestra los métodos de extracción más comunes para la obtención de extractos etanólicos.




Tabla 17. Métodos de extracción.

Método	Descripción	Condiciones
<p>Extracción con solventes orgánicos</p> 	<p>Frecuentemente se usa la extracción con solventes orgánicos de bajo punto de ebullición (alcohol, acetato de etilo) y de baja reactividad. Algunas veces es conveniente desengrasar el material vegetal con éter de petróleo o hexano. El alcohol es generalmente más eficaz para recuperar la mayoría de los metabolitos secundarios. Los extractos son evaporados bajo presión reducida o liofilizados, en el caso de extracción con agua.</p>	<p>Dependiendo de la naturaleza del material se selecciona la pureza del disolvente utilizado así como el tiempo de reposo los cuales generalmente se encuentran entre 1:30 a 2 horas.</p>
<p>Maceración en frío</p> 	<p>El material se mezcla con el solvente triturado continuamente en frío. Hasta transmitir al disolvente características propias del producto macerado.</p>	<p>Es una técnica empleada en su mayoría en industria vitivinícolas se emplean tiempos de 12-24 horas dependiendo del producto tratado. Las temperaturas deben de ser bajas durante todo el proceso alrededor de 3-8 °C.</p>
<p>Extracción continua en soxhlet</p> 	<p>El material seco se sitúa en una cámara central y el solvente se hace evaporar en caliente en un recipiente inferior, el vapor del solvente asciende al condensador y gotea sobre el material vegetal.</p>	<p>Para la técnica se consideran 2 g de muestra del material a tratar, dependiendo de la cantidad de grasa contenida en la misma se determina el tiempo de extracción, el tiempo más común es de 2 horas a la temperatura de ebullición de los disolventes empleados (63, 64, 66 °C).</p>
<p>Por Reflujo</p> 	<p>El material vegetal y el solvente se colocan en un balón el cual tiene acoplado un refrigerante, se calienta, el solvente evaporado se condensa y vuelve a mezclarse con el material vegetal.</p>	<p>La naturaleza del material radica en la selección del solvente adecuado para la extracción así como el tiempo de reposo los cuales generalmente se encuentran entre 1:30 a 2 horas.</p>



Tabla 17. Métodos de extracción (continuación).

Método	Descripción	Condiciones
Extracción asistida por ultrasonido 	<p>La extracción asistida por ultrasonido utiliza sonidos de alta frecuencia, con el fin de desprender el compuesto buscado del material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente. Dicha técnica es la más económica entre las últimas técnicas de extracción desarrolladas. El ultrasonido además facilita la rehidratación del tejido si se están utilizando materiales secos al abrir los poros, lo cual a su vez incrementa el transporte de masa de los constituyentes solubles por procesos osmóticos.</p>	<p>El medio de sonicación es básicamente agua, con $t= 90$ min a $T=21-24$ °C.</p>

Fuente: Arévalo (1996), Aзуоla y Vargas (2007).

Durante la extracción no todos los componentes químicos elaborados por las plantas poseen igual interés. Los denominados principios activos son frecuentemente alcaloides o heterósidos; ambos merecen igual atención. Otros grupos, como glúcidos, grasas y proteínas tienen importancia dietética, otros como los almidones y gomas, se emplean en la industria farmacéutica y de alimentos. Otras sustancias como el oxalato cálcico, sílice, lignina y materiales colorantes, pueden ser materias primas coadyudantes en diferentes procesos en la industria (Lizcano-Ramón y Vergara-González, 2008).

2.3.4. Composición química de los extractos vegetales

Los *fenoles* han sido encontrados en estado natural, principalmente en plantas, algunos son constituyentes importantes de las esencias y/o extractos como el timol, carbacrol, eugenol y chavicol. Muchos de los fenoles están en estado de éter oxidado en las esencias, entre ellos se encuentran: estragol, miristicina, apiol y atenol. Se ha encontrado que en el mundo vegetal actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de los posibles ataques fúngicos o bacterianos) además contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta. (Gimeno, 2004).

Los fenoles tienen una actividad fisiológica marcada porque poseen propiedades antisépticas: hidroquinol, timol, eugenol, apiol y anetol. Algunos ejemplos de los compuestos más simples ya que están compuestos por un anillo fenólico sustituido son:



catecol, pirogalol y ácidos cinámicos y cafeico. Presentes principalmente en tomillo, manzanilla y gayuba. (Lizcano-Ramón y Vergara-González, 2008).

Los fenoles en los alimentos funcionan como sustancias de calidad, aceptabilidad y estabilidad de los mismos, ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor. (Siriwoharn *et al.*, 2004).

Además de los fenoles otras moléculas de importancia son: *alcoholes, cumarinas, alcaloides, aldehídos, terpenoides, flavonas, isoflavonoides, alcaloides, quinonas y taninos* (Lizcano-Ramón y Vergara-González, 2008).

Actualmente se ha realizado la identificación de los compuestos polifenólicos en los extractos etanólicos de las especies vegetales con las que se desarrolló este proyecto además de que el método de extracción de los compuesto bioactivos (disolventes orgánicos y sonicación) fue el mismo que se aplicó en esta investigación.

Por otro lado la identificación de los compuestos polifenólicos de cada extracto se llevó a cabo por el método analítico de electroforesis el cual se fundamenta en que el buffer utilizado para realizar la separación se encuentra a un alto pH (pH=9.4) lo cual permite que todos los polifenoles tengan carga negativa y manifiesten un valor de movilidad, cuando están bajo un campo eléctrico. Adicionalmente, algunos de los aniones (polifenoles) pueden formar complejos con el buffer de boratos, ya que es bien sabido que especialmente los compuestos con grupos dioles presentan este comportamiento al estar en solución amortiguada con boratos. A continuación se presenta la identificación de los compuestos polifenólicos para cada extracto etanólico obtenido a base de las plantas empleadas en el desarrollo de este proyecto, en la Figura 11 se presenta el electroferograma del extracto etanólico de Orégano.

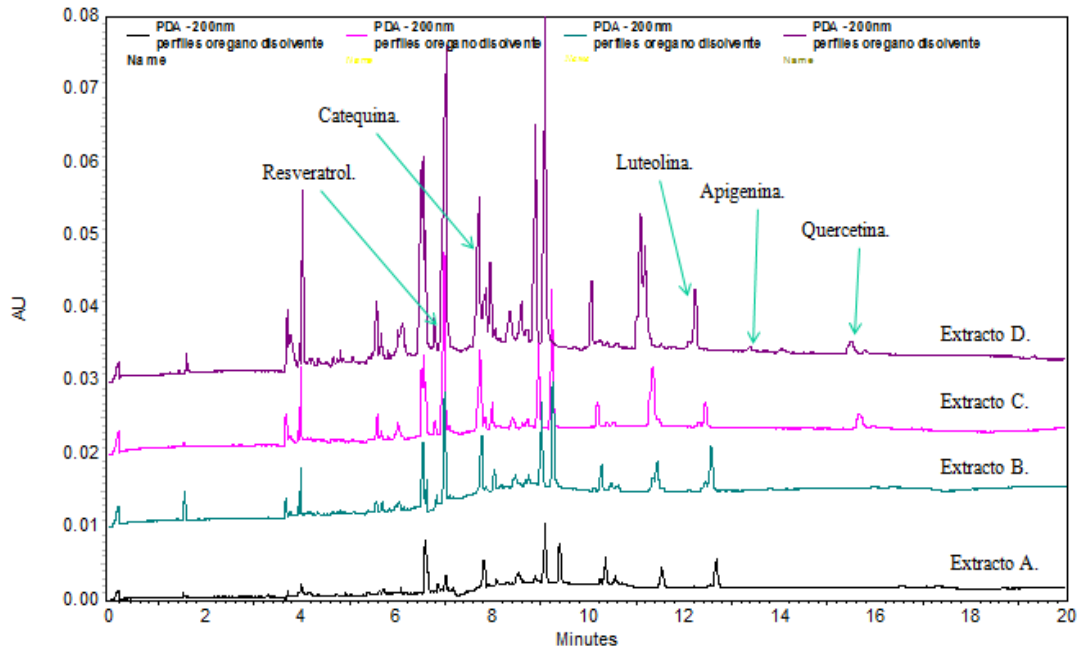


Figura 11. Electroferograma de la identificación de los compuestos polifenólicos de los extractos preparados con Orégano (*Lippia graveolens*) proveniente de Saltillo, Coahuila. (A) Extracto acuoso, (B) Extracto etanol: agua (30:70), (C) Extracto etanol: agua (50:50), (D) Extracto etanol: agua (70:30).

Fuente: Vargas-Martínez y Trejo-Márquez (2013).

De los analitos identificados, resveratrol, catequina y luteolina se observó un incremento significativo de las señales al incrementar el porcentaje de etanol en el disolvente de los extractos. Adicionalmente, la señal de quercetina no aparece en los extractos A y B, pero si se observa al ir incrementando la proporción de etanol, como en los casos de los extractos C y D de etanol:agua (50:50) y (70:30) respectivamente, extrayéndose apigenina solo hasta el extracto D (70:30).

A continuación en la Tabla 18 se presentan la identificación realizada por cromatografía (HPLC) de los principales componentes polifenólicos presentes en el extracto etanólico de Orégano.



Tabla 18. Compuestos polifenólicos identificados en el extracto etanólico de Orégano.

No. compuesto	Nombre del polifenol
1	Pentahidroxi flavanona-A hexósido
9	Hidroxi luteolina
10	3-Hidroxifloretina 6-O-hexósido
11	Apigenina 7-O-glucósido
12	Floridzina
14	Eriodictiol
15	Luteolina
16	Quercetina
19	6,7-Dimethylscutelareina
20	Sakuranetina
21	Pinocembrina
22	Galangina
23	Methylgalangina

Fuente: Vargas-Martínez y Trejo-Márquez (2013).

Con respecto a la identificación de los componentes polifenólicos del extracto etanólico de Hoja Sen los resultados fueron los siguientes (Figura 12):

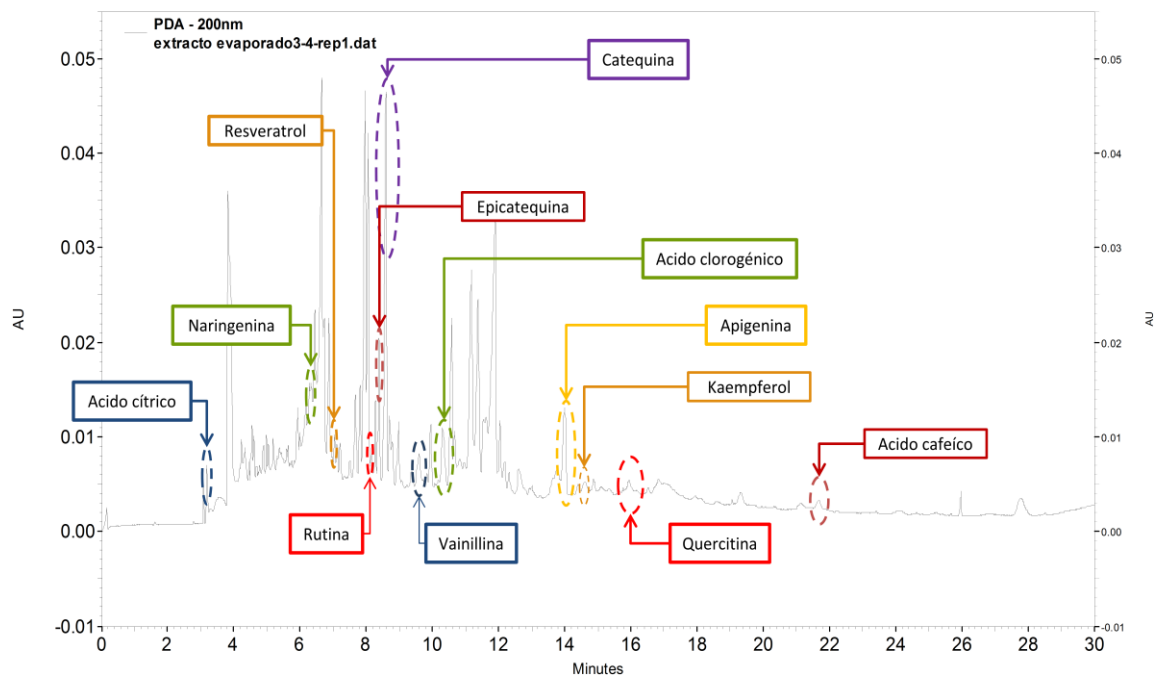


Figura 12. Electroferograma de la identificación de los compuestos polifenólicos del extracto etanólico de Hoja Sen (*Cassia angustifolia* Vahl).

Fuente: Vargas-Martínez y Trejo-Márquez (2013).



Una vez realizado el electroforama de la identificación de los diversos compuestos provenientes de la planta de Hoja Sen se elaboró una lista de los estándares utilizados para lograr identificar algunos polifenoles en extractos de Hoja Sen, de la misma manera se indicó en cuales resultó positiva su presencia.

Tabla 19. Estándares empleados para la identificación de compuestos polifenólicos en el extracto etanólico de Hoja Sen.

No.	Estándar	Resultado
1	(-)-Epicatequina	Identificado
2	(+)-Catequina	Identificado
3	2 - (4-Hidroxifenil) etanol	No identificado
4	Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	No identificado
5	Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	No identificado
6	Ácido cafeíco	Identificado
7	Ácido cítrico	Identificado
8	Ácido clorogénico	Identificado
9	Ácido elágico	No identificado
10	Ácido gálico	No identificado
11	Ácido L(+)-tartárico	No identificado
12	Ácido nordihidroguaiarético	No identificado
13	Ácido p-cumárico	No identificado
14	Ácido p-hidroxibenzoico	No identificado
15	Ácido siríngico	No identificado
16	Ácido tánico	No identificado
17	Ácido trans-4-hidroxi-3-metoxicinámico	No identificado
18	Ácido trans-cinámico	No identificado
19	Ácido vanílico	No identificado
20	Apigenina	Identificado
21	Kaempferol	Identificado
22	Luteolina	No identificado
23	Miricetina	No identificado
24	Naringenina	Identificado
25	Quercetina	Identificado
26	Quercetina 3- β -D-glucósido	No identificado
27	Resorcinol	No identificado
28	Resveratrol	Identificado
29	Rutina	Identificado
30	Vanilina	Identificado

Fuente: Vargas-Martínez y Trejo-Márquez (2013).



Finalmente con respecto al extracto etanólico de Sangre de Drago los resultados se observan en la Figura 13.

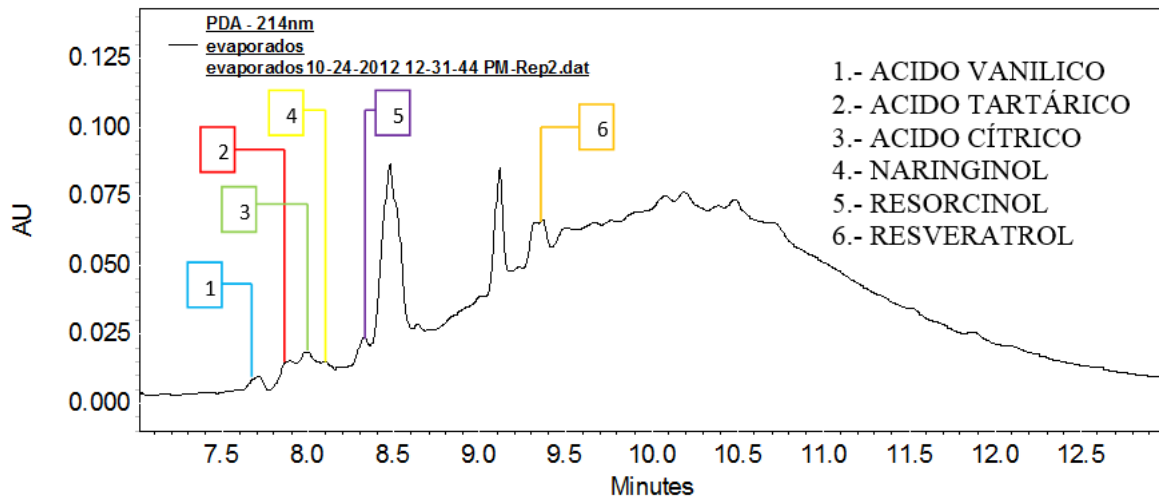


Figura 13. Electroferograma de la identificación de los compuestos polifenólicos del extracto etanólico de Sangre de Drago (*Jatropha spp.*).

Fuente: Vargas-Martínez y Trejo-Márquez (2013).

De acuerdo a las Figuras 11, 12 y 13 a continuación en la Tabla 20 se describen las características químicas de los compuestos polifenólicos identificados en mayor proporción en cada uno de los extractos obtenidos de las plantas estudiadas en este proyecto.

Tabla 20. Componentes bioactivos del Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago.

Plantas	Componentes bioactivos	Estructura química	Descripción
Orégano	Resveratrol		Fitoalexina presente en las uvas y en productos derivados como vino, mosto, etc., y en otros alimentos como las ostras, el maní (cacahuete) y las nueces. Dicho compuesto que se reconoce por mitigar el daño producido por radicales libres.
Orégano	Catequina		Es un grupo especializado de flavonoides que se encuentran especialmente en las plantas verdes. Presentan una actividad anticancerígena reconocida, aunque sus propiedades son mucho más amplias.



Tabla 20. Componentes bioactivos del Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago (continuación).

Plantas	Componentes bioactivos	Estructura química	Descripción
Orégano	Luteolina		Es uno de los flavonoides, más comunes. Se cree que desempeña un papel importante en el cuerpo humano como antioxidante, captor de radicales libres. Se ha aislado en pimiento verde, tomillo, manzanilla y perilla.
Orégano	Apigenina		Es un flavonoide más exactamente un citro-bioflavonoide, con efectos ansiolíticos sin provocar relajación muscular ni sedación excesiva. La apigenina posee también efectos antiespasmódicos, antiinflamatorios y antitumorales. Al igual que la mayoría de los flavonoides, tiene propiedades antioxidantes, y según estudios, la quizá puede bloquear la formación de ácido úrico.
Orégano	Quercitina		Flavonol que se encuentra presente en altas concentraciones tanto en frutas como en verduras. Es el flavonoide más abundante y el más habitual en la dieta humana, destacando por su elevada actividad antioxidante. A partir de él se obtienen otros flavonoides, como la naringenina o la rutina.
Sangre de Drago	Resorcinol		El resorcinol comparte muchas características con el fenol. Se desprotona con facilidad debido a lo anterior este compuesto presenta importantes propiedades antioxidantes.



Tabla 20. Componentes bioactivos del Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago (continuación).

Plantas	Componentes bioactivos	Estructura química	Descripción
Sangre de Drago	Naringinol		Flavonoide que se extrae de la cáscara de algunos <i>Citrus</i> (<i>Citrus paradisi</i> , <i>Citrus aurantium</i>) y es el principal responsable de su sabor amargo. Está presente también en la pulpa de los frutos, en hojas, flores y semillas de la planta.
Hoja Sen	Rutina		Glucósido flavonoide encontrado en algunas plantas. Su nombre proviene de <i>Ruta graveolens</i> , una planta que también contiene rutina. A veces se la refiere como vitamina P, pero no es estrictamente una vitamina.
Hoja Sen	Epicatequina		Tipo de flavonoide presente en diversos productos comestibles es un excelente donador de protones o electrones por lo que es un gran antioxidante.
Hoja Sen	Kaempferol		Flavonol que ha sido aislado de diversas fuentes: Té verde, brócoli, avellana de brujas, toronja, uva, coles de Bruselas, manzanas y otras tantas fuentes. Es altamente soluble en agua y es soluble en etanol.

Fuente: Arcila-Lozano (2009), Konic-Tanackov *et al.* (2012).



Objetivos



3. OBJETIVOS

Objetivo general.

Caracterizar películas biodegradables a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina, adicionadas con extracto de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago mediante propiedades físicas y de barrera, así como evaluar el efecto de su aplicación como envases activos en los parámetros de calidad, químico y sensorial de la zarzamora evitando la podredumbre gris y alargar la vida útil del fruto.

Objetivo particular 1.

Elaborar películas modelo a base de dos polisacáridos diferentes (carboximetilcelulosa y maltodextrina) en tres concentraciones (CMC 0.5, 0.75 y 1.0%, Maltodextrina 7, 9 y 11%) adicionadas con extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago, y caracterizar sus propiedades físicas (color, transparencia y espesor) y de barrera (permeabilidad a vapor de agua) seleccionando así las que presenten las mejores propiedades para su aplicación como recubrimiento en zarzamora.

Objetivo particular 2.

Evaluar el efecto antifúngico de los extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago a tres concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm) mediante pruebas *In vitro* para seleccionar aquel de mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento del hongo de *Botrytis cinerea*.

Objetivo particular 3.

Evaluar el efecto antifúngico de los envases activos a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina adicionados con extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago a la mejor concentración mediante pruebas *In vitro* para determinar el efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea*.



Objetivo particular 4.

Evaluar el efecto de los recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa, maltodextrina y extractos naturales en los parámetros físicos (color, firmeza de la pulpa, pérdida de peso e índice de deterioro), fisicoquímicos (sólidos solubles, acidez titulable, pH), fisiológicos (tasa de respiración), químicos (capacidad antioxidante, fenoles, antocianinas) y características sensoriales, alargando la vida útil de la zarzamora y evitando el crecimiento de *Botrytis cinerea* en la misma.



Materiales y Métodos

4. MATERIALES Y MÉTODOS

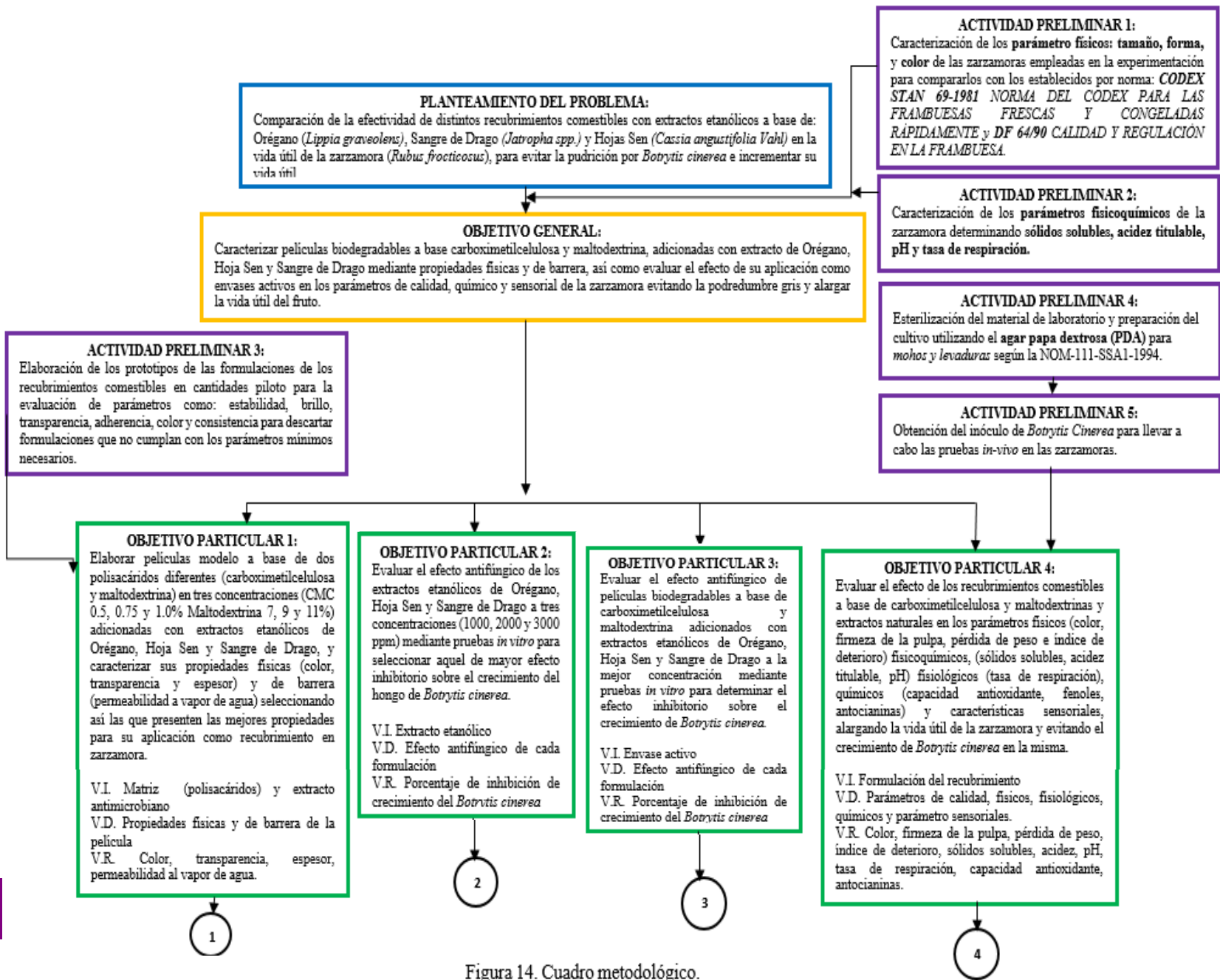


Figura 14. Cuadro metodológico.

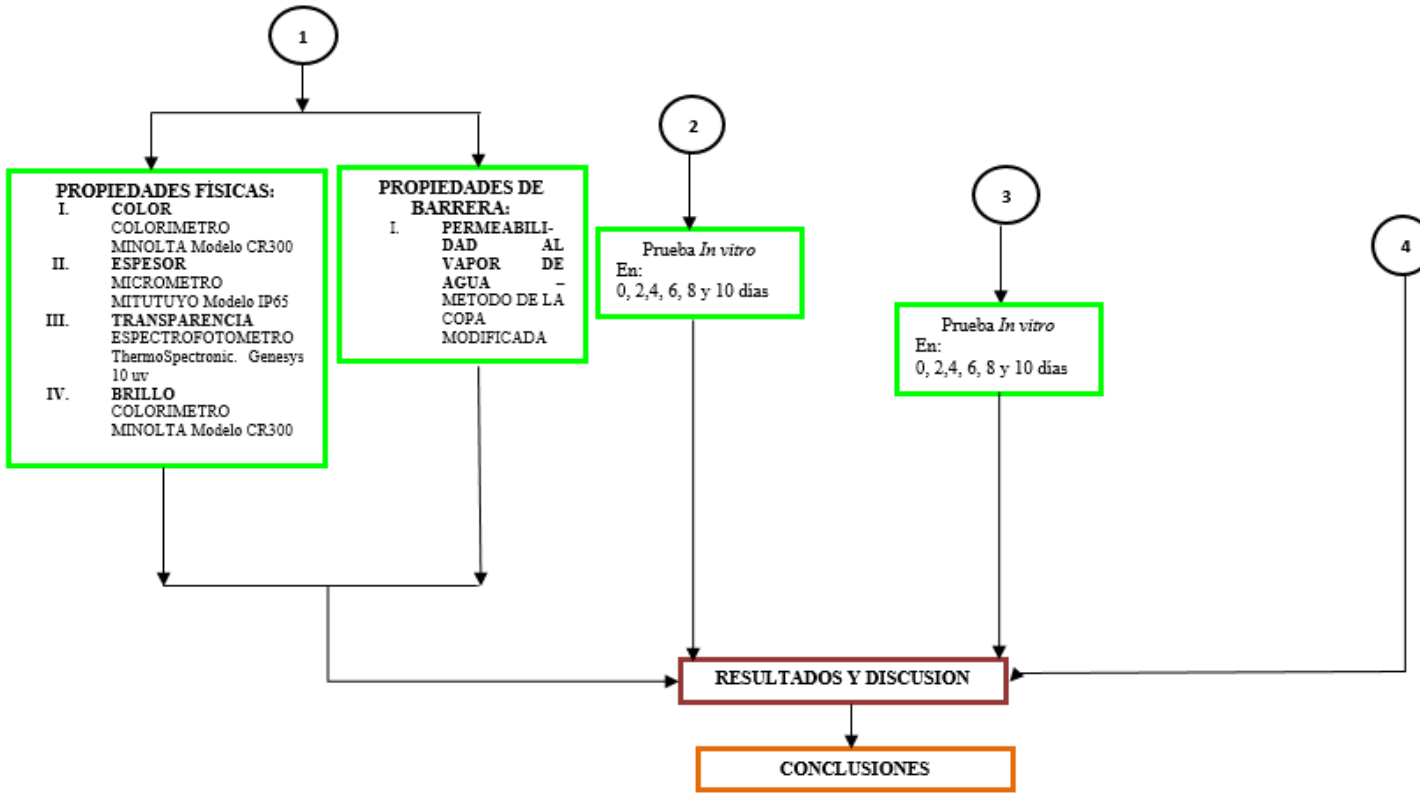


Figura 14. Cuadro metodológico (continuación).





4.1. Materiales biológicos

Las zarzamoras (*Rubus fruticosus*) cv Cherokee fueron adquiridas en la central de abastos de la Ciudad de México provenientes de Uruapan, Michoacán, para después ser trasladadas al Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica de la UNAM para su posterior estudio (Figura 15).



Figura 15. Material biológico para la experimentación.

Los materiales vegetales empleados para la obtención de los extractos etanólicos provinieron del desierto mexicano de Coahuila, Saltillo y fueron los siguientes: Orégano (*Lippia graveolens*), Hoja Sen (*Cassia angustifolia*) y Sangre de Drago (*Jathopha sp.*), previamente identificados en el Herbario de FES-Iztacala, UNAM.

4.2. Elaboración de películas

Para la elaboración de las películas comestibles se empleó carboximetilcelulosa y maltodextrina comercial obtenidas del fabricante Cosmopolita S.A. de C.V. El plastificante utilizado fue glicerol anhidro (marca J.T. Baker) y el surfactante Tween 80 (marca Hycel de México S.A de C.V.) y extractos etanólicos de plantas del desierto obtenidos por el método de extracción asistida por ultrasonido. El medio de extracción empleado (etanol) fue del fabricante Ferandelth S.A de C.V.



4.3. Extracción de componentes bioactivos

La obtención de los extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago se llevaron a cabo en una relación 1:5, es decir, 5 g de planta por cada 25 mL de etanol al 70%.

Las plantas se pulverizaron en un molino para café (Krupps modelo 203), hasta obtener un polvo fino que pasará por el tamiz (ISICAS) del número 20 con orificios de 0.84 mm de diámetro.

El método empleado para extraer los componentes bioactivos de las diversas plantas desérticas fue extracción asistida por ultrasonido con un tiempo de extracción de 1.30 hrs según lo reportado por Chen *et al.* (2007), Sorian y Villamiel (2010).

Los extractos fueron filtrados a temperatura ambiente empleado gasas o papel filtro estéril hasta obtener el volumen fijado inicialmente.

Finalmente los extractos obtenidos fueron cuantificados en su contenido de fenoles totales de acuerdo al método descrito en el apartado 4.9.1. Esto con la finalidad de determinar el volumen de extracto necesario para generar las partes por millón (ppm) requeridas para determinar las propiedades fungicidas de los extractos mediante pruebas *In vitro*.

4.4. Evaluación de las propiedades antifúngicas de extractos de plantas

4.4.1. Crecimiento del hongo de *Botrytis cinerea*

Para llevar a cabo las pruebas in-vitro fue necesario realizar el cultivo de *Botrytis cinerea*. Primero se llevó a cabo el crecimiento de *Botrytis cinerea* en agar papa dextrosa (PDA) previamente esterilizado, una vez solidificado el agar, se tomaron muestras de micelio de otro cultivo de hongo ya crecido (mínimo 10 días) y se incrustaron en tres puntos formando un triángulo en el agar y se dejó crecer el hongo a una temperatura de 25 °C durante 10 días (Figura 16). (Pascual, 2000).

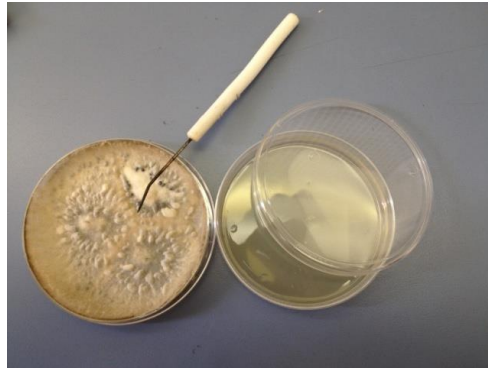


Figura 16. Siembra de un cultivo nuevo de *Botrytis cinerea*.

4.4.2. Pruebas *in vitro* de las propiedades antifúngicas de los distintos extractos etanólicos

Consiste en la simulación de las características del alimento a evaluarse, principalmente con respecto a los nutrientes y acidez. Todo con la finalidad de observar el comportamiento y tasa de crecimiento del microorganismo con los parámetros ya establecidos y condiciones óptimas para su desarrollo (Molina *et al.*, 2004).

Las evaluaciones se realizaron en cajas Petri estériles de 8 cm de diámetro, mezclando 20 mL del agar PDA, previamente esterilizado con los extractos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago (cada uno adicionado por separado), evaluando 3 concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm) para determinar la inhibición de crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*. El agar adicionado con el extracto se dejó solidificar para posteriormente con ayuda de un sacabocados de 1 cm de diámetro obtener un explante del cultivo de *Botrytis cinerea* de 10 días de crecimiento a 25°C en PDA. El explante se colocó en el centro del agar ya solidificado (Figura 17). Finalmente se dejó crecer al hongo a una T= 25 °C y diariamente se midió el crecimiento micelial del hongo en el medio adicionado de los diferentes extractos etanólicos (Molina *et al.*, 2004).

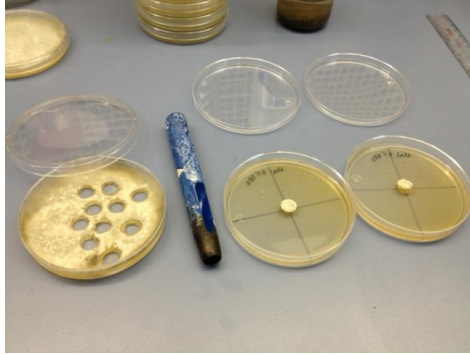


Figura 17. Obtención de explantes de *Botrytis cinerea* para las pruebas *in vitro*.

Con la finalidad de realizar un comparación objetiva se realizaron controles positivos (adicionando el mismo volumen pero sólo de agua) y negativos (adición de etanol al 70%).

4.5. Elaboración de modelos de películas comestibles

La elaboración de las películas comestibles a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina se basó en la metodología reportada por Navarrete (2009).

La preparación de la matriz de carboximetilcelulosa (CMC) y maltodextrina se llevó a cabo empleando agua destilada calentando a temperaturas de 50 y 30 °C respectivamente, manteniendo en agitación continua alrededor de 20 min, los aditivos (Glicerol 1% y Tween 80 al 0.5%) fueron adicionados una vez hidratado el polisacárido. Las dispersiones se dejaron enfriar a temperatura ambiente, y se adicionó la cantidad necesaria de los extractos a cada matriz para generar las 3000 ppm. Posteriormente se tomaron 30 mL de cada formulación y fueron vaciados en platos de plástico de diámetro de 15 cm y se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 48 horas sobre una base nivelada hasta su completo secado para posteriormente realizar la evaluación de los parámetros antes mencionados (Figura 18).



Figura 18. Imagen de las distintas formulaciones de películas adicionadas con extractos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago durante el periodo de secado.



4.6. Pruebas *in vitro* de los envases activos

La metodología realizada para el crecimiento de *Botrytis cinerea* fue la misma que la descrita en el apartado 4.4.

4.6.1. Pruebas *in vitro* de las propiedades antifúngicas de los distintos envases activos

La metodología para las pruebas *in vitro* de los envases activos fue similar a la descrita en el apartado 4.4. con ligeras modificaciones: los 20 mL vaciados en las cajas Petri como medio nutritivo de crecimiento para el hongo no fue sólo agar, se ensayaron varias concentraciones de agar mezclado con el recubrimiento comestible quedando finalmente una concentración de 25% recubrimiento comestible con 75% de agar.

El recubrimiento y el agar se esterilizaron previamente por separado, al momento de vaciar se mezclaron agitando durante 1 min para garantizar su homogenización, una vez que se apreció una fase continua se adicionó la cantidad necesaria de extracto etanólico de cada planta para llegar a la concentración necesaria de acuerdo al contenido de fenoles requerido para generar las ppm correspondientes (Figura 19). Finalmente el agar mezclado con el recubrimiento y adicionado con el extracto se dejó solidificar para colocar un explante del cultivo de *Botrytis cinerea* de 10 días de crecimiento. El hongo se dejó crecer a temperatura de 25 °C y diariamente se midió el crecimiento micelial del hongo en el medio adicionado con los distintos extractos etanólicos (Molina *et al.*, 2004). El control positivo consistió en la mezcla de agar y recubrimiento a la concentración elegida (25-75%) sin la adición de extracto.

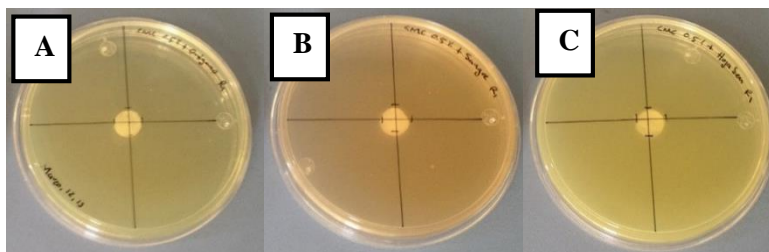


Figura 19. (A) Prueba *in vitro* de medio conformado por recubrimiento más agar adicionado con extracto etanólico de Orégano día cero. (B) Medio conformado por recubrimiento más agar adicionado con extracto etanólico de Sangre de Drago día cero. (C) Medio conformado por recubrimiento más agar adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen día cero.



4.7. Caracterización de las propiedades de los modelos de películas

Las películas elaboradas a base de CMC y maltodextrina adicionadas con los diferentes extractos se caracterizaron a partir de sus propiedades físicas (color, espesor y transparencia), de barrera (permeabilidad al vapor de agua) de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 4.9.2. y 4.9.3.

4.8. Pruebas in vivo en zarzamora fresca

4.8.1. Tratamiento de la muestra

Las zarzamoras fueron seleccionadas de acuerdo a lo establecido en la Norma del CODEX para las frambuesas frescas y congeladas rápidamente CODEX STAN 69-1981 y las reglas para la calidad y regulación en la frambuesa DF 64/90 (SENASA, 2012).

A pesar de que en México no existe una regulación propia para los parámetros de calidad de la zarzamora, se consideraron las normas y reglas internacionales anteriormente mencionadas, y aunque son aplicables para la frambuesa al ser de la misma familia que la zarzamora (*Rubus*) se consideró como base de comparación y referencia. Además se realizó una inspección visual para eliminar aquellos frutos que presentaron daños físicos. (Figura 20).



Figura 20. Selección de la zarzamora.

Posteriormente de la selección se realizaron 4 lotes de 600 zarzamoras cada uno, dichos lotes fueron sometidos a una desinfección por aspersion con una solución de cloro al 2 % durante un tiempo de 1 minuto, consecutivamente cada lote fue enjuagado por aspersion utilizando



agua estéril durante 1 minuto. Transcurrido el tiempo de enjuagado se colocaron en mallas teniendo cuidado de no dañar las zarzamoras, se dejaron secar durante 10 minutos con ayuda de una corriente de aire forzado.

4.8.2. Obtención del inóculo

Para la obtención del inóculo se requirieron de 10 cajas del hongo *Botrytis cinerea* crecido durante 10 días, a cada caja se le adicionó aproximadamente 5 mL de una solución de Tween al 0.5 % (la cual fue previamente esterilizada), posteriormente cada caja fue raspada con un bisturí para poder arrastrar las esporas del hongo, finalmente el volumen de cada caja se filtró con ayuda de gasas estériles obteniendo así el inóculo. (Figura 21).

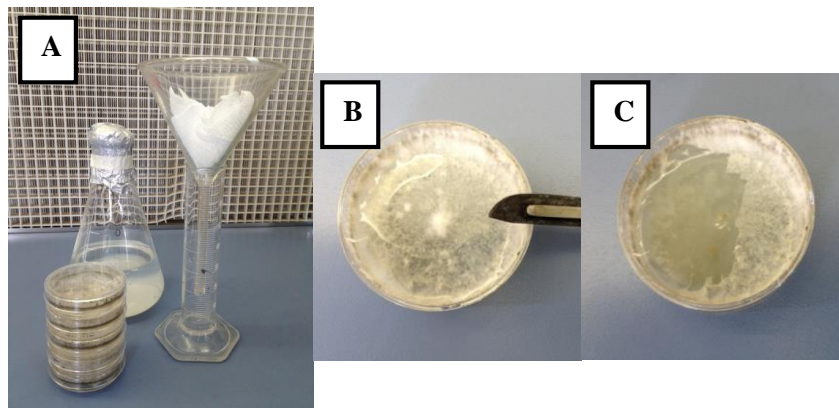


Figura 21. (A) Solución de Tween al 0.5 % estéril y cultivo de *Botrytis cinerea* de 10 días (B) Adición de 5 ml de Tween 0.5% al cultivo de *Botrytis cinerea* (C) Raspado del cultivo.

Obtenido el inóculo se procedió al conteo de esporas mediante una cámara (NeuBauer), la cual es una placa que cuenta con dos áreas y cada área se encuentra conformada de la siguiente manera: 4 cuadros divididos a su vez en 16 y 1 cuadro central dividido en 25 cuadros (Figura 22). (Pascual, 2000).

Para realizar el conteo de esporas, se colocó sobre la cámara de NeuBauer un cubreobjetos específico para después colocar una gota de inóculo en la parte central, posteriormente se colocó en el microscopio y se llevaron a cabo los ajustes (luz y resolución) para poder ver la cuadrícula. Si el inóculo se encontraba muy concentrado, se realizaban diluciones, facilitando así el conteo hasta obtener una concentración de esporas de 1×10^4 (Bleoju, 2007).

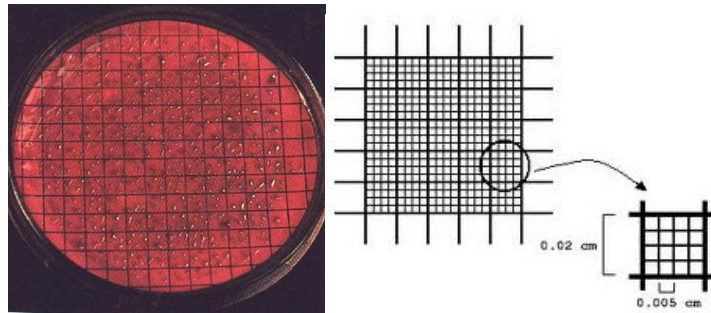


Figura 22. Cámara de NeuBauer para el conteo de esporas.
Fuente: Pascual (2000).

4.8.3. Aplicación del inóculo y recubrimiento a zarzamoras frescas

Para llevar a cabo el recubrimiento de las zarzamoras se llevó a cabo el siguiente proceso:

Recepción: Se recibieron las cajas de zarzamoras.

Selección: Fueron seleccionadas las zarzamoras que cumplieran con lo establecido por la norma CODEX STAN 69-1981 con respecto a parámetros como color, tamaño, textura y nivel de daño.

Lavado y desinfección: Se retiraron hojas y ramas presentes en las cajas de zarzamoras para posteriormente realizar la desinfección por aspersion con una solución de cloro al 2% durante 1 minuto, finalmente las zarzamoras fueron enjuagadas con agua estéril.

Secado 1: Se dejaron secar las zarzamoras desinfectadas por 10 minutos con ayuda de una corriente de aire forzado.

Inoculación: Se colocaron 20 μ L del inóculo de *Botrytis cinerea* en el pedúnculo de la zarzamora, a continuación se dejaron incubar durante 12 horas a una temperatura de 25 °C.

Aplicación del recubrimiento: Se sumergieron lotes de 60 zarzamoras en 1 L de recubrimiento comestible durante 1:30 minutos a una temperatura de 25 °C.

Ecurrado: Con ayuda de una malla fue retirado el exceso del recubrimiento de las zarzamoras durante aproximadamente 1 minuto.

Secado 2: Se colocaron las zarzamoras en una malla sobre su pedúnculo y se dejaron secar por 2 horas asistidas por una corriente de aire forzado.

Almacenamiento: Las zarzamoras se colocaron en tarrinas de PET a una temperatura de 4°C y humedad relativa (H.R.) del 85% durante 12 días.

En la Figura 23 se muestra el diagrama para la inoculación y aplicación del recubrimiento comestible en zarzamora fresca.

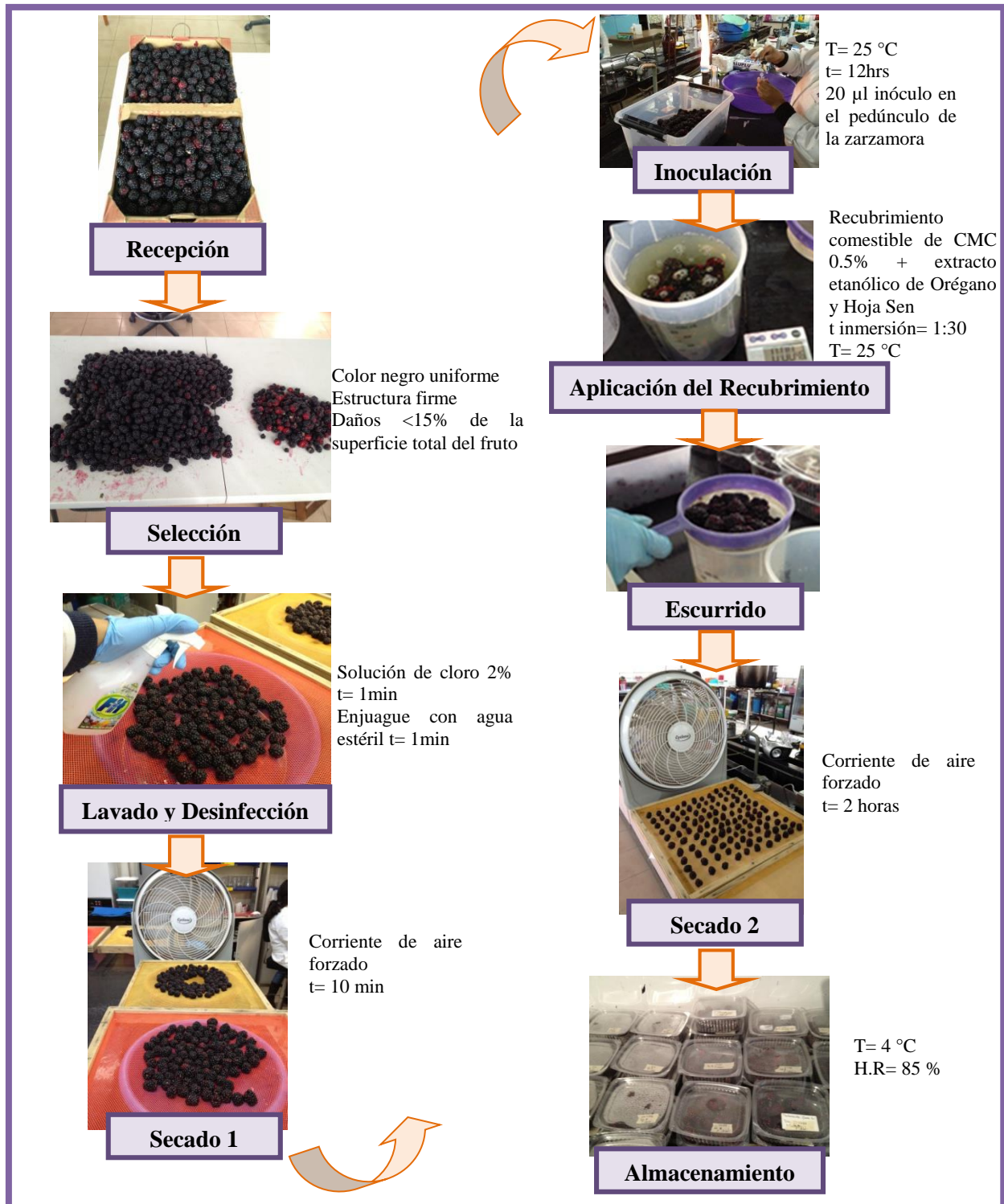


Figura 23. Diagrama de aplicación de recubrimiento comestible a zarzamora fresca.



4.9. Técnicas analíticas

4.9.1. Compuestos fenólicos de los extractos etanólicos

A los extractos obtenidos se les realizó la cuantificación de fenoles totales por el método colorimétrico modificado de Folin-Ciocalteu reportado por Martínez-Cruz *et al.* (2011). Dicho método se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula, dichos compuestos exhiben una amplia absorción de luz, con un máximo a 765 nm. La intensidad de la absorción de luz a esa longitud de onda, es proporcional a los compuestos fenólicos (Gutiérrez-Avella *et al.*, 2008). Esto con la finalidad de determinar el volumen de extracto necesario para generar las concentraciones estudiadas.

Para la obtención de la concentración de los compuestos fenólicos de los extractos se realizó una curva patrón de ácido gálico en concentraciones de 0 a 1 mg/mL dicho reactivo se preparó disolviendo 0.010 g en 1 mL de etanol y aforando a 100 mL con agua destilada. Por último la curva se preparó adicionando distintos volúmenes (μ L) de ácido gálico y agua destilada, además del reactivo Folin-Ciocalteu y Na_2CO_3 los tubos se agitaron y dejaron reposar por 30 min, la lectura se realizó a 765 nm. Una vez obtenida la curva de calibración se sustituyeron los volúmenes de ácido gálico y agua destilada por 200 μ L de los extractos. Los resultados se expresaron en mg de ac. Gálico/ mL de extracto para finalmente realizar el cálculo necesario para obtener el volumen necesario de los extractos para la generación de ciertas partes por millón, considerando que 1 ppm= μ g/mL.

4.9.2. Propiedades físicas de películas

4.9.2.1. Determinación de color

La determinación de color se realizó siguiendo la metodología descrita por Caamal-Herrera *et al.* (2011) la cual consistió en realizar cortes cuadrículares de porciones de película de 2 x



2cm a las cuales se le tomaron lecturas de acuerdo a la escala Hunter (L^*a^*b) en un colorímetro (Minolta, CR-300) (Figura 24), el cual utiliza una fuente de luz para iluminar la muestra medir. La luz reflejada fuera del objeto pasa a través de unos filtros de vidrio rojo, verde y azul para simular las funciones del observador para un iluminante en particular. Un fotodetector ubicado más allá de cada filtro detecta, entonces, la cantidad de luz que pasa a través de los filtros. Estas señales por último, se muestran como valores de L, a y b (Moreno *et al.*, 2006). Con base a los datos obtenidos se calcularon los parámetros de:

Tono (°Hue): El parámetro de tono (°Hue) representa la tonalidad de la muestra. En coordenadas del sistema Hunter se representan como 0 una coloración rojo-púrpura, 90 amarillo, 180 azul-verde y 270 azul, su cálculo se realiza como se muestra a continuación:

$$\text{Tono (°Hue)} = \arctan b/a \quad (\text{Ecuación \#1})$$

Croma: Este parámetro se refiere a la pureza del color, indica la intensidad a saturación del color presente en la muestra, se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Croma} = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (\text{Ecuación \#2})$$

Luminosidad: La luminosidad es el único parámetro que se obtiene de manera directa por el colorímetro, este parámetro indica la luminosidad desde la reflexión nula ($L=0$) a la reflexión difusa perfecta ($L=100$) (Moreno *et al.*, 2006):

$$\text{Luminosidad} = L$$



Figura 24. Colorímetro marca Minolta modelo CR-300.



4.9.2.2. Determinación de espesor

El espesor se determinó mediante la utilización de un micrómetro (Mitutoyo IP65) que está formado por un cuerpo en forma de herradura en uno de cuyos extremos hay un tope o punta, en el otro extremo hay una pantalla digital graduada en medios milímetros, que sostiene la tuerca fija; el extremo del tornillo tiene forma de varilla cilíndrica y forma el tope móvil; mientras su cabeza está unida al tambor con la pantalla digital. Al hacer girar el tambor, el tornillo se enrosca o desenrosca en la tuerca fija y el tambor avanza o retrocede junto con el tope (Dios, 2001).

La evaluación de este parámetro se realizó de acuerdo a Miranda *et al.* (2003). Esta determinación se realizó por triplicado y se ensayaron 9 muestras por cada réplica donde se tomó cada uno de los fragmentos de las diferentes películas analizadas, se colocó una por una entre el tope fijo del micrómetro y el tope móvil, posteriormente se hizo girar el tornillo hasta que los toques estuviesen en contacto por lo que automáticamente apareció la medición en la pantalla (Figura 25). Los resultados fueron expresados en mm.



Figura 25. Medición de espesor del recubrimiento comestible de carboximetilcelulosa al 1 % con orégano en modelo de película.

4.9.2.3. Determinación de transparencia

La prueba de transparencia se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Caamal-Herrera *et al.* (2011), donde se empleó un espectrofotómetro ThermoSpectronic (Genesys 10 uv) ya que los métodos espectroscópicos se basan en la capacidad de las sustancias de absorber (o emitir) radiación electromagnética. El aparato detecta la cantidad de luz transmitida o absorbida a través de la solución en la celda y la compara con la que se transmite o absorbe a través de



una solución de referencia denominada “blanco”. La lectura en la escala ya está convertida en absorbancia (Pastor, 2010).

Para la determinación se empleó una longitud de onda de 600 nm. Se colocó un fragmento rectangular de cada una de los modelos de películas en la parte frontal de las celdas y se introdujo como blanco una celda vacía al espectro a una longitud de onda de 600 nm (Figura 26). La transparencia de las películas se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación, por lo que los resultados fueron reportados en nm/mm:

$$\text{Transparencia} = \frac{A_{600}}{s} \quad (\text{Ecuación \#3})$$

Donde: s= espesor de la película (mm)

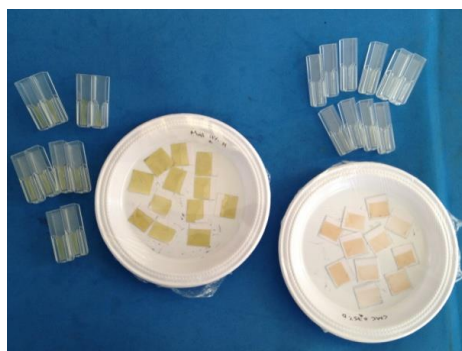


Figura 26. Muestra de dos formulaciones de recubrimiento comestible en modelo de película para la prueba de transparencia.

4.9.3. Propiedades de barrera de películas

4.9.3.1. Determinación de permeabilidad al vapor de agua

La determinación de la permeabilidad al vapor de agua se determinó a través del método descrito por Gennadios *et al.* (1994) citado en Villamán (2007), con algunas modificaciones. Este método fundamenta que la permeabilidad se rige por dos mecanismos: difusión y la adsorción. El primer mecanismo para el flujo del vapor de agua o gas por la película o cubierta es por medio de una difusión activa en la que se incluye la solubilización del gas en la película, difusión a través de la película y finalmente el paso al otro lado de la película. El segundo paso del proceso depende del tamaño, forma y polaridad del penetrante, así como



de la cristalinidad, enlaces y el movimiento de las cadenas poliméricas correspondientes a las matrices de las películas comestibles (Villalobos-Carbajal *et al.*, 2009).

El método antes mencionado consistió en llenar cajas petri a la mitad con cloruro de calcio anhidro (CaCl₂) para generar una H.R del 0%, las cajas se cubrieron con cada una de las películas estudiadas y éstas fueron colocadas en una cámara de ambientación donde se creó un ambiente con HR del 100 % (Figura 27). Se monitoreó la cinética de la pérdida de peso en lapsos de 90 minutos durante 24 horas (Villamán, 2007). Los resultados se expresaron en g/m s Pa



Figura 27. Cámara de ambientación durante la determinación de permeabilidad al vapor de agua.

Con base a los datos obtenidos se aplicó la siguiente ecuación:

$$WPV = \frac{WVTR \cdot X}{p_3 - p_2} \quad \text{(Ecuación \#4)}$$

$$P_2 = P - (P - p_1) \exp(R \cdot T \cdot \Delta Z \cdot WVTR / P \cdot D) \quad \text{(Ecuación \#5)}$$

Donde:

x= espesor de la película en (m)

p₃= presión de vapor de agua dentro de la cámara (KPa)

P= presión atmosférica total (KPa)

p₁= presión parcial de vapor de agua en la superficie del desecante dentro de la celda (p₁=0)

T= temperatura absoluta durante la prueba (K)

R= constante universal de los gases (m³*KPa/g*K)

D= coeficiente de difusividad del vapor de agua en el aire (m²/día)

ΔZ= espacio entre la solución y la película (m²)

WVTR= pendiente de la regresión lineal de la tasa de transmisión de vapor



4.9.4. Parámetros de calidad de las zarzamoras

4.9.4.1. Determinación de color

La determinación de color se llevó a cabo mediante el mismo colorímetro y sistema que el descrito en el apartado 4.9.2, con la diferencia de que las mediciones fueron realizadas en zarzamoras las cuales fueron tomadas en la parte exterior y zona ecuatorial de la zarzamora se consideraron 30 repeticiones en dos lotes por cada tratamiento.

4.9.4.2. Determinación de pérdida de peso

Se evaluó mediante diferencia de pesos, tomando como base el peso inicial de cada una de las charolas menos su peso final (Figura 28). El resultado se expresó como % de pérdida de peso durante el almacenamiento. La determinación se realizó para cada tratamiento, así como para los controles durante todos los días de almacenamiento con 2 muestras por cada tratamiento.

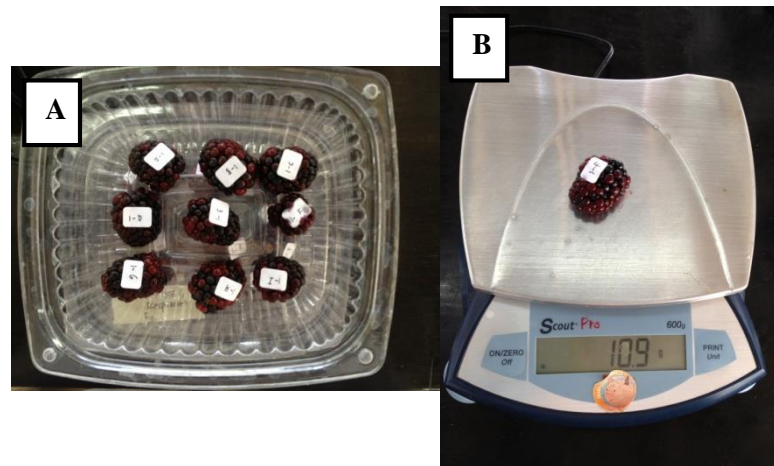


Figura 28. (A) Lote de zarzamora marcado para su identificación durante la cinética de pérdida de peso. (B) Determinación de pérdida de peso de cada zarzamora.

4.9.4.3. Determinación de índice de decaimiento

Se evaluó durante todos los días de almacenamiento mediante el nivel de daño por ataque fúngico en las zarzamoras utilizando una escala subjetiva que se muestra en la Tabla 21. La ecuación aplicada fue la siguiente (Barrera *et al.*, 2012):



Índice de decaimiento = (No. Frutos x Nivel de daño)/ No. De frutos totales (**Ecuación #6**)

Tabla 21. Escala de índice de decaimiento.

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

4.9.4.4. Determinación de liberación de líquido

Para evaluar el desprendimiento de líquido se colocaron papeles filtro de 5 x 5 cm a peso constante, una vez llegado al peso constante de cada papel, se acomodaron entre dos de ellos una zarzamora. Posteriormente se aplicó un peso constante de 100 g durante 10 seg (Figura 29). Finalmente, se determinó el peso de los papeles filtro cada día de muestreo y se calculó el porcentaje de desprendimiento de líquido por diferencia de peso final e inicial de los papeles filtro (Navarrete, 2009). Los resultados fueron expresados en porcentaje de desprendimiento de líquido.

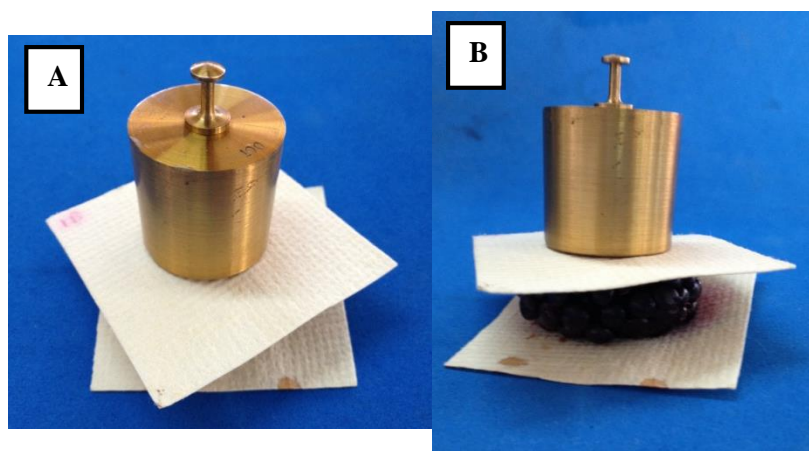


Figura 29. (A) Vista superior durante la determinación de desprendimiento de líquido de la zarzamora (B) Vista lateral durante la aplicación de peso (100 g) en la zarzamora.



4.9.5. Parámetros fisicoquímicos

4.9.5.1. Determinación de sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles fue medido directamente mediante un refractómetro (Atago) a 20 °C, con escala de 0%-32% ° Brix (Figura 30), el cual se fundamenta en el hecho de que sólo parte de la luz incidente en el prisma de medición y es transmitida (aquella que lo hace con un ángulo menor al ángulo crítico), debido a esto, se produce una división neta del campo en dos zonas, una clara y una oscura (Dios, 2001).

La medición se realizó colocando una gota del jugo extraído de las zarzamoras, el cual se tomó de 10 g de zarzamoras previamente homogenizadas, sobre la cara del refractómetro y dirigiéndolo hacia la luz, se midió el contenido de sólidos solubles expresados en °Brix.



Figura 30. Refractómetro manual.

4.9.5.2. Determinación de acidez titulable

La titulación es un método en el cual se agrega un volumen de solución estandarizada a una solución desconocida para determinar el título de algún componente de dicho problema (Canales, 1999).

La acidez se determinó con la titulación de 10 mL de muestra filtrada (10 g de muestra más 90 mL de agua) adicionada con hidróxido de sodio 0.1 N y utilizando fenolftaleína como indicador (Figura 31). Los resultados se expresaron en % de ácido cítrico. (AOAC, 1990).



Figura 31. Titulación volumétrica del jugo de zarzamora.

4.9.5.3. Determinación de pH

Se determinó con un potenciómetro manual (HANNA) (Figura 32), mediante la inmersión del electrodo en la muestra obteniendo lectura directa en el potenciómetro digital.

La determinación se basa en la actividad de iones hidrógeno (H^+) medidos en un potenciómetro usando un electrodo de vidrio y otro de referencia. La fuerza motriz producida por el sistema de electrodos es proporcional al pH de la solución problema (González-Olmos y Guzmán-Morfín, 2011).



Figura 32. Potenciómetro manual HANNA.



4.9.6. Parámetro fisiológico

4.9.6.1. Determinación de respiración

Se evaluó en función de la producción de CO₂ para su cuantificación se conectó a la salida del frasco que contiene la muestra un analizador de gases (DualTrak modelo 902D). Los resultados se expresaron en mg CO₂/Kg h (Figura 33).

Un analizador de gases, está equipado con una bomba de vacío, que arrastra los gases a través de una manguera insertada en el tubo de la muestra y de ahí al analizador de gases, donde una muestra de gas pasa al interior del analizador; una emisión de luz infrarroja es proyectada a través de la muestra de gas. Diferentes partículas en el gas, evitan que ciertas porciones de la luz emitida, pueda alcanzar el receptor opuesto al emisor. Los sensores determinan la cantidad de luz remanente y producen una alimentación para el procesador; el procesador determina la cantidad de los gases presentes en la muestra (principalmente CO₂ y etileno) el cuarto gas es medido por un sensor independiente (oxígeno) (Restrepo y Aristizábal, 2010).

Para la determinación de respiración de las zarzamoras se colocaron tres zarzamoras identificadas previamente de cada tratamiento en un recipiente con volumen de 400 mL. El peso promedio que presentaron las zarzamoras fue de entre 6-10 g. Se selló perfectamente el recipiente con ayuda de parafilm (Parafilm ® “M”) y se mantuvieron durante 1 h a temperatura de 4°C. Una vez transcurrido el tiempo se tomó la lectura de % CO₂ con el analizador de gases introduciendo la aguja del equipo en la manguera localizada en la tapa de los frascos empleados en la realización de esta técnica. La prueba se realizó por triplicado. Finalmente para la obtención de la concentración de mg CO₂/ Kg h se realizó el siguiente cálculo:

$$\Delta \%CO_2 = \text{Concentración de } CO_2 \text{ de muestra} - \text{concentración de } CO_2 \text{ de ambiente}$$

(Ecuación # 7)

$$\text{mg } CO_2 / \text{Kg h} = \frac{(\% \Delta CO_2)(\text{volumen del espacio libre del contenedor en ml})(\text{Cte.gases})}{(\text{peso del producto en Kg})(\text{Tiempo de cierre del contenedor en h})} \quad (\text{Ecuación \#8})$$

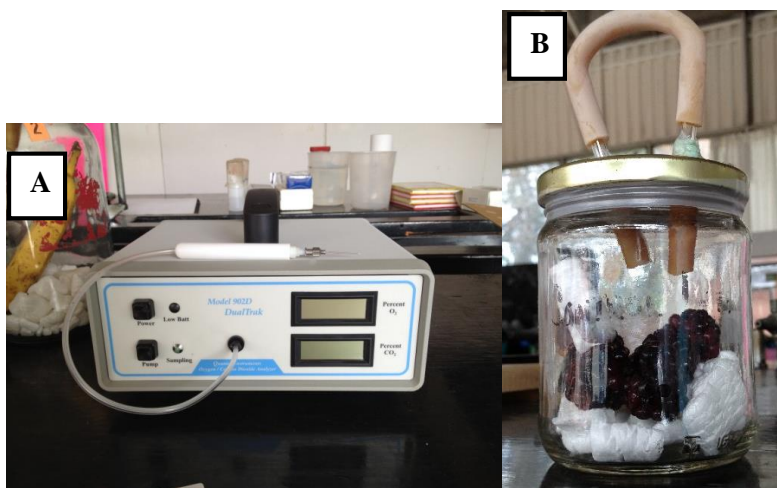


Figura 33. (A) Analizador de gases. (B) Determinación del parámetro de respiración de zarzamoras.

4.9.7. Parámetros químicos

4.9.7.1. Determinación de capacidad antioxidante

Se llevó a cabo por el método de ABTS basado en la metodología reportada por Siriwoharn *et al.* (2004) y González (2010). Dichos métodos se basan en la decoloración del radical catión $ABTS^+$ (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazoline-6-sulfonato). El radical se genera por adición de un agente oxidante $K_2O_8S_2$. Este radical presenta un máximo de absorción espectrofotométrica a 724 nm. En presencia de un agente oxidante se produce una decoloración del compuesto y por tanto la disminución de la absorbancia. Los resultados se expresaron en equivalente de Trolox/ g fruto, antioxidante de referencia universal, a través de la correspondiente recta de calibrado (Siriwoharn *et al.*, 2004)

Para la realización de la técnica se realizó la extracción de la muestra con metanol al 80 % se recuperó el sobrenadante y se ajustó el volumen a 2 mL (Figura 34), el extracto se protegió de la luz y se mantuvo a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso. Se diluyó el radical coloreado ABTS en buffer PBS agregando 2 ml de ABTS a 200 ml de buffer, se midió la absorbancia de ABTS diluido a 734 nm y ésta fue de 0.7000 ± 0.02 . Se hizo la curva patrón. Se realizó la lectura de las muestras de acuerdo a la curva, con los resultados de absorbancias se realizaron los cálculos necesarios (García-Alonso *et al.*, 2002).



Figura 34. Elaboración del extracto de zarzamora para la realización de la prueba de capacidad antioxidante.

4.9.7.2. Determinación de antocianinas

Se determinó por el método de pH diferencial basado en el trabajo realizado por Rodríguez-Pérez *et al.* (2010) y Martínez-Cruz *et al.* (2011). Considerando al pH como uno de los principales factores del medio que afecta la estabilidad del color de las antocianinas, los espectros de UV-VIS a diferentes valores de pH también varían y nos ayudan a determinar si las antocianinas están a no polimerizadas. La concentración de antocianinas se determina entonces con la absorbancia a un pH diferencial. Estas moléculas dan dos bandas de absorción en la región UV (260-280 nm) y la región visible (490-550 nm). Los resultados se expresan como cianidina-3-glucósido (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2010).

A los extractos del fruto se les determinó el contenido de antocianinas monoméricas por dicho método. Se prepararon dos diluciones diferentes de las muestras, una con buffer de cloruro de potasio, pH = 1.0 y otra con el buffer de acetato de sodio, pH = 4.5, llevándolas a un volumen final de 3 mL, se esperaron 15 min a que las diluciones se equilibran y se realizó un barrido con el espectrofotómetro a 515 y 700 nm. Se llevaron los cálculos siguientes para determinar la concentración de pigmentos monoméricos en las muestras, los resultados se reportaron en mg/ 100g fruto:

$$C \text{ mg/g} = \frac{((A_{\lambda_{\text{max}}-\lambda 700})_{\text{pH}=1.0} - (A_{\lambda_{\text{max}}-\lambda 700})_{\text{pH}=4.5})(\text{PM})(\text{Fd})(1000)}{\epsilon(1)} \quad \text{(Ecuación \#9)}$$

Donde:

$$\begin{aligned} \text{PM (cianidina 3-glucósido)} &= 449.2 \text{ mol/g} \\ \epsilon &= 26,900 \text{ L/mol*cm} \end{aligned}$$



4.9.8. Determinación de parámetros sensoriales

Se llevó a cabo mediante pruebas afectivas según lo reportado por Centurión-Yah, *et al.* (2008) específicamente pruebas hedónicas, que son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o si lo prefiere a otro. Por lo general se realizan con panelistas inexpertos o con solamente consumidores. Entre estas pruebas se encuentran las de preferencia, medición del grado de satisfacción y las de aceptación (Centurión-Yah, *et al.*, 2008).

El análisis sensorial de los frutos se realizó con un panel semi-entrenado, donde cada uno de los panelistas degustó tres zarzamoras con distintos tratamientos (Figura 35), esto con la finalidad de valorar parámetros como: apariencia visual^A, intensidad de color, olor^A, olores extraños, sabor^A, textura y calificación global^A, las escalas hedónicas empleadas para dichos parámetros fueron las siguientes:

Tabla 22. Escalas hedónicas empleadas para los parámetros sensoriales de las zarzamoras.

A. Escala general	Escala de olores extraños	Escala de textura	Escala de intensidad de color
1. Muy mala	1. Mucha	1. Muy blanda	1. Negro muy claro
2. Mala	2. Alguna	2. Blanda	2. Negro claro
3. Aceptable como límite de consumo	3. Aceptable	3. Aceptable como límite de consumo	3. Negro
4. Buena	4. Poco	4. Firme	4. Negro intenso
5. Muy buena	5. Ninguna	5. Muy firme	5. Extremadamente negro

NOTA. Los parámetros con superíndice “A” corresponden a la “Escala general”



Figura 35. Muestras montadas de zarzamoras a los 12 días de almacenamiento refrigerado para la realización de la evaluación sensorial de las mismas.



4.9.9. Análisis estadístico

Para el objetivo particular 1 se diseñó un experimento con 18 películas obtenidas de la combinación de los siguientes factores: dos niveles de matrices (carboximetilcelulosa y maltodextrina), tres niveles de concentraciones de los polisacáridos y tres niveles de los extractos (Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago) para evaluar la permeabilidad al vapor de agua, color, transparencia, espesor y actividad antifúngica. Esta etapa se desarrolló un arreglo factorial $2 \times 3 \times 3$, bajo un diseño completamente al azar, donde cada componente representó un factor. Con los datos obtenidos se realizó comparación múltiple de medias (Tukey ≤ 0.05).

Para los objetivos 2, 3 y 4 los experimentos se realizaron por triplicado con el fin de obtener resultados significativos a los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y para establecer la diferencia significativa entre los distintos tratamientos estudiados se utilizó la prueba de rango múltiple (Duncan). El paquete estadístico utilizado en todos los objetivos fue el programa SPSS ® versión 1.5.



Resultados y Discusión



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Propiedades físicas

5.1.1. Determinación de color

❖ Croma

En la Figura 36 se observa que las películas con matriz de CMC adicionadas con extracto de Orégano presentaron el mayor croma, siendo este 70.3% mayor con respecto a las adicionadas con Sangre de Drago que presentaron el menor croma con un promedio de 9.32, quedando de manera intermedia las películas adicionadas con extracto de Hoja Sen que reportaron una intensidad de color promedio de 24.67.

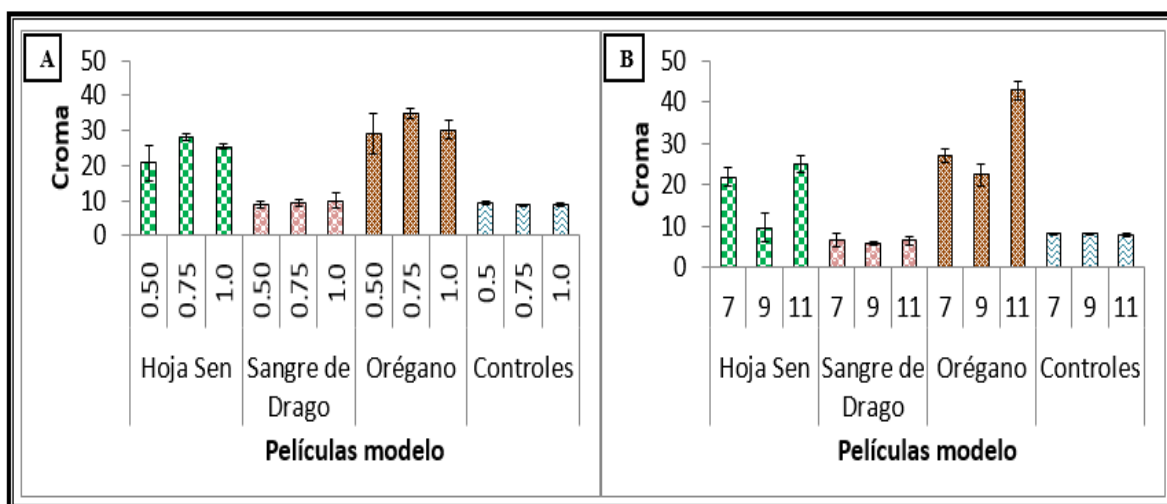


Figura 36. Croma de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las diferencias observadas fueron debidas a las diversas tonalidades de los extractos de las plantas, las cuales varían de acuerdo a su coloración natural, provocada por los pigmentos y por la generación de diversos metabolitos secundarios sintetizados durante el crecimiento de las mismas y los cuales son arrastrados durante la extracción provocando que a ser adicionado el extracto a las diversas matrices la coloración de los mismos perdura en la película modelo.



Con respecto a las películas con matriz de maltodextrina (Figura 36B) el comportamiento fue similar al obtenido para matriz de CMC, encontrándose que para Orégano, Sangre de Drago y Hoja Sen se obtuvieron valores promedio de 30.63, 6.21 y 18.71, respectivamente.

Las películas control de CMC presentaron 5.49%, (8.81 a 9.32) menor croma que las elaboradas con la misma matriz pero adicionadas con Sangre de Drago, mientras que las películas hechas con maltodextrina presentaron una intensidad de color 22.7% mayor con respecto a las adicionadas con Sangre de Drago.

En relación a la concentración de los polisacáridos empleados para las distintas matrices, conforme ésta incrementaba se observó que el croma también, en las concentraciones más elevadas de carboximetilcelulosa como de maltodextrina (1 y 11% respectivamente) se obtuvieron en la mayoría de las formulaciones los valores de croma más altos. En las películas elaboradas con maltodextrina al 11% se obtuvieron valores de croma hasta 38.6%, mayor en comparación a las películas con la misma matriz pero al 7%, mientras que los recubrimientos a base de CMC exhibieron variaciones importantes ya que no siempre el mayor valor de croma fue para la concentración más elevada, sin embargo la diferencia del valor más alto con respecto al menor fue en promedio del 18.34%.

El ascenso del croma conforme incrementó la concentración fue más evidente para las matrices de maltodextrina lo que se atribuyó al rango de concentraciones empleadas (7-11%) ya que fueron más elevadas, mientras tanto las matrices de CMC (0.5-1%) además de que la variación entre las concentraciones de esta matriz fue del 0.25%, mientras que para maltodextrina el rango de variación fue mayor con un 2%.

El croma de las películas adicionadas con los diferentes extractos etanólicos así como las distintas concentraciones con los dos polisacáridos presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$), esto se debió a que la concentración propia de la matriz proporcionó un color característico que fue evidente conforme la concentración fue incrementado, esto en conjunto con la adición de extractos se vio reflejado en la intensidad del color.

Lo que refieren los resultados anteriores es que conforme la concentración de los polisacáridos incrementa la opacidad brindada a la película modelo también aumenta, no obstante dependerá del tipo de polisacárido empleado y los rangos de concentraciones



evaluadas, por lo que si se desean películas con menor croma se recomiendan las concentraciones más bajas, con respecto a los aditivos (principalmente extractos) deben ser de coloraciones claras o bajas concentraciones, en este proyecto las películas de ambas matrices adicionadas con extracto etanólico de Sangre de Drago y las películas control presentaron los menores cromas, por el contrario si fuera necesario la elaboración de películas modelo con un mayor croma para ser aplicadas a productos oscuros se recomienda la utilización de concentraciones elevadas de polisacáridos y la adición de extracto etanólico de Hoja Sen y Orégano principalmente ya que presentaron los mayores cromas.

❖ Tono ($^{\circ}$ Hue)

Las películas con matriz de carboximetilcelulosa adicionadas con extracto de Hoja Sen mostraron 56.58% mayor tono que las adicionadas con Sangre de Drago que presentaron el valor más bajo con un promedio de 36.39 $^{\circ}$ Hue, quedando de manera intermedia las películas adicionadas con extracto de Orégano que reportaron un valor promedio de 69.92 $^{\circ}$ Hue (Figura 37A).

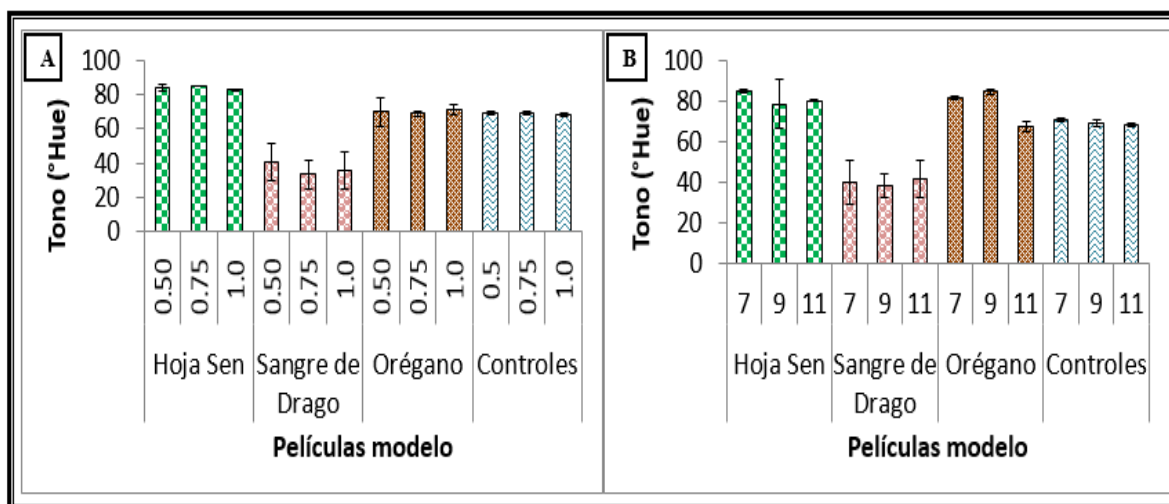


Figura 37. Tono ($^{\circ}$ Hue) de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Sin importar las matrices de polisacáridos empleadas los valores de $^{\circ}$ Hue fueron de un color púrpura oscuro, las diferencias fueron debido a la utilización de las diferentes plantas, ya que desde los extractos se puede observar una coloración característica según la planta empleada,



esto es debido básicamente a la presencia de algunos flavonoides relacionados con la coloración de las plantas (antocianinas, flavonoles y flavonas principalmente) generados de manera natural en las mismas, dichos compuestos son arrastrados durante la extracción debido a la elevada polaridad del etanol quedando una concentración importante de estos metabolitos en los extractos etanólicos, por lo que al adicionar dichos extractos a las distintas matrices de los recubrimientos comestibles el color de planta se hizo evidente al secar la película.

Las películas realizadas con maltodextrina presentaron un comportamiento similar al descrito anteriormente para CMC, para Hoja Sen se obtuvieron °Hue promedio de 80.83, Sangre de Drago presentó 39.77 °Hue y Orégano con valores intermedios presentó 77.62 °Hue (Figura 37B).

Las películas controles de ambas matrices registraron valores de °Hue entre 68.72 a 69.19, presentando un 18% mayor tono las películas adicionadas con extracto de Hoja Sen comparando con su control, mientras que la de matriz de maltodextrina con Hoja Sen fue un 14.39% (80.83 a 69.19) mayor comparada con su control.

Los resultados del presente trabajo difieren por los reportados en Caamal-Herrera *et al.* (2011), ya que reportaron °Hue en películas elaboradas con mezclas binarias de almidones sin adición de extractos, siendo sus valores de 22.11 a 23.08% más bajos en comparación con los controles de CMC y maltodextrina respectivamente, igualmente en comparación con los resultados reportados por Rojas-Graü *et al.* (2007) quienes trabajaron con alginato y gelano adicionados con agentes antipardeamiento los valores de °Hue fueron 14.47% mayores en comparación con las películas adicionados con extracto de Hoja Sen con matriz de CMC y un 17.52% mayor empleando maltodextrina adicionado con el mismo extracto.

El tono de las distintas películas presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por la adición de los distintos extractos a las películas, mientras que las concentraciones de los polisacáridos no ocasionaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$), lo que significó que las películas debido a los distintos colores que presentaron pueden tener distintas aplicaciones siempre y cuando se evalúe a los productos a los cuales se deseen aplicar. En el caso particular de las películas adicionadas con extracto de Hoja Sen se recomienda aplicar en productos de coloración verde



como pueden ser pepinos, limones, chayotes, calabazas, chiles, entre otros, para películas adicionadas con extracto de Sangre de Drago se recomiendan productos naranjas o beige como son naranjas, papas, zanahorias, mangos, etc y películas adicionadas con orégano a productos más oscuros como pueden ser guanábanas, chirimoyas, aguacates, etcétera.

❖ *Luminosidad*

La luminosidad es uno de los parámetros más importantes en una película. Las películas con matriz de CMC adicionadas con extracto de Sangre de Drago mostraron 17% (75.44 a 62.66) mayor porcentaje de luminosidad que las adicionadas de Orégano que presentaron un promedio de 62.66%, quedando de manera intermedia las adicionadas con extracto de Hoja Sen que reportaron un tono promedio de 71.86% las diferencias fueron debidas a la utilización de los extractos ya que en comparación con las películas control de CMC éstas fueron 8.83% (82.75 a 75.44) más luminosas que las adicionadas con extracto de Sangre de Drago.

Las películas con matriz de maltodextrina y adicionadas con extracto de Sangre de Drago presentaron una luminosidad promedio de 78.91, las de Orégano presentaron 12.5% menor luminosidad con respecto a las de Sangre de Drago, mientras que las de Hoja Sen conservaron valores intermedios alrededor de 72.36%. Por otro lado las películas control de maltodextrina fueron 2.66% más luminosas que las primeras (Figura 38).

Los resultados del presente trabajo concuerdan por los reportados en Caamal-Herrera *et al.* (2011), donde reportaron luminosidades en películas elaboradas con mezclas binarias de almidones sin adición de extractos con valores de entre 80-83%, no así con las obtenidas por Rachtanupan *et al.* (2012) en películas comestibles empleando carboximetilcelulosa comercial y obtenida a partir de la corteza de durión, donde obtuvieron luminosidades promedio de 84.6 y 80.7% respectivamente, por lo que fue un 11.03% mayor en comparación con la matriz de CMC adicionada con extracto de Hoja Sen, 6.59% mayor en comparación con la matriz adicionada con extracto de Sangre de Drago y finalmente un 22.42% mayor en comparación con la película de CMC adicionada con extracto de Orégano.

De la misma manera los resultados difirieron por los obtenidos por Quilaqueo-Gutiérrez *et al.* (2012) en películas a base de CMC adicionadas con extracto de hojas de murta, los cuales



obtuvieron luminosidades para la película control de 92.19%, las cuales fueron un 10.23% mayor en comparación a las luminosidades de las películas control estudiadas en este proyecto. Con respecto a la adición de extracto en la matriz de CMC, Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano presentaron luminosidades menores en un 10.39, 5.9 y 20.8% respectivamente en comparación a las películas de CMC adicionadas con extracto de hojas de murta.

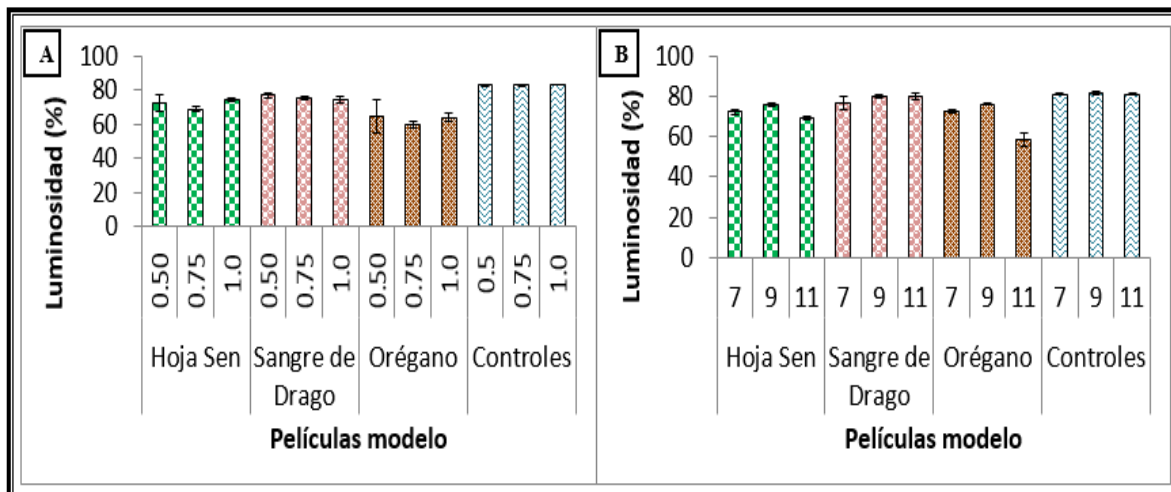


Figura 38. Luminosidad de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las películas adicionadas con los distintos extractos etanólicos a las diferentes matrices provocaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$), mientras que las concentraciones de los polisacáridos no ocasionaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la luminosidad de éstas. Lo que significó que los extractos debido a su coloración modificaron de manera importante la luminosidad de las películas ya que en ambas matrices los controles presentaron un mayor porcentaje de luminosidad.

5.1.2. Determinación de espesor

El espesor es un parámetro físico que influye de manera importante en otros parámetros de las películas comestibles como son: la transparencia, permeabilidad al vapor de agua u otros gases, entre otras pruebas.



En el desarrollo de este proyecto las películas con matriz de CMC en su concentración más baja (0.5%) presentaron el menor espesor con un promedio de 0.052 mm siendo éstas 44.7% menos gruesas que las elaboradas con una concentración del 1% de CMC que fueron los de mayor espesor (0.094 mm) quedando de valores intermedios la concentración de 0.75% con 0.073 mm (Figura 39A).

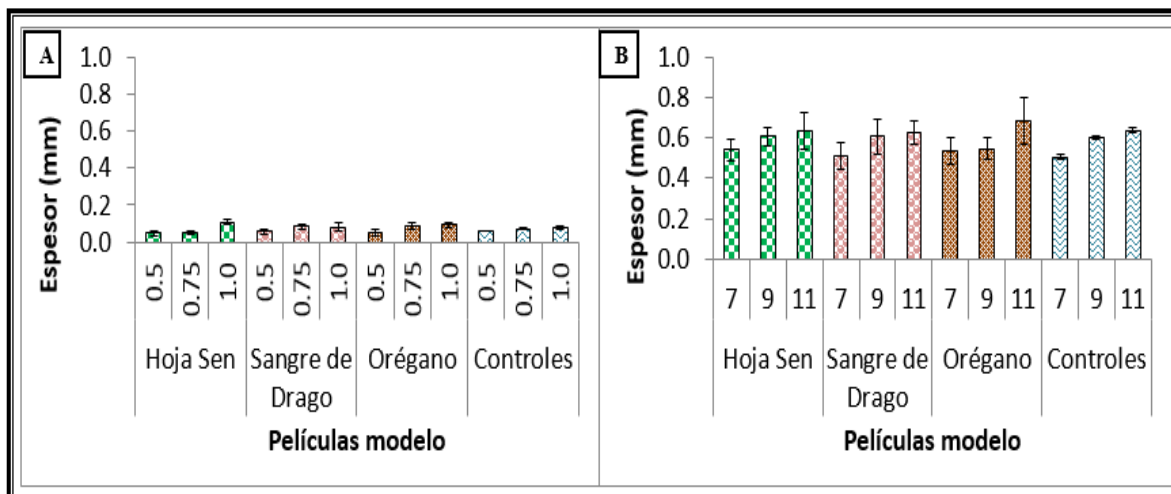


Figura 39. Espesor de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las películas elaboradas con matriz de maltodextrina al 7, 9 y 11% (Figura 39B) presentaron espesores promedio de 0.529, 0.586 y 0.647 mm, teniendo la concentración de 11% una diferencia del 18.72% (0.64 a 0.52) mayor con respecto a la concentración más baja (7%).

Los resultados del proyecto difieren de lo reportado en Miranda *et al.* (2003) que reportaron valores de 0.015 a 0.022 mm en películas elaboradas con quitosán, presentando un 57.85 y 76.96% menor espesor a la concentración de 0.5 y 1% de CMC.

Por otro lado las películas elaboradas con maltodextrina al 7 y 11% presentaron un espesor menor en un 95.84 y 96.6% respectivamente en comparación con los valores reportados por Galus *et al.* (2012) quienes evaluaron la incorporación de maltodextrina en las propiedades mecánicas y de barrera, apariencia y sensibilidad a la humedad en recubrimientos comestibles



de aislado de proteína de soja. De igual manera los resultados obtenidos en el espesor de las películas elaboradas con maltodextrina concordaron con los obtenidos por Bósquez (2003) quien trabajó con películas comestibles a base de goma de mezquite y cera de candelilla y reportó espesores de 0.476 mm siendo 10 y 26.4% mayor su espesor comparado con la concentración de 7 y 11%, respectivamente del presente trabajo.

El espesor de las distintas películas estudiadas presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) ocasionada por las diferentes concentraciones utilizadas, no así ($p \geq 0.05$) de los extractos etanólicos adicionados en las dos matrices de las películas de lo que se puede decir que la concentración de los polisacáridos es directamente proporcional al espesor de las películas, esto debido a que la cantidad de soluto (polisacárido) incrementa en un volumen fijo de disolvente (agua), por lo que al secar la película presenta un espesor proporcional a la concentración de la matriz (Miranda *et al.*, 2003).

5.1.3. Determinación de transparencia

La transparencia es considerada un parámetro físico de las películas comestibles y se refiere básicamente a la facilidad que presenta la película para dejar pasar la luz. Se requiere que la película comestible presente una elevada transparencia, esto con la finalidad de no modificar las características físicas propias del fruto a aplicar (Caamal-Herrera *et al.*, 2011).

Las películas de CMC 0.5% presentaron una transparencia 32.68% (2.05 a 1.38) mayor con respecto a las de concentración de 1.0% que obtuvieron valores de 1.361 nm/mm, quedando de manera intermedia las de concentración 0.75% con una transparencia promedio de 1.381 nm/mm (Figura 40).

La transparencia de CMC 0.5% fue 77.89% mayor en comparación con la transparencia obtenida empleando matriz de maltodextrina 9% (0.454 nm/mm), mientras que la menor transparencia fue obtenida para la misma matriz aunque a la concentración de 11% con un valor promedio de 0.385 nm/mm.

El uso de las distintas concentraciones de los polisacáridos ocasionó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la transparencia de las películas comestibles. Por otro lado la adición de extractos etanólicos presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) sólo para la comparación entre las



películas control y aquellas que fueron adicionadas con extractos etanólicos, sin embargo al comparar entre sí las películas que fueron adicionadas con dichos extractos se observó que no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la adición de extractos etanólicos de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano en la transparencia de las películas modelo, lo anterior fue debido a que las películas adicionadas con extractos lograron emitir una cantidad considerable de luz durante la determinación espectrofotométrica, no así al incrementar la concentración de los polisacáridos ya que al existir mayor cantidad de sólidos en la película éstos absorben la luz transmitida por lo que la cantidad de luz emitida hasta el detector de luz de espectrofotómetro es menor.

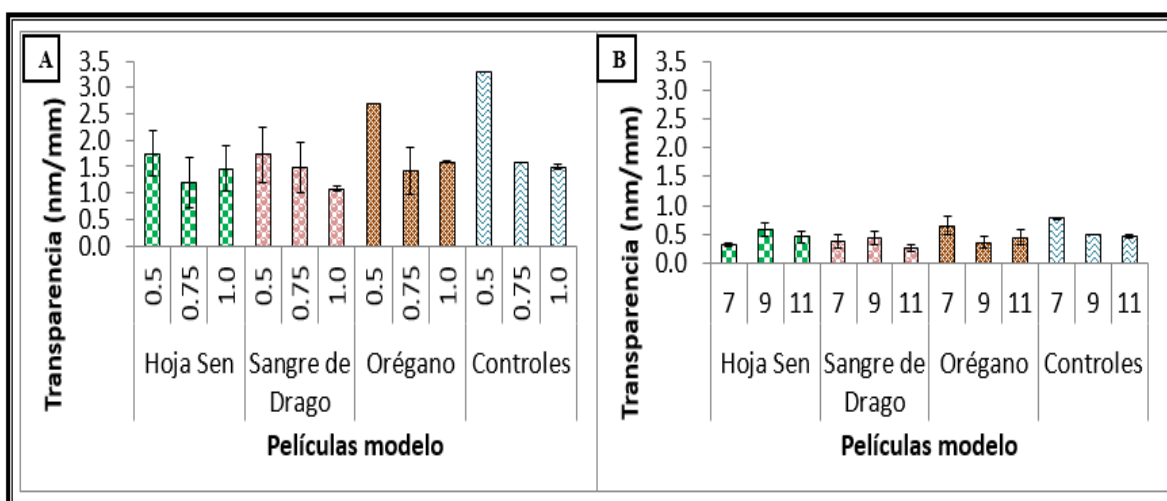


Figura 40. Transparencia de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Los resultados hasta el momento difieren con los reportados por Caamal-Herrera *et al.* (2011), que reportaron transparencias en películas elaboradas con almidón de yuca y maíz sin adición de extractos de 5.09 y 6.38 nm/mm respectivamente, teniendo 36.4 y 48.4% mayor transparencia que las películas control con matriz de CMC del presente trabajo comparado con los primeros y segundos respectivamente, mientras que las películas control elaboradas con maltodextrina fueron 84.7 y 87.7% menos transparentes que las películas de yuca y maíz.



Esta amplia diferencia en la transparencia o claridad de los geles de almidón con respecto a los polisacáridos empleados fue debido a que a medida que disminuye el contenido de amilosa la transparencia incrementa, ya que dicha fracción es poco dispersable lo cual interfiere con el paso de luz en la estructura del gel, dando la apariencia de estar opaco. Cuando el almidón contiene cantidades bajas de amilosa, los gránulos tienden a ser dispersables más fácilmente y por ende pueden ser gelatinizados más fácilmente, lo cual afecta la transparencia de forma positiva (Caamal-Herrera *et al.*, 2011).

Tongnuanchan *et al.* (2013) presentaron en su investigación sobre las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y actividad antioxidante de películas a base de gelatina de piel de pescado adicionadas con aceites esenciales de distintas raíces (jengibre, cúrcuma y plai) que el valor de transparencia de las películas fue directamente proporcional a la cantidad de aceite esencial adicionado a las películas, obteniendo valores de 1.20 hasta 3.02 nm/mm lo que representó una diferencia mayor de hasta el 54.3% (1.38 a 3.02) en comparación a la transparencia obtenida por las películas de CMC 1% (concentración más cercana a la trabajada por el autor que fue de 3.5%) mientras que para las películas de maltodextrina 7% la diferencia fue mayor en un 85.23% (0.446 a 3.02) con respecto a las reportadas por la bibliografía. Las diferencias se debieron básicamente al tipo de matriz empleada para la elaboración de las películas, tipos de aditivos y concentración de los mismos (plastificantes, extractos, aceites).

Actualmente no existen informes cuantitativos sobre el grado de transparencia de los polisacáridos empleados en el desarrollo de este proyecto a las condiciones de trabajo, por lo que los resultados obtenidos en esta investigación fueron relevantes para este parámetro, lo que sugirió que la aplicación de películas a base de CMC y maltodextrina a las concentraciones más bajas (0.5% de CMC y 7% de maltodextrina) no alteran las características visuales de los productos hortofrutícolas a los que fueron aplicados.

5.2. Propiedades de barrera

5.2.1. Permeabilidad al vapor de agua

El parámetro de permeabilidad al vapor de agua (PVA) es uno de los más importantes a considerar durante la caracterización de un modelo de película comestibles, ya que es



necesario que dicho modelo sea poco permeable al vapor de agua para evitar la proliferación de microorganismos y/o daños al fruto durante su almacenamiento (Bifani *et al.*, 2007).

Las películas de CMC al 0.5% presentaron una permeabilidad al vapor de agua 44.31% (1.515×10^{-10} a 2.757×10^{-10}) menor con respecto a la concentración de 1.0%, la cual obtuvo valores de 2.757×10^{-10} g/m s Pa, quedando de manera intermedia las películas de concentración 0.75% con una permeabilidad promedio de 2.15×10^{-10} g/m s Pa (Figura 41A).

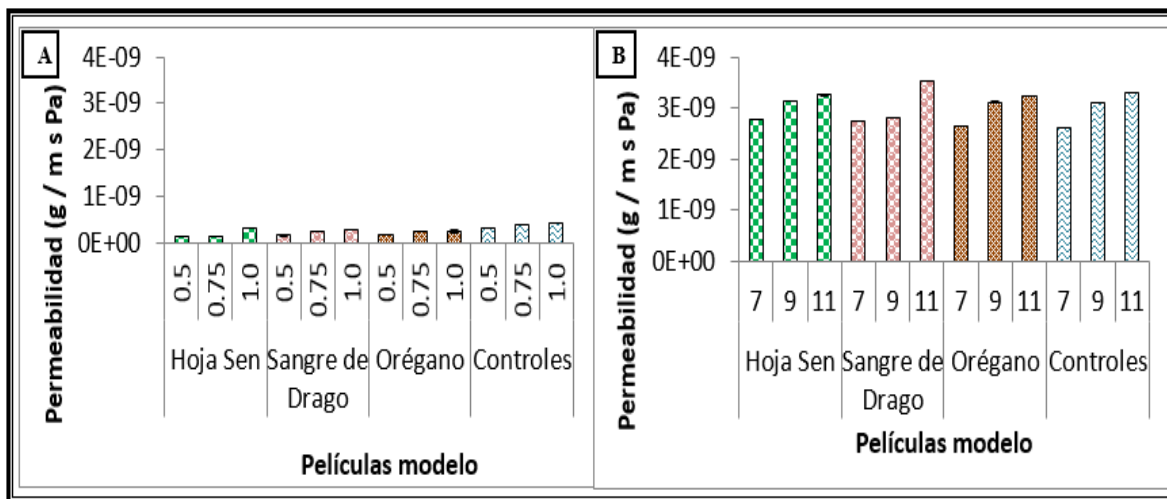


Figura 41. Permeabilidad al vapor de agua de las distintas películas modelo con matriz de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (A) y maltodextrina al 7, 9 y 11% (B) adicionadas con extractos vegetales de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Por otro lado las películas de maltodextrina al 7% presentaron una permeabilidad al vapor de agua 18.2% (2.727×10^{-9} a 3.335×10^{-9}) menor cotejando con la concentración de 11%, la cual obtuvo valores de 3.335×10^{-9} g/m s Pa, quedando de manera intermedia las películas de concentración 9% con una permeabilidad promedio de 3.01×10^{-9} g/m s Pa (Figura 41B).

La PVA de CMC 0.5% presentó un valor 89.74% menor en comparación con el dato de permeabilidad más bajo (2.727×10^{-9} g/m s Pa) empleando matriz de maltodextrina al 7%, mientras que el valor más elevado fue obtenido en la película de maltodextrina al 11% con un valor promedio de 3.33×10^{-9} g/m s Pa.

Las películas con matriz de CMC adicionadas con extracto etanólico de Hoja Sen obtuvieron la menor permeabilidad con un valor del 2×10^{-10} g/m s Pa, mientras que las adicionadas con



extracto de Orégano fueron las más permeables al vapor de agua con un valor del 2.25×10^{-10} g/m s Pa, las películas adicionadas con el extracto restante presentaron una permeabilidad del 3.55% menor con respecto a las películas adicionadas con extracto de Orégano. Por otro lado las películas elaboradas con maltodextrina y adicionadas con extracto etanólico de Hoja Sen resultaron las más permeables al vapor de agua con un valor de 3.05×10^{-9} g/m s Pa seguidas por las películas de la misma matriz pero adicionadas con extracto etanólico de Orégano, finalmente las películas control y aquellas adicionadas con extracto de Sangre de Drago fueron las menos permeables a la humedad con un valor de 3.01×10^{-9} g/m s Pa.

La PVA de las diferentes películas estudiadas con la adición de extractos etanólicos y las diferentes concentraciones de los polisacáridos presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por dichos cambios. Lo que significó que la concentración de los polisacáridos presentes en la matriz de formación fue directamente proporcional a la PVA, aunque también el uso de diferentes polisacáridos ocasionó diferencias significativas ($p \leq 0.05$), ya que las películas con la matriz de CMC al 0.5% presentaron una permeabilidad al vapor de agua 94.28% menor en comparación con las obtenidas con maltodextrina al 7%. Dichas diferencias se atribuyeron a las formulaciones evaluadas, ya que la interacción entre los componentes de las distintas películas es el principal factor que proporciona las características físicas, de barrera, mecánicas, entre otras, por lo que las concentraciones estudiadas, tipo de polisacárido y adición de extractos fueron determinante para la obtención de los resultados mostrados anteriormente.

Los resultados de permeabilidad al vapor de agua a base de CMC difieren por los reportados por Gennadios *et al.* (1994), el cual empleó metilcelulosa y zeína de maíz como matrices de las películas, el estudio realizado presentó una permeabilidad 83.21 y 98.02% menor con respecto a la obtenida en este proyecto para la matriz de CMC 0.5% y maltodextrina 7% respectivamente. Por su parte Bifani *et al.* (2007) quienes trabajaron con películas comestibles a base de CMC con adición de extractos de hojas de murta reportaron valores de 6.73×10^{-11} g/m s Pa siendo este valor 88.17% menor al obtenido para CMC 0.5% adicionada con extracto etanólico de Hoja Sen y un 98.98% menor para la concentración de 1% de CMC.



Otros trabajos como el de Galus *et al.* (2012) reportaron que la adición de maltodextrina a las películas comestibles a base de proteína aislada de soja disminuyó la permeabilidad al vapor de agua con valores de 3.07×10^{-10} g/m s Pa lo que representó que los valores obtenidos por los controles de maltodextrina en este estudio fueron 99.57% mayores con respecto a los de este trabajo, o el de Muhammad-Javeed *et al.* (2013) quienes trabajaron con películas de Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) adicionadas con distintas concentraciones de glicerina y de un colorante rojizo natural (NRC por sus siglas en inglés) reportaron permeabilidades 83.17 y 54.57% menores en comparación con las obtenidas en este trabajo para las matrices de CMC 0.5 y 0.75% respectivamente. Por su parte Pastor (2010) quien trabajó con películas a base de HPMC adicionadas con extractos etanólicos obtuvo permeabilidades 90.51% menores comparadas con las obtenidas para CMC 0.5%.

Turhan y Sahbaz (2004) quienes trabajaron con películas de metilcelulosa sin ningún aditivo obtuvieron permeabilidades del 98.53% menores con respecto a las de CMC 0.5%. Finalmente autores como Petersson y Stading (2005), Kolodziejska y Piotrowska (2007) y Mauer *et al.* (2000) quienes trabajaron con películas de diferentes polisacáridos y proteínas reportaron permeabilidades del 83 al 94% menores con respecto a CMC 0.5% y del 96-98% menores con respecto a las de maltodextrina 7%.

Aguirre *et al.* (2013) trabajaron con películas de origen proteico extraídas a partir de harina de triticale adicionadas con aceite esencial de Orégano, en su investigación concluyeron que la adición del aceite no fue significativo en la permeabilidad de la película ya que los valores de las películas control como de aquellas a las que se les adicionó el aceite oscilaron entre los 0.33 a 0.40×10^{-10} g/m s Pa, por el contrario en esta investigación la adición de los extractos etanólicos fue significativa para este parámetro. Por su parte Pires *et al.* (2013) quienes trabajaron con películas de proteína de merluza adicionadas con aceites esenciales determinaron que la adición de los aceites redujo la permeabilidad al vapor de agua de las películas hasta un 36.32% (5.92×10^{-11} a 3.77×10^{-11}) dependiendo del tipo de aceite y la concentración empleada.

Por el contrario Tongnuanchan *et al.* (2013) obtuvieron en su investigación sobre las propiedades fisicoquímicas, morfológicas y actividad antioxidante de películas a base de gelatina de piel de pescado adicionadas con aceites esenciales de distintas raíces (jengibre, cúrcuma y plai) que la adición de los aceites esenciales mejoraron la permeabilidad de las



películas haciéndolas menos permeables al vapor de agua hasta en un 41% empleando la mayor concentración de aceite con respecto a la concentración más pequeña, resultados similares a los obtenidos en este trabajo de investigación aunque con permeabilidades de las películas de gelatina de piel de pescado menores hasta en un 36.5% equiparadas con las obtenidas por las películas de maltodextrina y CMC en la realización de este proyecto. A la misma conclusión llegaron Wen *et al.* (2012) los cuales caracterizaron películas comestibles a base de gelatina adicionadas con aceite de oliva, dichos investigadores demostraron que al incrementar la concentración de aceite de oliva las películas de gelatina disminuían su permeabilidad al vapor de agua hasta en un 25.39%, cabe destacar que las permeabilidades obtenidas por las películas de CMC en este proyecto fueron hasta 21.3% menores en comparación a las reportadas por Wen *et al.* (2012).

Finalmente los resultados reportados por Ramírez *et al.* (2012) quienes estudiaron el ángulo de contacto, humectabilidad y permeabilidad al vapor de agua en películas de carboximetilcelulosa (CMC) al 2% adicionadas con extracto de hojas de murta (*Ugni molinae* Turcz) obtuvieron permeabilidades con un valor promedio de 1.26×10^{-10} g/m s Pa lo que representó una diferencia del 54.18% (1.26×10^{-10} a 2.75×10^{-10}) en comparación a las permeabilidades de las películas de CMC 1% adicionadas con extractos etanólicos.

De manera general se encuentra que las significativas diferencias numéricas se deben a muchos factores como por ejemplo la matriz de la película empleada, concentración de las matrices, aditivos empleados (extractos etanólicos, surfactantes, plastificantes, etc.) y método experimental realizado para la determinación de la permeabilidad, por lo que aunque hasta el momento no exista una referencia que presente resultados arrojados por el empleo de los tipos y concentraciones de polisacáridos aquí presentados y las mismas condiciones de trabajo no se realizó una comparación clara, sin embargo los valores de las permeabilidades obtenidas en este trabajo sugieren que las formulaciones presentaron un rango aceptable de permeabilidad al vapor de agua ya que en la gran mayoría de los casos se requiere que la película sea lo menos permeable al vapor de agua, esto con la finalidad de evitar posibles desarrollo de microorganismos en el fruto o incremento de actividades enzimáticas que conlleven a una rápida descomposición del producto.



5.3. Evaluación de las propiedades antifúngicas de extractos de plantas

5.3.1. Pruebas *in vitro* de las propiedades antifúngicas de los distintos extractos etanólicos

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

La adición de extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm y Sangre de Drago a la misma concentración presentaron el máximo porcentaje de inhibición (100%) durante los 15 días de incubación del hongo, mientras que la adición de extracto de Orégano a la misma concentración presentó una inhibición de 0% al día 14 (Figura 42).

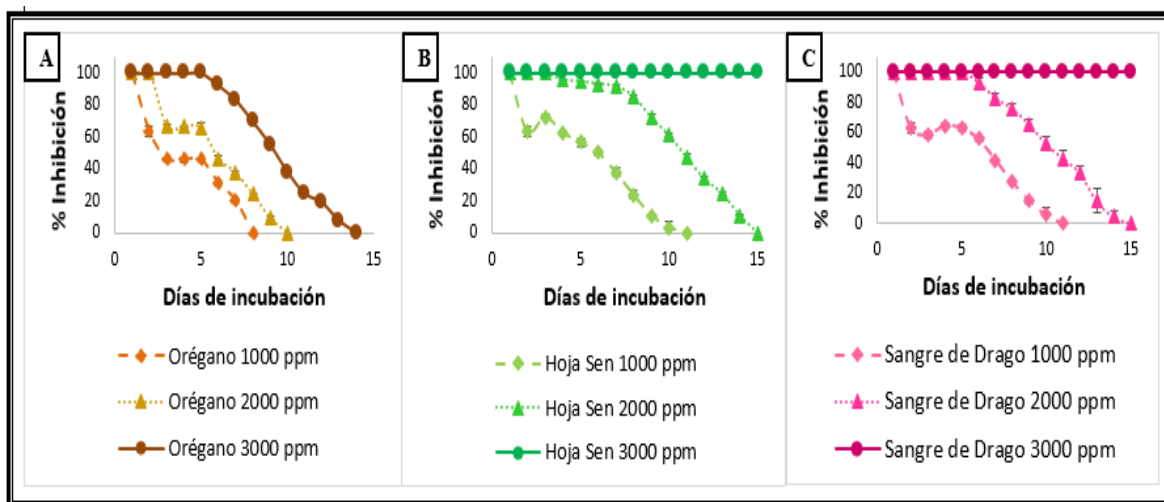


Figura 42. Porcentaje de inhibición de los extractos etanólicos de (A) Orégano (B) Hoja Sen y (C) Sangre de Drago en pruebas *in vitro* a tres distintas concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Al sexto día, la prueba control presentó una inhibición del 0%, mientras que la adición de extracto de Sangre de Drago a 1000 ppm mostró una inhibición del 55.68%, la de extracto de Hoja Sen al mismo día y a la misma concentración presentó un porcentaje de inhibición del 50.37% y la de extracto de Orégano fue 43.55% menor en comparación al extracto que presentó el mayor porcentaje de inhibición que fue el extracto de Sangre de Drago.



La adición de Sangre de Drago y Hoja Sen a 1000 ppm alcanzaron una inhibición nula al día 11 mientras que con Orégano a la misma concentración llegó al día 8.

En relación a la concentración media (2000 ppm) los extractos de Hoja Sen y Sangre de Drago al día 6, presentaron un porcentaje de inhibición del 93.18% por su parte el extracto de Orégano obtuvo un porcentaje de inhibición 50% menor en comparación a los otros extractos.

El efecto inhibitorio de los extractos etanólicos sobre el crecimiento del hongo se basa en el daño que ocasionan los compuestos bioactivos de las plantas debido a la generación excesiva de especies reactivas al oxígeno o radicales libres que pueden conducir paralelamente al daño celular del microorganismo por alteraciones en la función de aparato genético, lo que resulta en el envejecimiento y prematura muerte celular (Liu *et al.*, 2013). En un estudio realizado sobre la identificación de polifenoles en extractos etanólicos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago por Vargas *et al.* (2007) se identificaron flavonoides como la catequina, epicatequina, apigenina, quercitina y rutina en el extracto etanólico de Hoja Sen, además de una fitoalexina conocida como resveratrol, dicho compuesto es un antimicrobiano que suele acumularse en elevadas concentraciones en plantas después de infecciones fúngicas o bacterianas. Por su parte en el extracto etanólico de Orégano se identificaron flavonoides como la quercitina, luteolina y apigenina principalmente, mientras que en el extracto etanólico de Sangre de Drago se identificaron compuestos como resveratrol y resorcinol además de una concentración importante de ácidos orgánicos. Dichos compuestos mencionados anteriormente son los causantes de la actividad antifúngica de cada uno de los extractos, la cual se encuentra relacionada con la capacidad de los polifenoles vegetales para actuar como antioxidantes en los sistemas biológicos. El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos positivos en pruebas *in-vitro* sobre el control de bacterias y hongos; además en cuestión de salud se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones (Martínez-Flores *et al.*, 2002).



De acuerdo al análisis estadístico realizado el tipo de extracto, las diferentes concentraciones y días de incubación presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) para el porcentaje de inhibición a partir del día 3. Finalmente la diferencia significativa ($p \leq 0.05$) de los diversos extractos en comparación al control se obtuvo a partir del día 2.

De acuerdo a lo anterior se concluye que el empleo de extractos etanólicos a base de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago presentaron una actividad fungistática ante el hongo *Botrytis cinerea* la cual se vio incrementada conforme la concentración aumentaba. Los extractos de Hoja Sen y Sangre de Drago a 3000 ppm presentaron una inhibición del 100% durante todo el estudio, mientras que a concentraciones más bajas el extracto etanólico de Hoja Sen inhibió 6.83% más al crecimiento micelial del hongo con respecto a Sangre de Drago y 53.41% más en comparación al extracto de Orégano.

Cabe mencionar que de acuerdo a la bibliografía citada, el tipo de disolvente (agua, etanol, metanol, entre otros), las plantas a estudiar (composición química, cultivo) y el tipo de microorganismo (familia y variedad) son factores que influyen de manera importante, ya que al variar el medio de extracción los componentes bioactivos obtenidos de las plantas no son los mismos debido a la interacción que se da durante la extracción.

Los resultados obtenidos para el extracto de Orégano difieren con los presentados por Kocic-Tanackov *et al.* (2012) quienes trabajaron con extracto de Orégano para inhibir el crecimiento de distintas variedades del hongo *Aspergillus*, ya que Kocic-Tanackov *et al.*, (2012) reportaron que a una concentración de 2500 ppm se inhibió por completo el crecimiento de *A. Wentii* mientras que el crecimiento de *A. Carbonarios* y *A. Niger* se redujó en un 95.6% y 45.6% respectivamente durante 21 días de incubación de los hongos.

De igual manera los resultados también se contraponen por los presentados por Ramírez-González *et al.* (2011) quienes emplearon Orégano variando los tipos de extracción (Hidrolato por destilación, presurización, fermentación aeróbica y anaeróbica) para inhibir el crecimiento de *Moniliophthora roreri*, la concentración mínima inhibitoria empleada en dicho estudio fue del 10, 20, 30 y 40% v/v dependiendo el tipo de extracción, para el extracto de Orégano hidrolato se presentó un porcentaje inhibitorio del 100%, para el presurizado fue del 34% para el extracto de Orégano obtenido por fermentación aeróbica la inhibición fue del



54.4% y para el obtenido por fermentación anaeróbica la inhibición fue del 0%. Aunque el medio de extracción no fue el mismo que el empleado en este estudio (sonicación) el extracto de Orégano obtenido por presurización presentó porcentajes de inhibición 7.6, 27 y 63.2% mayor inhibición en comparación del extracto etanólico de Orégano a 1000, 2000 y 3000 ppm del presente estudio.

Por otro lado, los resultados del extracto etanólico de Sangre de Drago difieren con los obtenidos por Rossi *et al.* (2011) quienes emplearon aceite esencial de Sangre de Drago para inhibir el crecimiento de 3 bacterias Gram⁺ y 3 de Gram⁻ se obtuvo que a una concentración de 1000 ppm la inhibición en algunas cepas bacterianas fue del 30-33%. Los aceites difieren con los extractos debido al método y medio de extracción ya que generalmente los aceites son más ricos en compuestos fenólicos en comparación con los extractos de cualquier tipo, por lo que la concentración para presentar un efecto inhibitorio en cualquier tipo de microorganismo es menor en comparación con el necesario para generar ese mismo efecto inhibitorio empleando un extracto (González, 2010).

Gamboa-Alvarado *et al.* (2003) trabajaron con extractos metanólicos de Hoja Sen, Mejorana y Trompetilla para inhibir el crecimiento micelial de *Rhizoctonia Solani* Kühn y *Phytophthora infestans*, las dosis empleadas en dicho estudio fueron 4000, 8000, 12000, 16000 y 20000 ppm, el porcentaje de inhibición para el hongo *Rhizoctonia Solani* Kühn empleando extracto metanólico de Hoja Sen a 96 h de incubación fue de 53.91 y del 0% para el patógeno *Phytophthora infestans* a las mismas condiciones, mientras que en el presente estudio, el uso de extracto etanólico de Hoja Sen contra el hongo *Botrytis cinerea* a las 96 h de incubación la inhibición en el crecimiento del hongo fue del 100%, por lo que existió una diferencia del 46.09% mayor inhibición empleando extracto etanólico de Hoja Sen que empleando extracto metanólico de la misma planta.

En general, los extractos etanólicos presentaron una mayor inhibición de patógenos que los extractos metanólicos o incluso hexánicos, esto se debió a los principios activos con mayor actividad biológica que interactúan con el disolvente polar, debido a las estructuras polifenólicas de las plantas empleadas para realizar los extractos (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2011).



Los resultados obtenidos en este estudio sobre el efecto inhibitorio del extracto etanólico de Hoja Sen concordó con los resultados presentados por Guerrero-Rodríguez *et al.* (2007) quienes trabajaron con extractos de Hoja Sen para controlar el crecimiento micelial y producción de esporas de *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Penicillium digitatum*. Para los hongos de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Penicillium digitatum* se presentaron porcentajes de inhibición de 93.4 y 94%, respectivamente a partir de 4000 ppm de extracto etanólico de Hoja Sen en comparación con el porcentaje de inhibición obtenido en este estudio, que fue del 100% empleando una concentración de 3000 ppm.

En la Tabla 23 se presenta el seguimiento fotográfico del porcentaje de inhibición de los extractos etanólicos de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano a las distintas concentraciones estudiadas.

En el día 0 el control de agua presentó el color característico del agar PDA (amarillo claro) aunque con el transcurso de los días el hongo fue creciendo presentando una coloración café claro que se pudo observar perfectamente en el día 6 lo que refirió un hongo joven, poco a poco el hongo tomó un color más oscuro característico de *Botrytis cinerea* ya que está relacionado con la maduración del microorganismo y la esporulación del mismo, al día 12 se puede observar la presencia de esclerocios; con respecto al control de etanol no existió un cambio visual en la coloración del mismo y esto fue debido a que no creció dicho microorganismo en el mismo.

Por otra parte, las pruebas adicionales con extracto etanólico de Orégano en el día 0 presentaron un color verde oscuro, la intensidad del color incrementó con la concentración estudiada del extracto, lo cual fue obvio debido a que al aumentar la concentración incrementó el volumen del extracto utilizado. A partir del día 2 la coloración del agar fue café claro este color se mantuvo durante todo el seguimiento fotográfico, con respecto al hongo su micelio en estas pruebas presentó un tono similar al del extracto (café oscuro) el cual fue más intenso conforme la concentración aumentaba. Para ninguno de los extractos etanólicos evaluados el hongo llegó a la esporulación, por lo que el color grisáceo no se presentó al emplear los diversos extractos etanólicos. El extracto etanólico de Hoja Sen le brindó al agar una coloración verde claro en el día 0, a partir del día 2 dicha coloración se opacó hasta llegar a un verde olivo que se mantuvo durante los días restantes de incubación,



la coloración del hongo fue beige y se mantuvo sin importar la concentración de los extractos. Finalmente el extracto etanólico de Sangre de Drago exhibió una coloración beige en el agar y en el hongo, la concentración del mismo modificó la intensidad del color.

Tabla 23. Seguimiento fotográfico de la inhibición de crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* por la actividad de los extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago a las distintas concentraciones estudiadas.

Tratamiento	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12
Control agua					
Control etanol					
Orégano 1000 ppm					
Orégano 2000 ppm					
Orégano 3000 ppm					
Hoja Sen 1000 ppm					
Hoja Sen 2000 ppm					
Hoja Sen 3000 ppm					
Sangre D. 1000 ppm					
Sangre D. 2000 ppm					
Sangre D. 3000 ppm					



5.3.2. Inhibición del crecimiento micelial empleando extractos acuosos

En la Figura 43 se observa que el extracto de Orégano a 3000 ppm registró una inhibición del 100% sólo en el día 1 al igual que el extracto de Hoja Sen y Sangre de Drago a 2000 y 3000 ppm. La adición del extracto acuoso de Orégano a 1000 y 2000 ppm disminuyó su porcentaje de inhibición en un 73 y 70% respectivamente, mientras que la concentración de 3000 ppm el porcentaje de inhibición decayó en un 37.44% (100 a 62.5) al segundo día del estudio, pero con el paso de los días la efectividad del extracto para inhibir el crecimiento del hongo se perdió por completo al día 6 en las concentraciones de 1000 y 2000 ppm y al séptimo día para la concentración de 3000 ppm (Figura 43A).

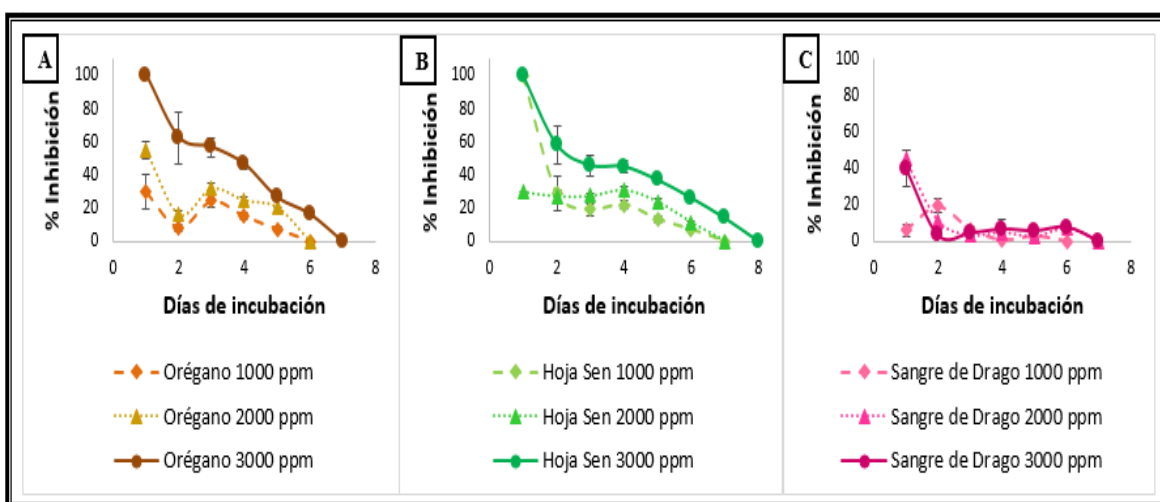


Figura 43. Porcentaje de inhibición de los extractos acuosos de (A) Orégano (B) Hoja Sen y (C) Sangre de Drago en pruebas *in vitro* a tres distintas concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

La Figura 43B muestra que a pesar de tratarse de un extracto acuoso, la utilización de la planta de Hoja Sen fue más efectiva con respecto a Orégano y Sangre de Drago, también se aprecia que al día 1 hubo un descenso del porcentaje de inhibición de dicho extracto a 1000, 2000 y 3000 ppm del 70.1, 73.56 y 41.7% respectivamente para finalmente concluir a los 7 días las concentraciones de 1000 y 2000 ppm y a los 8 días la concentración de 3000 ppm.

Los resultados obtenidos por el extracto acuoso de Sangre de Drago (Figura 43C) indicaron que en general dicho extracto presentó el menor efecto antifúngico contra el hongo *Botrytis cinerea* ya que presentó los valores más bajos de inhibición (40%), además el descenso del



porcentaje de inhibición de las tres concentraciones fue en promedio del 78-80%, ahondado a lo anterior se presentó una contaminación por levaduras a partir del día 2 en las tres concentraciones estudiadas, esto atribuido al origen de la Sangre de Drago, ya que a pesar de ser sometida a irradiación UVC y gamma en todas las pruebas *in vitro* con este extracto siguió apareciendo el mismo problema, por lo que se concluyó que fue un microorganismo altamente resistente y de presencia natural en la planta utilizada.

Estadísticamente se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) del día 1 al 6 entre los distintos extractos y concentraciones de los mismos así como entre los controles, mientras que en los días 7 y 8 sólo se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre el extracto acuoso de Hoja Sen a 3000 ppm los controles y los otros extractos (Sangre de Drago y Orégano) a 1000, 2000 y 3000 ppm.

El comportamiento de los resultados anteriores indicó que la adición de los extractos acuosos tuvieron menor inhibición que los etanólicos, resultados esperados debido al empleo de agua como disolvente ya que durante la extracción de compuestos bioactivos ésta no tiene la misma afinidad por los polifenoles complejos como la tienen los alcoholes (etanol, metanol, éter, entre otros) esto gracias a su bajo punto de ebullición, baja reactividad y por su polaridad, por lo que el agua sólo arrastra con ella los compuestos fenólicos más simple como los ácidos cinámicos, disminuyendo la actividad antifúngica de los extractos (Jasso de Rodríguez *et al.*, 2011)

De acuerdo a la comparación bibliográfica López-Benítez *et al.* (2005) quienes inhibieron el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *Iycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb mediante extractos vegetales acuosos de Ajo, Gobernadora, Hoja Sen, Clavo, Canela y Mango, los resultados obtenidos en este proyecto no coincidieron con los reportados en dicha investigación, realizando la comparación de los resultados obtenidos para el extracto de Hoja Sen los autores reportaron una inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* del 65% en las dos concentraciones (5 y 10%) a las 72 h, para el hongo *Fusarium oxysporum* fue del 53.6% al 5% y del 71.6% a la concentración del 10% en el mismo periodo de tiempo, mientras que para el hongo *Verticillium dahliae* la inhibición al 5% fue del 39% y para 10% fue del 59%.



El extracto acuoso de Hoja Sen empleado en este proyecto a la concentración de 1000 ppm exhibió un porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* a las 72 h fue hasta 70.47% menor en comparación al obtenido con la concentración del 5%, por su parte el extracto acuoso de Hoja Sen a 2000 ppm fue en promedio 57.69% menor en equiparación a los valores reportados, finalmente la concentración de 3000 ppm fue menor un 26.67% en contraste a la inhibición obtenida a la concentración del 10% para el hongo *R. solani*, 34.69% menor para el hongo *F. oxysporum* a la misma concentración y finalmente un 22.44% menor para *V. dahliae*. Para el periodo de incubación de 144 h el comportamiento fue similar al obtenido en las 72 h aunque la diferencia en relación a los porcentajes de inhibición disminuyó ya que el extracto acuoso de Hoja Sen a 3000 ppm fue menor tan sólo en un 1.18 hasta un 3.46% con respecto al extracto acuoso de Hoja Sen al 10% aplicado a los distintos hongos. Por su parte los extractos acuosos de Sangre de Drago y Orégano la inhibición fue 83.21 y 73.22% menor en contraste a los valores reportados.

Las diferencias a los resultados reportados por López-Benítez *et al.* (2005) y a los obtenidos en este proyecto se deben a los tipos de hongos estudiados, método de extracción de los compuesto bioactivos de las plantas y a la especie de la planta de Hoja Sen, ya que en este proyecto se trabajó con Hoja Sen (*Cassia angustifolia Vahl*) mientras que López-Benítez *et al.* (2005) emplearon Hoja Sen (*Fluorensia cernua* D.C.).

Chana-Thaworna *et al.* (2011) determinaron las propiedades y la actividad antimicrobiana de las películas comestibles incorporadas con extracto de madera de Kiam (*Cotyleobium lanceotatum* Craih) el extracto empleado fue de naturaleza acuosa y se aplicó para inhibir el efecto de bacterias patógenas como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, al finalizar la investigación concluyeron que el efecto del extracto acuoso de madera de Kiam fue limitado ya que con el transcurso de los días se perdía rápidamente el efecto inhibitorio del extracto hasta de un 38% de un día a otro, el crecimiento de las bacterias fue controlado eficazmente durante los primeros 3 días sin embargo al pasar el tiempo la diferencia con respecto al control fue del 2%.

El extracto de madera de Kiam resultó ser más efectivo para el control de *Listeria monocytogenes* que para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* respectivamente. El comportamiento exhibido por dicha investigación fue muy parecido al mostrado por los



extractos etanólicos empleados en este proyecto, principalmente con el extracto de Sangre de Drago el cual llegó a perder efectividad en la inhibición de *Botrytis cinerea* de hasta el 80%, sin embargo los extractos etanólicos de Hoja Sen y Orégano controlaron por más de 3 días al hongo (a una concentración de 3000 ppm) por lo que lograron una mayor efectividad que el extracto de madera de Kiam.

Las diferencias observadas en la bibliografía con respecto a las obtenidas en esta investigación se debieron a la técnica de extracción, tipo de material empleado (hojas, madera) y microorganismos estudiados, sin embargo, a pesar de los anteriores la naturaleza de los extractos acuosos se vio reflejada en la efectividad de la inhibición de los microorganismos así como en el control de los mismos, esto debido a que el agua es un disolvente incapaz de retener los compuestos bioactivos por mucho tiempo además de que estos compuestos son sencillos facilitando su pérdida más rápidamente en comparación con la utilización de otros disolventes (alcoholes principalmente).

En la Tabla 24 se puede observar el seguimiento fotográfico de las pruebas *in vitro* de los extractos acuosos, el control de agua presentó en el día 0 una coloración amarilla claro característica del agar PDA, a partir del día 2 se presentó crecimiento micelial del hongo *Botrytis cinerea* con una coloración blanquecina, para el día 8 se observó una coloración café debido a la esporulación del hongo, en contraparte el control de etanol presentó la coloración del agar PDA durante todo el periodo de incubación debido a que no existió presencia del hongo para este control.

La adición de extracto etanólico de Orégano presentó desde el día 0 una coloración café claro, a partir del día 4 para todas las concentraciones se notó una coloración amarillenta en el micelio del hongo que conforme pasaban los días se tornó más intensa. Por su parte, el extracto etanólico de Hoja Sen presentó una coloración verde oscuro en el día 0 la cual cambió a partir del día 2 a una coloración café claro, en cuanto fue evidente el crecimiento del hongo se observó una coloración beige del mismo, finalmente el extracto etanólico de Sangre de Drago adicionado al agar presentó desde el comienzo del periodo de incubación una coloración beige al igual que el micelio del hongo.



Tabla 24. Seguimiento fotográfico de la inhibición de crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* por la actividad de los extractos acuosos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago a concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm.

Tratamiento	Día 0	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
Control agua					
Control etanol					
Orégano 1000 ppm					
Orégano 2000 ppm					
Orégano 3000 ppm					
Hoja Sen 1000 ppm					
Hoja Sen 2000 ppm					
Hoja Sen 3000 ppm					
Sangre D. 1000 ppm					
Sangre D. 2000 ppm					
Sangre D. 3000 ppm					



5.4. Evaluación de las propiedades antifúngicas de envases activos

5.4.1. Inhibición del crecimiento micelial empleando envases activos

La adición de los extractos etanólicos en la matriz de CMC presentó resultados que concordaron con los obtenidos en las pruebas *in vitro* de los extractos etanólicos, ya que Sangre de Drago y Hoja Sen presentaron los porcentajes de inhibición más elevados en el día 6 el extracto de Sangre de Drago adicionado a la matriz de CMC 0.5% inhibió en un 69.3% y mientras que la formulación adicionada con extracto de Hoja Sen inhibió un 65.4% por su parte la formulación con extracto de Orégano presentó una inhibición nula en el mismo periodo de tiempo (Figura 44A).

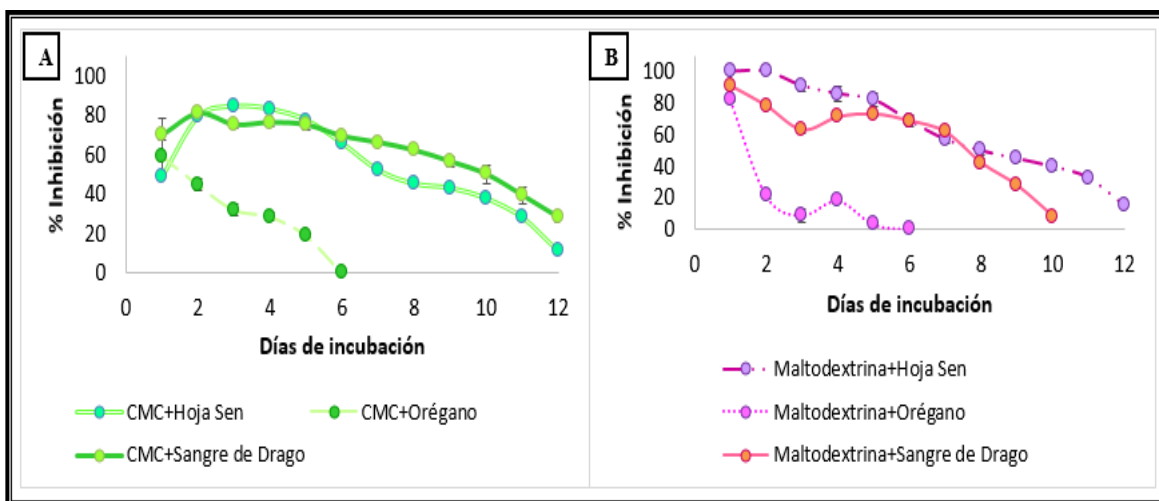


Figura 44. Porcentaje de inhibición de los recubrimientos comestibles adicionados con extractos etanólicos de Sangre de Drago, Hoja Sen y Orégano a una concentración de 3000 ppm en matriz de carboximetilcelulosa (A) y maltodextrina (B) empleando el método de adición del extracto al medio de cultivo envenenado (PDA). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

De acuerdo al análisis estadístico realizado para la matriz de CMC en el día 1 no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres extractos, en el día 2 se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) para el extracto etanólico de Orégano con los más bajos porcentajes y los otros dos extractos, del día 3 al 5 la diferencia significativa ($p \leq 0.05$) fue para los tres extractos, mientras que a partir del día 6 en adelante existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la adición del extracto etanólico de Sangre de Drago el cual presentó los mayores porcentajes de inhibición en comparación a los otros dos extractos.



Al final del tiempo de incubación (12 días) la formulación con extracto de Hoja Sen presentó una inhibición del 11.07%, mientras que la formulación adicionada con extracto de Sangre de Drago presentó un porcentaje de inhibición 60.75% (11.07 a 28.21) mayor con respecto al obtenido por la formulación adicionada con extracto etanólico de Hoja Sen.

Por su parte la Figura 44B muestra un comportamiento de los envases activos a base de maltodextrina similar al presentado por la matriz de CMC aunque con la diferencia de que la efectividad del extracto etanólico de Hoja Sen fue mayor en comparación a los otros dos extractos y es que se observó que de nuevo la formulación de maltodextrina al 7% adicionada con extracto etanólico de Orégano al día 6 presentó una inhibición nula, en el mismo periodo de tiempo mientras que la formulación con extracto de Hoja Sen y Sangre de Drago presentaron una inhibición del 68.92%, al día 10 la formulación adicionada con extracto etanólico de Sangre de Drago inhibió un 8.21% mientras que la inhibición empleando extracto etanólico de Hoja Sen fue 79.5% mayor en relación al extracto de Sangre de Drago. La formulación adicionada con extracto etanólico de Hoja Sen presentó el porcentaje de inhibición más bajo en el día 12 (15.35%).

Para la matriz de maltodextrina en el día 1 no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tres extractos, del día 2 al 5 se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) para el extracto etanólico de Hoja Sen el cual presentó las mayores inhibiciones en contraste con los extractos restantes, en el día 6 la diferencia significativa ($p \leq 0.05$) fue entre el extracto etanólico de Orégano con las menores inhibiciones y los otros dos extractos, del día 7 en adelante la diferencia significativa ($p \leq 0.05$) fue para los tres extractos.

Con respecto a la comparación con diversas investigaciones científicas no se encontró una fuente bibliográfica que haya evaluado la efectividad antifúngica de los extractos ya una vez adicionados a la matriz de un recubrimiento, sin embargo los resultados concordaron con los descritos en el apartado 5.3 por lo que los extractos etanólicos de Sangre de Drago y Hoja Sen adicionados a CMC y maltodextrina siguieron presentando las mayores inhibiciones contra el hongo de *Botrytis cinerea*.

En la Tabla 25 se presenta el seguimiento fotográfico del porcentaje de inhibición de los envases activos, en la cual se observó que los controles tanto de CMC 0.5% y maltodextrina 7% fueron transparentes en el día 0 esto debido a la adición del polisacárido, mientras que la



coloración del hongo fue de un tono blanco, mientras que la adición de los extractos etanólicos de Orégano y Hoja Sen en ambas matrices presentaron una coloración verde clara desde el día 0, mientras que el hongo presentó un color amarillo el cual se fue haciendo intenso con el transcurso de los días. Por último, la adición de extracto de Sangre de Drago presentó en el agar un color beige al igual que en la coloración micelial del hongo.

Tabla 25. Seguimiento fotográfico de la inhibición de crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* por la actividad de los recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa 0.5% y maltodextrina 7% adicionados extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago a 3000 ppm.

Tratamiento	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12
Control CMC 0.5%					
CMC 0.5% + Orégano 3000 ppm					
CMC 0.5% + Hoja Sen 3000 ppm					
CMC 0.5% + Sangre de Drago 3000 ppm					
Control Maltodextrina 7%					
Malto 7% + Orégano 3000 ppm					
Malto 7% + Hoja Sen 3000 ppm					
Malto 7% + Sangre de Drago 3000 ppm					



5.5. Pruebas *in vivo* en zarzamora fresca con aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionados con extractos naturales.

5.5.1. Parámetros de calidad

5.5.1.1. Determinación de color

El color es uno de los aspectos de calidad de mayor importancia, ya que dependiendo de éste el consumidor adquirirá o no el producto.

❖ Croma

El cromatismo siendo la saturación de color, mostró que las zarzamoras sin infectar (ZSI) que fueron tratadas con recubrimiento sin extracto (ZSI+RSE) mostraron un descenso de cromatismo del 25.2% en relación del día 0 al 12, mientras que las zarzamoras sin infectar y recubiertas con CMC 0.5% adicionada con extracto etanólico de Orégano presentaron un descenso del 27.26%, por su parte la adición de extracto etanólico de Hoja Sen a las mismas condiciones de trabajo disminuyó un 89.3% la pureza del color de las zarzamoras con la adición del extracto etanólico de Orégano (Figura 45A).

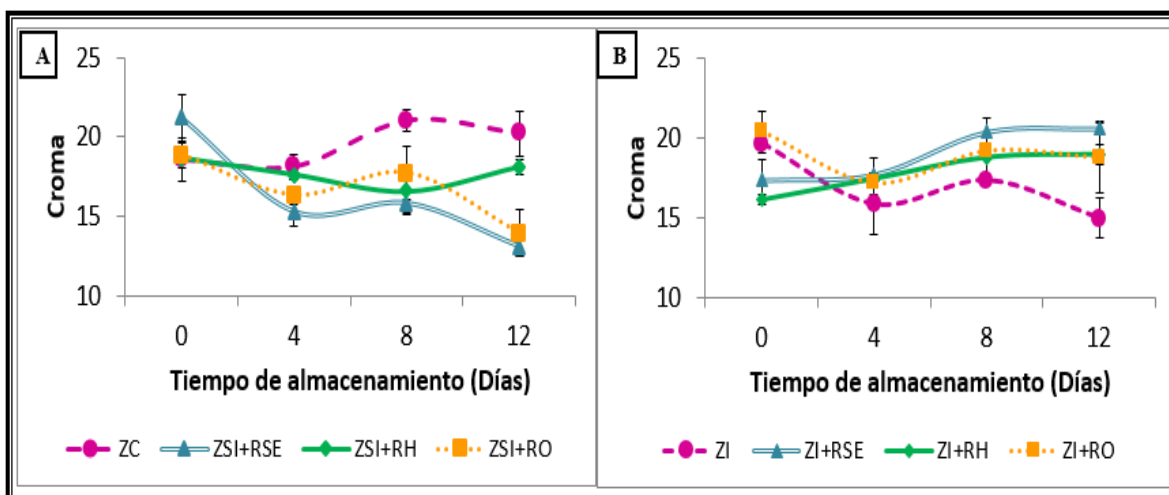


Figura 45. Cambios en cromatismo de las zarzamoras recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento en refrigeración. (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



Por otro lado, las zarzamoras infectadas con *Botrytis cinerea* y recubiertas con CMC 0.5% sin extracto presentaron el mayor croma en un 14.77%, tanto al primer y último día de almacenamiento en comparación a los otros lotes de zarzamoras infectadas con distintos tratamientos, mientras que el valor para las zarzamoras infectadas tratadas con recubrimiento de CMC 0.5% adicionada con extracto etanólico de Hoja Sen fue menor en un 10.03% y para aquellas que fueron tratadas con extracto etanólico de Orégano el cambio fue del 21.63% menor croma en comparación con el empleo de extracto anteriormente mencionado. De acuerdo al análisis estadístico se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del octavo día de almacenamiento en este parámetro entre los controles (zarzamora de campo e infectada) y los diversos tratamientos. Del día 0 al 4 sólo se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre ambos controles (Figura 45B).

Las zarzamoras de campo (ZC) presentaron un cambio en la pureza del color del 16.25% (13.08 a 15.62) mayor del día 0 al día 12 de su almacenamiento en refrigeración, a su vez las zarzamoras que fueron infectadas (ZI) pero sin ser sometidas a ningún tipo de tratamiento presentaron un cambio del 69.26% mayor con respecto al obtenido por las de campo.

Los resultados registrados para este parámetro no coincidieron por los reportados por Raybaudi-Massilia *et al.* (2008) quienes trabajaron con películas comestibles a base de polisacáridos adicionados con agentes microbianos aplicado a melón mínimamente procesado, ya que el croma del melón del primer hasta el último día de almacenamiento dependió de la concentración y tipo de agente antimicrobiano adicionado por ejemplo el extracto de Canela presentó un 64% menor croma en comparación al obtenido con extracto de Orégano ya que es el extracto más semejante en coloración, mientras que el cambio en la pureza del color con el extracto de Palmarosa fue 81.89% menor en comparación con el extracto de Hoja Sen, de igual forma el extracto de Hierbas de Limón presentó 73.2% menor croma en comparación con el extracto mencionado anteriormente.

Durante el almacenamiento se observó opacidad en la piel del fruto sobre todo en las zarzamoras de campo y aquellas que fueron infectadas además factores como la pérdida de líquido que sufrieron las zarzamoras durante el almacenamiento pudieron afectar a que ciertos tratamientos presentaran una mayor diferencia en la pureza de color de acuerdo a los días de almacenamiento. En los resultados descritos anteriormente muestran que el extracto



de Hoja Sen benefició mayormente a este parámetro en comparación al extracto de Orégano en zarzamoras sin infectar mientras que en las infectadas el extracto de Orégano fue 21.63% mejor en comparación a Hoja Sen.

❖ Tono ($^{\circ}$ Hue)

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

Las zarzamoras que no fueron infectadas pero aun así se les recubrió con algún tipo de tratamiento presentaron una menor tonalidad en comparación a las infectadas, las recubiertas con CMC 0.5% sin extracto (ZSI+RSE) presentaron una tonalidad de 29.4% (19.9 a 28.19) mayor en contraste al primer y último día de almacenamiento, mientras que las zarzamoras que se recubrieron con CMC 0.5% adicionada con extracto etanólico de Orégano presentaron un ascenso en el tono del 3.11% (24.88 a 25.68) del día 0 al 12, finalmente las que fueron recubiertas con CMC 0.5% adicionada con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron una disminución en el tono durante el transcurso de los días de almacenamiento del 8.07% (Figura 46A).

El análisis estadístico mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el día 12 de almacenamiento para este parámetro entre los distintos tratamientos. En el día 8 existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los controles. Mientras que del día 0 al 4 no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos. En el desarrollo de la experimentación se observó cambios en la tonalidad de las zarzamoras, principalmente en los controles y aquellas que fueron infectadas, dichos cambios fueron relacionados con la maduración de las zarzamoras debido a la síntesis de ciertos compuestos cromáticos (antocianinas principalmente) propiciados por procesos metabólicos como la respiración, provocando un aumento en la tonalidad de las zarzamoras (colores más oscuros) así como con la degradación de estos compuestos debido al envejecimiento natural de los frutos (senescencia) o por la presencia del hongo (pérdida de tono en las zarzamoras). Los



resultados obtenidos reflejaron que el mejor extracto para zarzamoras infectadas como sin infectar fue el de Hoja Sen ya que disminuyó considerablemente la pérdida de tono en las zarzamoras con respecto a los otros dos extractos durante su almacenamiento.

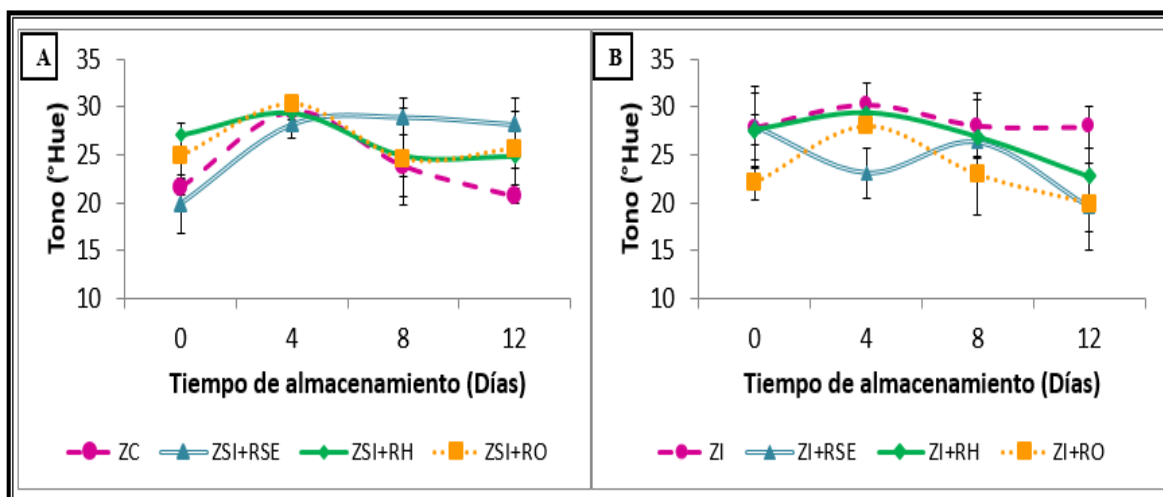


Figura 46. Cambios en el tono de las zarzamoras recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento en refrigeración. (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarcamora de campo (ZC), Zarcamora sin infectar (ZSI), Zarcamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Por otro lado las zarzamoras infectadas y recubiertas con la misma matriz pero adicionada con extracto etanólico de Orégano presentaron un cambio de tonalidad del 41.87% menor tono en comparación al obtenido por las recubiertas sin ningún extracto. Mientras que las recubiertas con CMC 0.5% y adicionadas con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron 9.79% menor tono con respecto a las recubiertas y adicionadas con extracto de Orégano (Figura 46B).

El °Hue de las zarzamoras de campo presentaron un descenso en la tonalidad del color del 4.52% del día 0 al día 12, las infectadas sin ningún tipo de tratamiento tuvieron un ascenso en la tonalidad del 0.035%. Las zarzamoras infectadas con *Botrytis cinerea* y recubiertas con CMC 0.5% sin extracto etanólico presentaron un °Hue 29.97% menor del inicio del almacenamiento con respecto al día 12.



❖ Luminosidad

La luminosidad en las frutas es un parámetro que es considerado de calidad ya que un producto luminoso es más atractivo para el consumidor debido a que es asociado con la frescura del producto. Las zarzadoras sin infectar con recubrimiento sin extracto presentaron una diferencia de luminosidad del 45.4% (10.81 a 19.8) mayor del primer al último día de almacenamiento, mientras que las recubiertas con CMC 0.5% adicionada con extracto etanólico de Orégano presentó un valor del 55.67% mayor en comparación a las zarzadoras infectadas recubiertas sin extracto y un 54.29% mayor en comparación al mismo tratamiento empleando extracto etanólico de Hoja Sen. Los resultados se muestran en la Figura 47A.

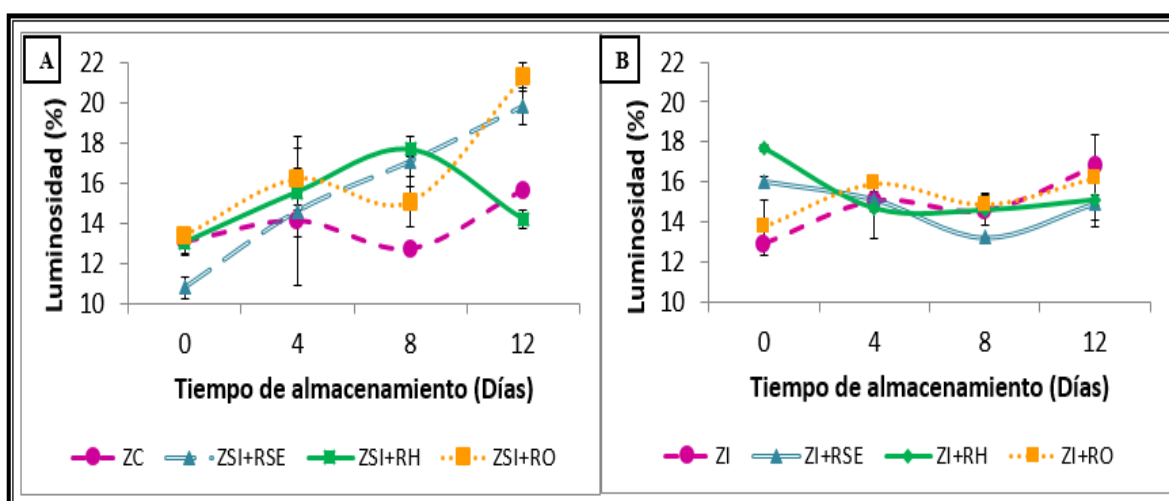


Figura 47. Cambios en la luminosidad de las zarzadoras recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento en refrigeración. (A) Zarzadoras sin infectar (B) Zarzadoras infectadas. Donde: Zarzadora de campo (ZC), Zarzadora sin infectar (ZSI), Zarzadora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las zarzadoras infectadas y recubiertas sin extracto presentaron un descenso en la luminosidad del 6.75% (15.99 a 14.91) del día 0 al 12 así mismo aquellas recubiertas con CMC 0.5% adicionada con extracto etanólico de Orégano presentaron un incremento de luminosidad del día 0 al 12 del 15.23% (13.74 a 16.21) por otro lado el recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen y aplicado a zarzadoras igualmente infectadas presentaron la menor variación en su luminosidad al día 12, con un valor del 8.09%. Para este parámetro las zarzadoras infectadas presentaron una mayor luminosidad en un 23.21%



(12.9 a 16.8) del día 0 al 12 de almacenamiento con respecto a las zarzamoras de campo que mostraron una diferencia del 29.94% menor en comparación a las infectadas (Figura 47B).

Como se apreció en los resultados anteriores existió un incremento en la luminosidad del día 0 al día 12 de almacenamiento refrigerado de todas las zarzamoras independientemente de su tratamiento, esto se atribuyó a que el tejido de la zarzamora es sumamente frágil por lo que es susceptible a daños por manejo y pérdida de líquido (Chávez-Díaz, 2011), este factor pudo provocar que al momento de realizar la medición con el colorímetro la fuente de luz que emplea el equipo para iluminar la muestra se reflectara en la superficie del líquido desprendido por la zarzamora provocando que la cantidad de luz que pasó al equipo fuera mayor con respecto a las zarzamoras empleadas en el día 0. Este análisis se vio favorecido ya que todas las zarzamoras que fueron infectadas sin importar el tratamiento presentaron una diferencia en la luminosidad del 59.36% mayor con respecto a aquellas que no fueron infectadas, esto es debido a la presencia del microorganismo ya que el hongo al llevar a cabo ciertas funciones de su metabolismo provoca cambios importantes en el fruto tales como ablandamiento del tejido, pérdida de solutos, cambios de color, entre otros (Molina *et al.*, 2004), por lo cual debido a la infección las zarzamoras con *Botrytis cinerea* liberaron más líquido que las no infectadas y por consecuencia presentaron un rango de luminosidad mayor en comparación a las que no fueron infectadas.

Estadísticamente en el día 0 no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los distintos tratamientos, en el día 4 se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) sólo entre los controles, mientras que a partir del día 8 se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos. Por lo que la aplicación del recubrimiento afectó la luminosidad de la frutilla durante el almacenamiento.

Los resultados obtenidos de luminosidad difieren de los obtenidos por Rojas-Graü *et al.* (2007) quienes trabajaron con recubrimientos a base de alginato adicionados con agentes antimicrobianos aplicados en manzana mínimamente procesada, ya que el estudio presentó luminosidades de 59.6% a los 14 días de almacenamiento empleando como agente antimicrobiano aceite de Orégano, dicho resultado es 74.44% mayor en comparación al obtenido para zarzamoras sin infectar a los 12 días de almacenamiento empleando extracto etanólico de Orégano y 64.37% mayor en comparación a las zarzamoras infectadas



empleando el mismo extracto y con la adición de extracto de Hierba de Limón presentaron que a los 14 días de almacenamiento fueron luminosidades promedio de 63.79% lo que representó el 76.31% mayores luminosidades para zarzamoras no infectadas a las 12 días de almacenamiento empleando extracto etanólico de Hoja Sen y un 77.73% para zarzamoras infectadas empleando el dicho extracto.

De igual manera los resultados no coincidieron por los presentados por Restrepo y Aristizábal (2010) quienes emplearon recubrimientos comestibles a base de mucílago de penca de sábila y cera de carnaúba sin ningún aditivo en fresas y obtuvieron luminosidades de aproximadamente 35% al día 0 de almacenamiento presentando un comportamiento descendente, en el día 10 del almacenamiento disminuyeron las luminosidades en un 7.8% con respecto al inicio. Estos resultados son 54.31% mayores en comparación a los obtenidos para zarzamora sin infectar con recubrimiento CMC 0.5% sin extracto al día 0 y un 69.11% con respecto a las zarzamoras infectadas con recubrimiento sin extracto, mientras que al último día de almacenamiento los resultados reportados por Restrepo y Aristizábal (2010) siguen siendo mayores un 42.65% para zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto y 23.84% para zarzamoras infectadas con recubrimiento sin extracto.

Básicamente se observó que el recubrimiento comestible no presentó modificaciones en los parámetros de color, se observó una disminución del color atribuyéndose al incremento de la respiración y a los procesos enzimáticos que dan como resultado una pérdida de calidad como ya se ha mencionado anteriormente. El color en la zarzamora es un atributo muy importante para la aceptación del producto por el consumidor, por lo tanto el recubrimiento no modificó el color original de los productos en tanto que la adición de los extractos etanólicos tuvo efecto sobre las propiedades del color en las zarzamoras siendo el extracto de Orégano el más acorde debido a la tonalidad oscura del extracto y el producto a ser aplicado.

5.5.1.2. Determinación de índice de decaimiento

La determinación del índice de decaimiento (I.D.) tuvo la finalidad de cuantificar los síntomas por el deterioro causado por la presencia de hongos en los frutos (Díaz-Narváez *et al.*, 2010), dicho parámetro fue evaluado visualmente de acuerdo a la escala establecida en el apartado 4.9.4. Los resultados del deterioro de las zarzamoras ocasionado por *Botrytis cinerea* dependiendo de los distintos tratamientos se muestran en la Figura 48.



Al inicio del almacenamiento las zarzamoras de campo (Figura 48A) presentaron un índice de decaimiento de 0.11, mientras que para las infectadas el índice de decaimiento fue de 0.18. Por su parte los tratamientos no infectados presentaron en promedio un índice de decaimiento de 0.15 lo que fue un 16.6% menor en comparación al obtenido por los tratamientos infectados al inicio del almacenamiento. Estadísticamente no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos infectados y los no infectados al comienzo del almacenamiento.

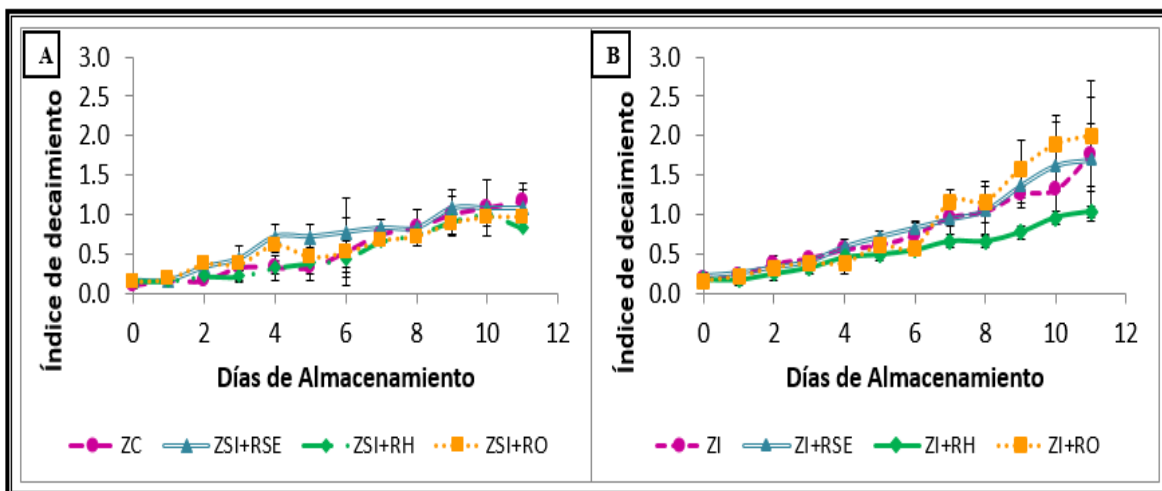


Figura 48. Índice de decaimiento de las zarzamoras cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos sin infectar (B) Tratamientos infectados. Donde: Zarcamora de campo (ZC), Zarcamora sin infectar (ZSI), Zarcamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

A la mitad del tiempo de almacenamiento (día 6) las zarzamoras control infectadas (Figura 48B) presentaron un índice de decaimiento 45% (0.33 a 0.61) mayor en comparación con las zarzamoras control no infectadas (campo) (0.18 a 1.75). Los tratamientos de zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Orégano a 3000 ppm y extracto etanólico de Hoja Sen a la misma concentración presentaron en promedio una diferencia del 24% mayor en comparación con las zarzamoras sin infectar con los mismos tratamientos. Por su parte las zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto obtuvieron un índice de decaimiento de 0.72 lo que representó un índice de decaimiento 6.49% menor en comparación a las zarzamoras infectadas sometidas al mismo tratamiento.



El análisis estadístico mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) sólo para las zarzamoras controles (infectadas y no infectadas) mientras que para los tratamientos no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en este día de almacenamiento.

A finalizar el almacenamiento (día 12) las zarzamoras control infectadas fueron 33.71% (1.16 a 1.75) más dañadas en comparación con las zarzamoras control no infectadas en el mismo días, las infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Orégano a 3000 ppm presentaron un índice de decaimiento 9.32% (1.93 a 1.75) mayor en comparación a las zarzamoras control infectadas, a su vez las zarzamoras no infectadas con recubrimiento adicionado con extracto de Orégano fueron 52% menos dañadas en comparación a las zarzamoras infectadas sometidas al mismo tratamiento. Empleando el recubrimiento con extracto etanólico de Hoja Sen a la concentración establecida se obtuvo que las infectadas a las cuales se les aplicó el tratamiento anterior presentaron un índice de decaimiento 19.41% mayor en comparación a las no infectadas con el mismo tratamiento, lo que fue el menor índice de decaimiento en comparación al obtenido por los otros tratamientos al finalizar el almacenamiento. Por último las zarzamoras infectadas y recubiertas sin la adición de extracto fueron 36.47% mayores en equiparación a las zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto. Dicho comportamiento fue similar al expuesto por las zarzamoras control infectadas con una diferencia del 7.56% mayor. En comparación con la adición de extractos en el recubrimiento, las zarzamoras infectadas con recubrimiento sin extracto presentaron daños menores en un 29.86% en comparación a las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Orégano aunque con respecto a las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen los daños fueron 46.77% mayores. Estadísticamente al día 12 se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los distintos tratamientos estudiados.

Los resultados obtenidos concuerdan con los presentados por Navarrete (2009) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de gelatina aplicados a zarzamora fresca, en este trabajo se presentaron índices de decaimientos de 1.9-2.2 en el último día de almacenamiento en frío (12) de las zarzamoras, este valor sólo fue alcanzado por las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto de Orégano mientras que para con respecto a los otros tratamientos en zarzamoras infectadas los índices de decaimiento obtenidos en el



presente trabajo fueron 22.77% menores en comparación con los reportados por Navarrete (2009), lo anterior debido también a la adición de agentes antimicrobianos ya que gracias a la acción de los agentes bioactivos de las plantas empleadas contra el metabolismo del hongo los efectos se ven reflejados en la disminución de los daños en los tejidos de las frutas lo que genera un menor índice de decaimiento (Andrade-Cuvi *et al.*, 2010). De igual manera se observó un incremento en el índice de decaimiento independientemente del tratamiento empleado con el transcurso de los días.

Por otro lado los resultados que obtuvieron Trejo-Márquez *et al.* (2007) quienes trabajaron con recubrimientos a base de gelatina aplicados en fresas no coincidieron con los que se reportaron en este trabajo ya que se reportaron índices de decaimiento de hasta 4.97 al décimo día para las fresas control lo que fue equivalente al 50% de daño en la superficie del fruto, mientras que para las zarzamoras estudiadas en este proyecto el mayor daño fue equivalente al 25% de la superficie de la zarzamora, cabe mencionar que existieron varios factores a considerar tales como la concentración de la matriz, tipo de matriz, tiempos de inmersión, tipo de fruto, adición de extractos, etc. Actualmente no existen informes cuantitativos sobre el efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles en zarzamoras con respecto al índice de decaimiento a las condiciones de trabajo en este proyecto, lo que impide hacer una comparación clara, sin embargo, los valores obtenidos en este trabajo sugieren que la aplicación de recubrimientos a base de carboximetilcelulosa adicionados con extractos etanólicos pueden hacerse sin alterar las características visuales de los productos hortofrutícolas así como incrementando la vida útil y calidad de dichos productos.

En conjunto los datos analizados anteriormente muestran que las zarzamoras con recubrimiento comestible adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen mostraron que la formulación fue contundente en evitar la aparición de pudrición gris; esto indica que el recubrimiento comestible fue efectivo en la inhibición del crecimiento de *Botrytis cinerea* así como la presencia de otros microorganismos ofreciendo una barrera protectora por efecto de la modificación de la atmósfera en estos frutos. La aplicación de recubrimientos comestibles es una de las principales tecnologías que se utiliza para el control microbiológico principalmente utilizados en este tipo de hongo. En la Tabla 26 se observa el grado de deterioro de las zarzamoras recubiertas de acuerdo al tipo de tratamiento estudiado con el



transcurso del tiempo, en algunos se hace evidente la presencia del hongo *Botrytis cinerea* debido a la aparición de micelio blanquecino en las zarzamoras.

Tabla 26. Seguimiento fotográfico de las zarzamoras recubiertas a base de carboximetilcelulosa 0.5% adicionadas con extractos etanólicos de Orégano y Hoja Sen a 3000 ppm para el parámetro de índice de decaimiento.

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 8	Día 12
Zarzamoras infectadas				
Zarzamoras de campo				
Zarzamoras infectadas + Recubrimiento sin extracto				
Zarzamoras sin infectar + Recubrimiento sin extracto				
Zarzamoras infectadas + Recubrimiento Orégano				
Zarzamoras sin infectar + Recubrimiento Orégano				
Zarzamoras infectadas + Recubrimiento Hoja Sen				
Zarzamoras sin infectar + Recubrimiento Hoja Sen				



5.5.2. Parámetros fisicoquímicos

5.5.2.1. Determinación de sólidos solubles

Los sólidos solubles están formados fundamentalmente por los azúcares reductores y no reductores y por ácidos orgánicos. La concentración de sólidos solubles de los frutos se expresa en °Brix. Este índice está estrechamente ligado al estado de madurez de un fruto, pues valores elevados de °Brix, indicarán un alto contenido de azúcares provenientes de una degradación de carbohidratos complejos. El contenido de sólidos solubles aumenta hasta alcanzar un máximo y después se mantiene o disminuye cuando avanza la maduración (Navarrete, 2009).

Al inicio del almacenamiento las zarzamoras de campo presentaron valores de 10.2 °Brix, mientras que para las zarzamoras control infectadas el valor fue de 9.3 °Brix, mientras que los tratamientos las zarzamoras no infectadas con recubrimientos sin extracto presentaron un valor promedio de 8.4 °Brix, mientras que los dos tratamientos restantes obtuvieron un promedio de 9.7 °Brix (Figura 49A).

Por su parte el tratamiento de zarzamoras infectadas con recubrimiento sin extracto obtuvieron sólidos solubles más bajos en un 9.24% (7.66 a 8.44) con respecto a las zarzamoras no infectadas y sometidas al mismo tratamiento. De igual manera las zarzamoras no infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Orégano y Hoja Sen respectivamente presentaron en promedio 21.59% menos sólidos solubles en comparación de las no infectadas (Figura 49B).

Para el último día de almacenamiento las zarzamoras de campo presentaron 35.11% más sólidos solubles en comparación con las zarzamoras control infectadas, el comportamiento de las zarzamoras sin infectar tratadas con recubrimiento adicionado con extracto de Orégano y por su parte el adicionado con extracto de Hoja Sen se mantuvo ya que presentaron un valor 8.31% mayor de °Brix en comparación de las zarzamoras infectadas sometidas a los mismo tratamientos. El tratamiento restante referente al empleo del recubrimiento sin extracto presentó una diferencia de 27.7% mayor sólidos solubles en las zarzamoras sin infectar en comparación a las infectadas con *Botrytis cinerea*.

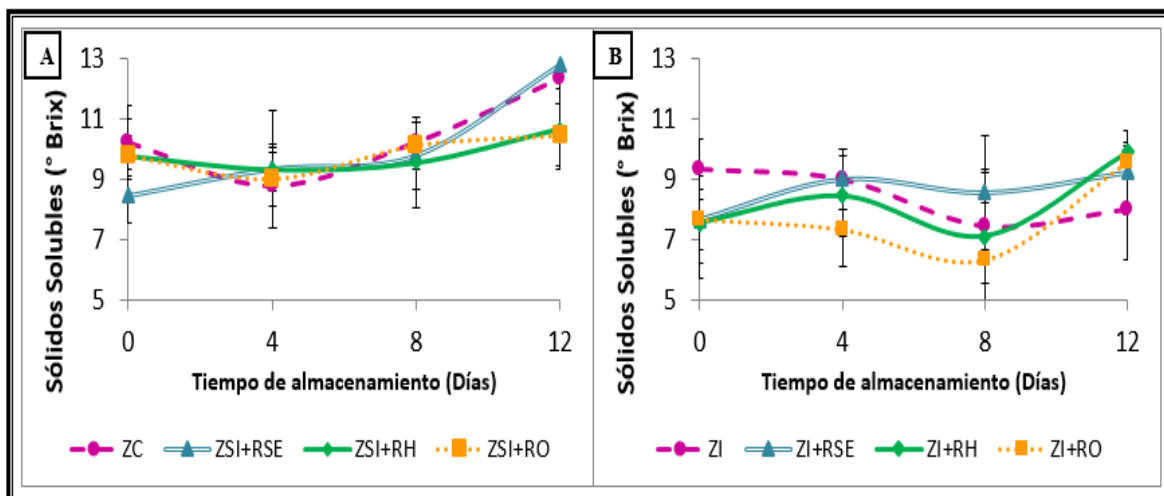


Figura 49. Sólidos solubles de las zarzamoras cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos sin infectar (B) Tratamientos infectados. Donde Zarcamora de campo (ZC), Zarcamora sin infectar (ZSI), Zarcamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Estadísticamente no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el contenido de sólidos solubles de las zarzamoras de acuerdo a los tratamientos estudiados en ninguno de los días de muestreo.

Debido a que no existió una diferencia significativa de acuerdo al empleo de cada uno de los diferentes tratamientos se confirmó que la aplicación del recubrimiento comestible adicionado con los distintos extractos en zarzamoras infectadas y sin infectar no modificó la concentración de sólidos solubles durante el almacenamiento, en el cual se observó un ligero aumento en los sólidos solubles tanto en las zarzamoras con tratamiento como en las zarzamoras de campo, dicho incremento se espera durante la maduración esto debido a que la protopectina en las paredes celulares se hidroliza a pectinas solubles (Navarrete, 2009), por su parte en las zarzamoras infectadas se apreció un descenso en la concentración de sólidos solubles, explicación que posiblemente se encuentra en el proceso de senescencia normal de los frutos, en la que los azúcares son utilizados como sustratos en las reacciones metabólicas, principalmente en la de respiración. Además de la presencia del microorganismo que acelera la disminución de azúcares debido a que son empleados en sus actividades metabólicas.



Al comparar los resultados obtenidos con los reportados por García-Méndez (2008) quien trabajó con una tecnología de IV gama en frutos de mora se encontraron diferencias importantes con respecto a los valores de sólidos solubles reportados en dicho trabajo ya que los °Brix fueron 38.35% más bajos en comparación a los obtenidos en este proyecto. Las diferencias se debieron al tipo de recubrimiento empleado ya que se utilizó la cera comercial “Semperfresh” al 2%, la variedad de zarzamora y condiciones de almacenamiento principalmente.

Duan *et al.* (2011) quienes estudiaron el efecto de un recubrimiento comestible a base de alginato, quitosano y el comercial “Semperfresh” aplicado en moras azules variedad Duke y Elliot bajo almacenamiento a condiciones comerciales reportaron valores de sólidos solubles de 13.7 y 14.2 de acuerdo a las variedades estudiadas a la semana de almacenamiento lo que refleja una diferencia con respecto a las zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto al día 8 del 28.68% menos °Brix con respecto a las moras azules de variedad Duke y del 31.19% en comparación a la variedad Elliot.

Los resultados obtenidos para este parámetro coincidieron con los reportados por Wu *et al.* (2010) quienes evaluaron el efecto del almacenamiento refrigerado y tecnologías de proceso en los compuestos bioactivos y capacidad antioxidantes de zarzamoras de variedad Marion y Evergreen, la comparación se llevó a cabo con las zarzamoras de campo las cuales reportaron °Brix al día 8 de almacenamiento refrigerado de 10.22 mientras que las zarzamoras cv Marion al día 9 reportaron valores 8.5% mayores con respecto a las zarzamoras cv Cherokee, finalmente los sólidos solubles de las zarzamoras de variedad Evergreen en el día 7 fueron 32.89% mayores en comparación a las zarzamoras empleadas en este proyecto al día 8.

Otro trabajo como el de Acosta-Montoya *et al.* (2010) quienes evaluaron la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de zarzamoras del altiplano tropical en tres estados de madurez comestibles reportaron para el mayor grado de madurez un valor de 7.7 °Brix en comparación con las zarzamoras de campo al día 0 éstas presentaron 24.65% más sólidos solubles mientras que al día 12 la diferencia fue del 37.55%. Por último Navarrete (2009) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora almacenada en refrigeración lista para consumir presentó incrementos en la



cantidad de sólidos solubles de acuerdo al tiempo de almacenamiento dicho comportamiento coincidió con las zarzamoras sin infectar e infectadas sometidas a los distintos tratamientos, con respecto a los valores de °Brix presentó en promedio 9.55 °Brix para las zarzamoras de campo, mientras que para los tratamientos el valor promedio fue de 8.73 °Brix para el día 11 de almacenamiento, mientras que en este estudio los valores de sólidos solubles para zarzamoras de campo al día 12 de almacenamiento fueron 22.54% mayores con respecto a los reportados por Navarrete (2009) para zarzamoras control y los tratamientos presentaron 22.67% más sólidos solubles en comparación con los tratamientos estudiados por Navarrete (2009) lo que claramente muestra un rezago en la cantidad de sólidos solubles en zarzamoras de un estudio en comparación al otro.

5.5.2.2. Determinación de pH

La determinación de pH sirve para indicar la concentración de iones hidronio $[H_3O^+]$ presentes en determinados alimentos (González, 2010). Los cambios de pH de las zarzamoras en relación a los días de almacenamiento se observan en la Figura 50.

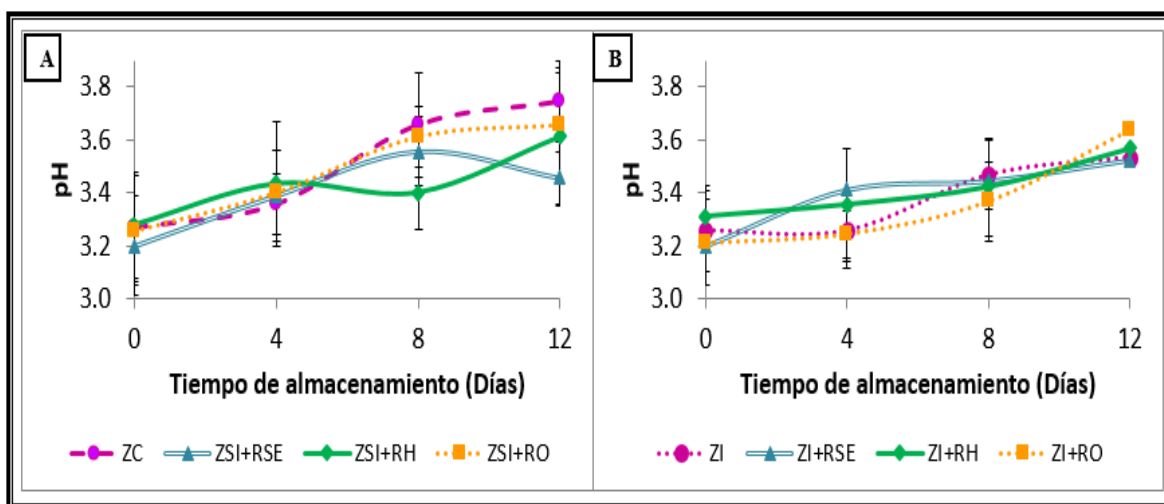


Figura 50. Cambios de pH de las zarzamoras cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos sin infectar (B) Tratamientos infectados. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las zarzamoras sin infectar con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen, así como las infectadas sometidas al mismo tratamiento presentaron incrementos en el pH del 9.23 y



7.16% respectivamente, los incrementos apreciados en este tratamiento fueron muy similares para las zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto y las infectadas con el mismo tratamiento ya que el aumento en este parámetro fue del 7.39 y 9.14% (Figura 50A).

El mayor incremento de pH se presentó con el tratamiento de recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Orégano tanto para zarzamoras infectadas ya que presentaron un aumento en el pH del día 0 al 12 de 11.62 % (Figura 50B). Estadísticamente no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el pH de las zarzamoras de acuerdo a los distintos tratamientos aplicados en ninguno de los días de muestreo.

Al inicio del almacenamiento las zarzamoras de campo y las zarzamoras sin infectar recubiertas con los distintos tratamientos presentaron un pH promedio de 3.23 mientras que las zarzamoras control infectadas y las zarzamoras infectadas tratadas con recubrimiento sin extracto y por otro lado con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Orégano presentaron un pH promedio de 3.26, mientras que el tratamiento de zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentó un pH 2.20% mayor en comparación con el pH promedio de las infectadas.

Al final del almacenamiento se observó un incremento en el pH de todas las zarzamoras sin importar el tratamiento, las zarzamoras de campo presentaron un incremento en el pH del 18.21% (3.35 a 3.65) al día 8, mientras que en las zarzamoras control infectadas el pH incrementó un 7.85% (3.25 a 3.46) en el mismo periodo de tiempo.

Los resultados obtenidos para este parámetro coincidieron con los reportados por Wu *et al.* (2010) quienes evaluaron el efecto del almacenamiento refrigerado y tecnologías de proceso en los compuestos bioactivos y capacidad antioxidantes de zarzamoras de variedad Marion y Evergreen, la comparación se llevó a cabo con los distintos tratamientos aplicados a las zarzamoras las cuales reportaron pH al inicio del almacenamiento refrigerado de 3.2 para la variedad Marion y de 4.2 para la variedad Evergreen dichos valores se encuentran en el rango de valores obtenido en este proyecto, por otro lado las zarzamoras cv Marion al día 9 reportaron valores 1.03% mayores comparando con las zarzamoras cv Cherokee mientras que las zarzamoras de variedad Evergreen en el día 7 el pH fue 4.09% mayores en comparación a las zarzamoras empleadas en este proyecto al día 8.



Chávez-Díaz (2011) quien evaluó el biocontrol de *Rhizopus stolonifer* en zarzamora empleando microbiota nativa, asociada a la planta y González (2010) quien trabajó con aceite esencial de canela para la conservación de mora, uvilla y frutilla reportaron rangos de pH de 2.55-4.28 y 2.88-3.20 respectivamente, mientras que los valores obtenidos en este estudio se encuentran dentro de dichos valores a pesar de la utilización de los distintos tratamientos, las diferencias entre los datos bibliográficos y los obtenidos experimentalmente en este proyecto son de menos del 2%.

A su vez los datos aquí reportados no coincidieron con los obtenidos por de Acosta-Montoya *et al.* (2010) quienes evaluaron la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de zarzamorras del altiplano tropical en tres estados de madurez comestibles, los valores de pH presentados para el mayor grado de madurez fue de 2.51 en comparación a las zarzamorras de campo al día 0 éstas presentaron un pH 23.16% mayor con respecto a las zarzamorras con mayor grado de madurez según Acosta-Montoya *et al.* (2010) y un 24.19% para las zarzamorras con tratamientos en el mismo día, mientras que al día 12 la diferencia en el pH fue en promedio del 23.42% mayor para las zarzamorras recubiertas con los distintos tratamientos en relación a los resultados obtenidos por Acosta-Montoya *et al.* (2010).

5.5.2.3. Determinación de acidez

Los vegetales contienen pequeñas cantidades de ácidos orgánicos que actúan como intermediarios que pueden acumularse en las vacuolas. La acumulación de ácidos orgánicos imparte sabor ácido o agrio. Los ácidos más ampliamente distribuidos y más abundantes son el cítrico y el málico (Navarrete, 2009).

La aplicación de los distintos tratamientos a la zarzamora no significó grandes cambios en el comportamiento del % de acidez titulable en los frutos durante la maduración. Los resultados son presentados en la Figura 51.

En la Figura 51A se observa que al día 0 las zarzamorras de campo presentaron una acidez promedio de 0.578 mientras que las zarzamorras sin infectar y tratadas con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen presentaron una acidez 5.27% (0.54 a 0.578) menor en comparación a las zarzamorras control, las no infectadas y con recubrimiento adicionado con extracto de Orégano presentaron una acidez 8.39% (0.578 a 0.631) más elevada con respecto



al control y las zarzamosas con recubrimiento sin extracto fueron las más ácidas en el día 0 con 0.7% de ácido cítrico.

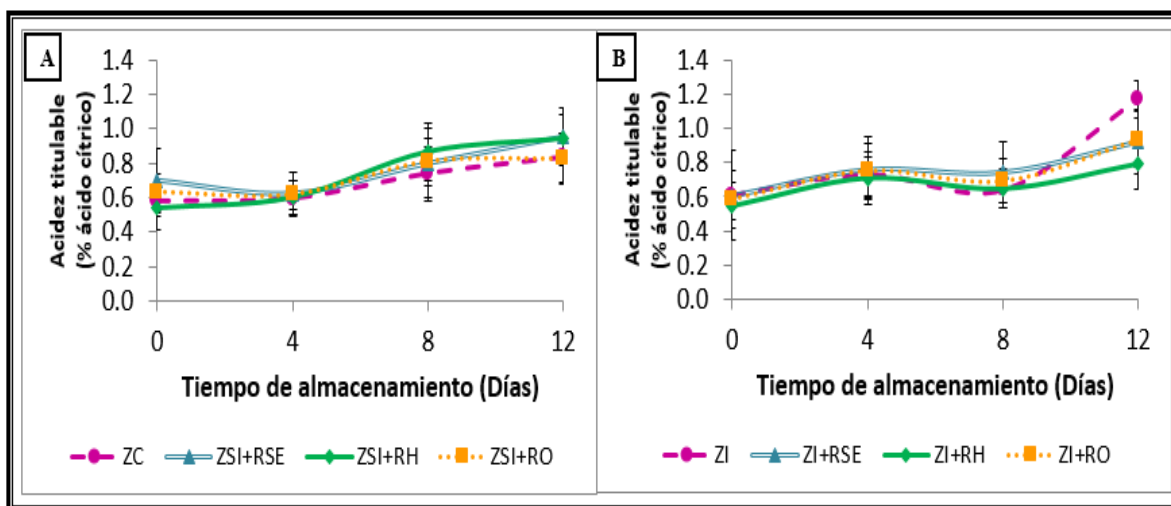


Figura 51. Cambios en la acidez titulable de las zarzamosas cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% adicionadas con extractos etanólicos durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos sin infectar (B) Tratamientos infectados. Donde: Zorzamora de campo (ZC), Zorzamora sin infectar (ZSI), Zorzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH), Recubrimiento con extracto de Orégano (RO). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Al día 4 existió un descenso en la acidez de las zarzamosas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Orégano y sin extracto el cual fue del 2.93 y 11% respectivamente, mientras que en las de campo se presentó un incremento en la acidez del 3.38% (0.57 a 0.59) y aquellas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen la acidez incrementó 10% (0.54 a 0.6) en contraste con el inicio del almacenamiento. En el día 8 se presentó un incremento de la acidez sin importar el tratamiento el cual fue progresivo hasta llegar al día 12. Generalmente los ácidos disminuyen durante la maduración, ya que son sustratos respiratorios o son convertidos en azúcares, de tal forma que éstos pueden ser considerados una fuente de energía y se esperaría que disminuyeran durante la actividad metabólica que se desarrolla durante la maduración. Además Ávila-Rodríguez *et al.* (2007) afirman que los precursores inmediatos de los ácidos orgánicos no son solamente otros ácidos orgánicos, pudiendo jugar un aumento de la acidez durante el almacenamiento. Por otro lado al ser la zarzamora un fruto no climatérico implica que al cosecharse deberá haber alcanzado la madurez fisiológica y comercial por lo que el empleo de ácidos orgánicos en el



metabolismo de la zarzamora es mínima además de que su tasa respiratoria es baja. Esto aunado a la aplicación del recubrimiento que posiblemente pudo hacer aún más lenta la frecuencia respiratoria de la frutilla por lo que retrasó la utilización de los ácidos orgánicos en las reacciones enzimáticas provocando su acumulación en el fruto lo que explica el incremento en la acidez en algunos tratamientos durante el almacenamiento de las zarzamorras.

La Figura 51B muestra los tratamientos que fueron infectados, como se observa en el gráfico al comienzo del almacenamiento los tratamientos presentaron una acidez promedio de 0.587 al día 4 todos los tratamientos presentaron un aumento del 20.46% mientras que al día 8 las zarzamorras infectadas con recubrimiento sin extracto presentaron una disminución de la acidez del 2.67% (0.76 a 0.74), las zarzamorras recubiertas con matriz de CMC adicionada con extracto etanólico de Orégano y Hoja Sen disminuyeron su acidez en un 8.10 y 8.62% respectivamente, las zarzamorras control infectadas también presentaron una disminución de este parámetro en el mismo día de almacenamiento con una diferencia del 12.46% con respecto al día 4. Para el día 12 la acidez se vio incrementada en todos los tratamientos, el mayor incremento lo presentaron las zarzamorras control infectadas con un 44.91% mientras que para los otros tratamientos el incremento promedio fue de 21.93%. En las zarzamorras que fueron inoculadas con *Botrytis cinerea* se observó un incremento en la acidez con respecto a aquellas que no fueron infectadas del 6.72% esto debido a la presencia del microorganismo en la frutilla lo que pudo haber afectado la concentración de ácido en las zarzamorras.

Estadísticamente no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la acidez de las zarzamorras infectadas como sin infectar con los distintos tratamientos en el día 0 y 12, aunque en los días 4 y 8 se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en relación a la infección de las zarzamorras y la aplicación de los tratamientos.

Los resultados obtenidos para la acidez de la zarzamora concuerdan con los presentados por García-Méndez (2008) quien evaluó un tratamiento de postcosecha de IV gama aplicado en frutos de moras los frutos de moras recubiertos al cabo de un almacenamiento de 6 días de refrigeración presentaron porcentajes de ácido cítrico de 0.64-0.93, para tratamientos en zarzamorras infectada la acidez promedio al día 4 fue de 0.73% ácido cítrico mientras que al



día 8 fue de 0.68% ácido cítrico. Para las zarzamoras sin infectar la acidez promedio al día 4 fue de 0.60% ácido cítrico mientras que al día 8 fue de 0.80% ácido cítrico. Con respecto al rango de acidez reportado por García-Méndez (2008) los valores obtenidos en este trabajo se encuentran dentro de lo encontrado por dicho autor.

Por otra parte Du *et al.* (2010) quienes evaluaron perfiles de sabor de zarzamoras variedad Marion y Evergreen mediante métodos instrumentales y análisis sensorial, reportaron porcentajes de ácido cítrico de 1.8 y 0.9 respectivamente lo que marca una notable diferencia entre la composición química de las variedades de zarzamora, considerando además, otros factores como zonas de producción, cultivo, empleo de fertilizantes, temporada, entre otros. Con respecto a la zarzamora cv Cherokee que fue la variedad empleada para el desarrollo de este proyecto, las diferencias porcentuales con respecto a la acidez de las variedades empleadas por Du *et al.* (2010) fue del 63.38% mayor acidez para la variedad Marion con respecto a las zarzamoras infectadas empleando los distintos tratamientos y un 66% para las zarzamoras no infectadas, con respecto a la variedad Evergreen dicha variedad presentó una acidez 34.77% mayor con respecto a las zarzamoras infectadas y un 32% para las zarzamoras sin infectar.

Finalmente los resultados aquí reportados no coinciden con los obtenidos por de Acosta-Montoya *et al.* (2010) quienes evaluaron la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de zarzamoras del altiplano tropical en tres estados de madurez comestibles reportaron la acidez de las zarzamoras en mg equivalente de ácido málico/ g fruto con valores de entre 24-29.5, mientras que Rodríguez-García *et al.* (2010) quienes evaluaron las propiedades fisicoquímicas y funcionales de jugo obtenido mediante tratamiento enzimático en zarzamora comercial del estado de Michoacán reportaron valores de 0.49-0.57 g ácido málico/Kg muestra.

5.5.3. Parámetro fisiológico

5.5.3.1. Determinación de respiración

La velocidad a la que respira un fruto constituye un índice de actividad metabólica de sus tejidos y es una guía útil para calcular cuanto puede durar su vida comercial. La tasa de respiración de los frutos cosechados se puede medir, mediante la determinación de la



velocidad de emisión de CO₂ o de consumo de O₂ (Vargas *et al.*, 2007). De acuerdo a la Figura 52 no todas las zarzamoras sometidas a los distintos tratamientos estudiados respiraron, de los 8 tratamientos sólo respiraron 3 entre ellos las zarzamoras de campo, que al día 1 presentaron una respiración de 38.68 mgCO₂/Kgh por debajo de ellas las no infectadas y con recubrimiento sin extracto presentaron una respiración 14.19% menor mientras que la respiración más baja la presentaron las zarzamoras infectadas con recubrimiento sin extracto con 25.17 mgCO₂/Kgh.

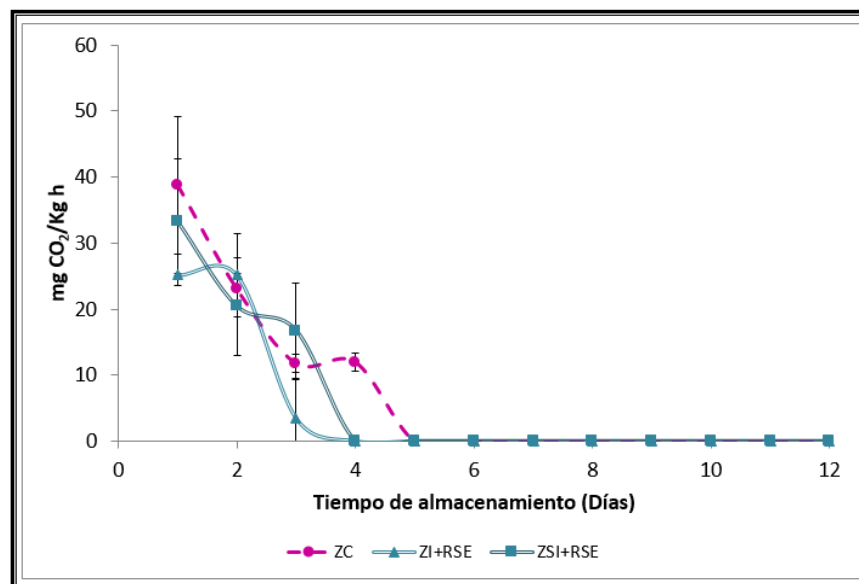


Figura 52. Respiración de zarzamora cv Cherokee recubiertas con CMC 0.5% sin extractos etanólicos durante almacenamiento refrigerado. Donde: Donde: ZC, ZI, ZSI, RSE. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las zarzamoras con recubrimiento tanto infectadas como sin infectar dejaron de respirar al día 4, de cierta manera fue un comportamiento lógico, ya que el recubrimiento es una fina capa sobre la fruta siendo ésta una barrera que permite controlar la respiración y senescencia de forma similar a las atmósferas modificadas, ejerciendo así una barrera a los gases y al vapor de agua (Saavedra y Algecira, 2010), considerando que la zarzamora presenta una baja tasa de respiración más la incorporación del recubrimiento fue lo que ocasionó las menores concentraciones de CO₂ en comparación a las zarzamoras de campo y que dejaran de respirar con mayor rapidez.



Por su parte las zarzamoras de campo alcanzaron su más baja concentración de CO_2 al día cuatro con $11.94 \text{ mgCO}_2/\text{Kgh}$ y dejaron de respirar por completo al día 5 siguiendo así hasta el día 12.

El análisis estadístico mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) del día 1 al día 4, en relación a las zarzamoras que fueron recubiertas no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con respecto a la infección de las zarzamoras, las de campo presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) del día 1 al día 5, no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en comparación a las zarzamoras sin infectar recubiertas aunque sí ($p \geq 0.05$) en comparación a las infectadas. Para todos los tratamientos a partir del día 6 hasta el 12 no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$).

Los datos obtenidos concuerdan con los publicados por la Secretaría de Desarrollo Rural en 2008 ya que reportaron tasas de respiración para zarzamoras de $11-31 \text{ mgCO}_2/\text{Kgh}$.

Los valores obtenidos concuerdan con los reportados por Navarrete (2009) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora almacenada en refrigeración lista para consumir ya que las tasas de respiración reportadas se encuentran en rangos de $22.45-31.77 \text{ mgCO}_2/\text{Kgh}$. Aunque en contraste con el mismo autor la respiración que presentaron las zarzamoras fue continúa durante 11 días de almacenamiento respetando la tendencia característica de los frutos no climatéricos mientras que en este proyecto la respiración de las zarzamoras fue durante menos de una semana.



5.6. Pruebas *in vivo* en zarzamora fresca con aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionados con extractos naturales.

5.6.1. Parámetros de calidad

5.6.1.1. Determinación de color

❖ Croma

Para los frutos que no fueron infectados aunque recubiertos considerando la adición de extracto etanólico de Hoja Sen el cambio en croma fue del 11.17% (13.28 a 14.95) mayor lo que en comparación con las zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto el descenso en croma fue 72.87% (3.03 a 11.17) mayor (Figura 53A).

De acuerdo al análisis estadístico el croma tuvo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a los 12 días de estudio ocasionado por los distintos tratamientos, mientras que del día 4 al 8 no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$).

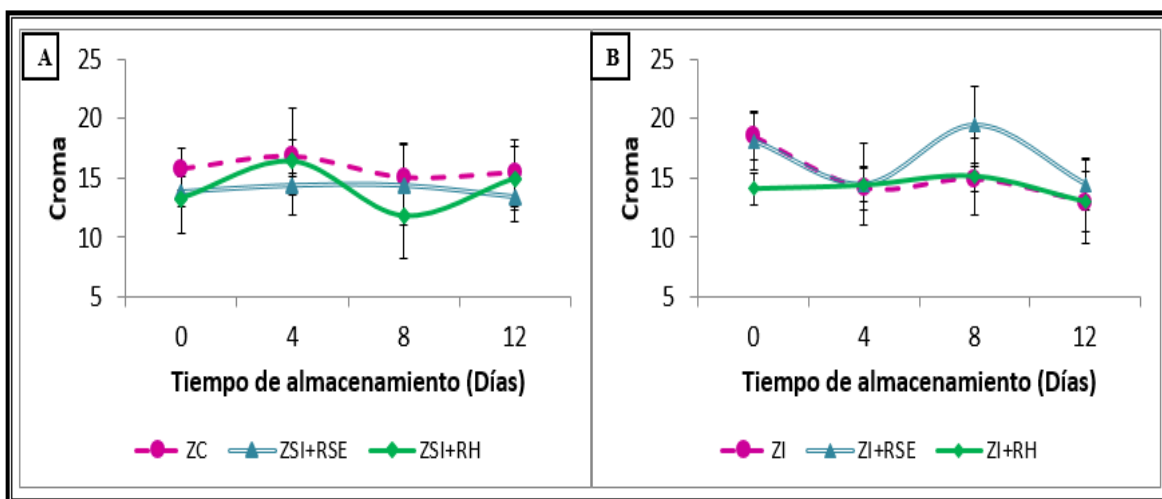


Figura 53. Cambios de croma en zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

La pérdida de croma fue más evidente para los frutos que fueron infectados con *Botrytis cinerea* dicho comportamiento se vinculó con la presencia del hongo en las zarzamoras ya que para llevar a cabo sus funciones metabólicas el microorganismo comienza a consumir distintos componentes de la zarzamora entre los más importantes: agua, proteínas y



carbohidratos, por lo que al ser los antocianos glucósidos de antocianidinas ocurren diversas modificaciones en su estructura lo que provoca el debilitamiento de dichos compuestos e incluso la pérdida de los mismos, lo que se vio reflejado en los resultados obtenidos además como se observa en la Figura 53B la adición de extracto etanólico de Hoja Sen en la matriz de CMC 0.5% controló de manera importante la opacidad en las zarzamoras con respecto a los otros tratamientos a pesar de la presencia del hongo en los frutos. Por otro lado, las zarzamoras que no se infectaron presentaron cambios en el croma menores al 12% independientemente del tratamiento, las variaciones observadas en la Figura 53A se relacionó con el proceso natural de senescencia ya que uno de los parámetros físicos relacionados con dicho proceso es la pérdida y opacidad del color de los frutos debido a la degradación y consumo de antocianinas.

Las zarzamoras de campo (ZC) presentaron un descenso en croma del 1.97% (15.73 a 15.42) del día 0 al día 12 al igual que las zarzamoras control infectadas (ZI) que presentaron un cambio en la pureza del color del 16.83% (18.5 a 15.42). Las zarzamoras que fueron infectadas y tratadas con recubrimiento sin extracto (ZI+RSE) presentaron un descenso del 20.25% (18.12 a 14.45) del inicio al final del almacenamiento. Para las zarzamoras infectadas y recubiertas con CMC 0.5% adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen (ZI+RH) el descenso en croma fue del 7.6%.

Los resultados obtenidos no coincidieron con los reportados por Raybaudi-Massilia *et al.* (2008) quienes trabajaron con películas comestibles de alginato adicionados con agentes microbianos (extracto de palmarosa y hierbas de limón) aplicado a melón mínimamente procesado, ya que los extractos antes mencionados generaron 57.9 y 46.5% menor croma que el obtenido con la adición de extracto de Hoja Sen.

❖ Tono ($^{\circ}$ Hue)

Del día 0 al 12 existió un aumento del 13.1% en la tonalidad de las zarzamoras recubiertas y una disminución del 6.12% (27.43 a 25.75) en el $^{\circ}$ Hue de las zarzamoras de campo, mientras que aquellas que no fueron infectadas pero recubiertas sin extracto (ZSI+RSE) presentaron un aumento en su tonalidad del 21.29% (23.58 a 29.96) en comparación con aquellas que fueron recubiertas con matriz de CMC adicionada con extracto etanólico de Hoja Sen que tuvieron 80.13% mayor tono que las antes mencionadas (Figura 54A).

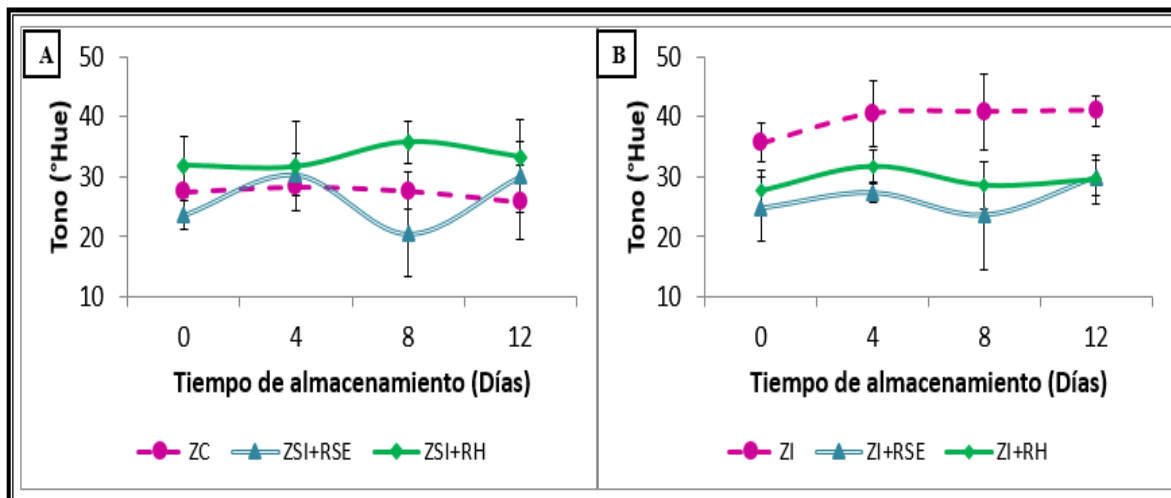


Figura 54. Cambios de tono en zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Por su parte las zarzamoras que fueron infectadas y tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron un ascenso en la tonalidad del 6.56% (27.59 a 29.53), por lo que para las zarzamoras infectadas y recubiertas con matriz de CMC 0.5% sin extracto (ZI+RSE) el cambio en hue fue 64.17% mayor en comparación a las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen (Figura 54B).

Las zarzamoras infectadas presentaron el valor de $^{\circ}$ Hue más elevado comparado con las demás zarzamoras, el $^{\circ}$ Hue de las zarzamoras de campo fue aproximadamente la mitad del valor en comparación con las zarzamoras infectadas (ZI).

La adición del extracto de Hoja Sen promovió que la tonalidad de las zarzamoras tanto infectadas como sin infectar se conservara más con el transcurso de los días de almacenamiento ya que los cambios fueron menores en comparación al recubrimiento sin extracto, lo anterior fue debido a que la interacción de los componentes de esta formulación como lo fueron el polisacárido estudiado, concentración y tipo de extracto promovieron una conservación más prolongada de las zarzamora, lo anterior pudo observarse en el parámetro de índice de decaimiento descrito en el apartado 5.5 ya que las zarzamoras con este tratamiento presentaron una mayor calidad en relación a los otros tratamientos y durante más



tiempo, por lo que al mantener la calidad de los frutos los parámetros físicos entre ellos el color no son afectados significativamente.

Estadísticamente el tono presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) del día 0 al día 4 independientemente de los tratamientos empleados, no así en los días 8 al 12 no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) por los distintos tratamientos.

Los resultados obtenidos para este parámetro concuerdan con los reportados por Rojas-Graü *et al.* (2007) quienes trabajaron con recubrimientos comestibles a base de polisacáridos para mantener la calidad de manzanas “Fuji” frescas cortadas donde la manzana se vio afectada por la aplicación del recubrimiento, al igual que las zarzamoras recubiertas con CMC adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen, el efecto del recubrimiento para ambos frutos fue el mismo, ya que mantuvo los atributos físicos (principalmente el color) provocando que la calidad del producto fuera mayor en comparación con otros tratamientos evaluados.

❖ *Luminosidad*

Las zarzamoras control, ZSI+RSE y ZSI+RH presentaron 1.2, 1 y 1.4% menor luminosidad del inicio al final del estudio respectivamente lo que se debió a la liberación de líquido de las zarzamoras, ya que fue un fenómeno que influyó en la determinación de este parámetro (Figura 55A).

Del primer al último día de almacenamiento las ZI+RSE presentaron un incremento del 10.67% (15.31 a 17.14) en su luminosidad y las ZI+RH mostraron un descenso del 8.69% (19.79 a 18.07), mientras que las ZSI+RH presentaron un descenso del 0.96% (19.65 a 19.46) esto también relacionado con que dicho tratamiento liberó menos líquido con respecto a los otros tratamientos infectados, lo que claramente se vio reflejado en la luminosidad de las zarzamoras, por su parte las control infectadas también exhibieron un ascenso del 25.5% (13.91 a 18.67) en su luminosidad (Figura 55B).

La luminosidad de las zarzamoras infectadas incrementó con el transcurso de los días de almacenamiento, mientras que las que no fueron infectadas mantuvieron su luminosidad.

Lo anterior se debió a la liberación de líquido por las zarzamoras infectadas lo que provocó que al momento de realizar la lectura la reflexión de la luz el líquido de la zarzamora



provocara que la lectura del parámetro de luminosidad incrementara para estos tratamientos en comparación con los no infectados.

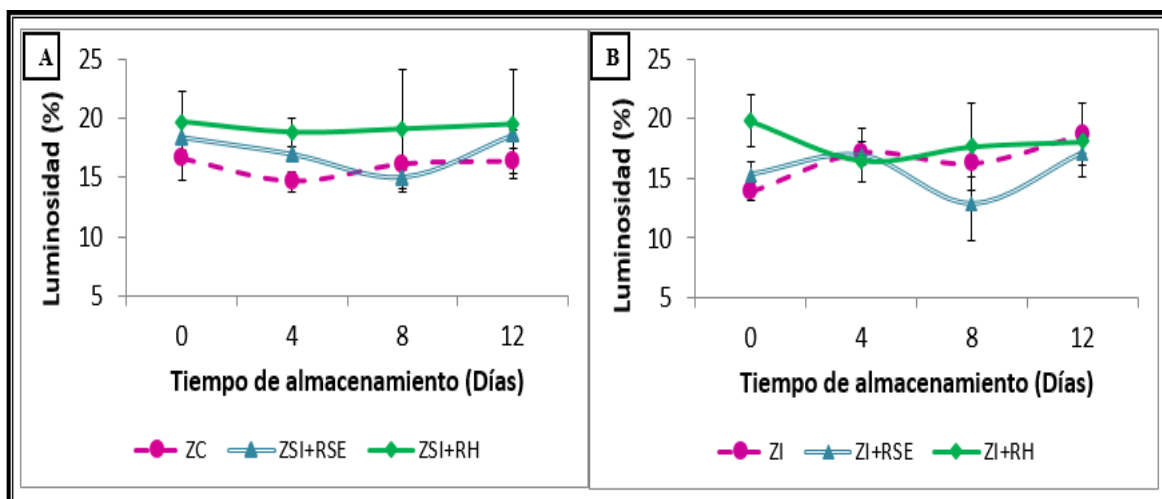


Figura 55. Cambios de luminosidad en zarzadoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzadoras sin infectar (B) Zarzadoras infectadas. Donde: Zarzadora de campo (ZC), Zarzadora sin infectar (ZSI), Zarzadora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Durante los días 0 al 4 el análisis estadístico mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las zarzadoras de campo y las infectadas, con respecto a los demás tratamientos no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en los mismos días, mientras que día 8 al 12 ninguna de las zarzadoras estudiadas provocaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la luminosidad.

Los resultados no concordaron por los presentados por Trejo-Márquez *et al.* (2007) quienes evaluaron el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa almacenada en refrigeración, en todos sus distintos tratamientos se reportó un descenso en la luminosidad de las fresas lo que no fue así para los tratamientos infectados, la luminosidad en las fresas control de dicho trabajo presentaron una luminosidad promedio de 28% lo que fue un 40.67% mayor en comparación a las zarzadoras control. Todos los tratamientos estudiados por Trejo-Márquez *et al.* (2007) presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en relación a los días de almacenamiento refrigerado, comparando las distintas matrices de recubrimientos evaluadas los resultados reflejaron que la matriz de CMC 0.5%



aplicada en zarzamoras sin infectar presentaron cambios en la luminosidad de hasta 7.08% menores en comparación a los exhibidos por el recubrimiento a base de gelatina al 2 y 3%.

5.6.1.2. Determinación de pérdida de peso

El principal mecanismo de pérdida de peso en frutas frescas y vegetales es la pérdida de humedad mediante la difusión del vapor de agua, esto se debe a un gradiente de presión entre el interior y el exterior del fruto. Los recubrimientos comestibles sobre la superficie de los frutos actúan como barreras a la difusión del vapor de agua, lo que se traduce en menores tasas de pérdida de humedad (Figuroa *et al.*, 2011).

Las zarzamoras sin infectar (Figura 56A) presentaron pérdidas de peso en un rango de 6 a 8%, las zarzamoras de campo fueron las más afectadas con una pérdida de peso del 7.7% a los 12 días, mientras que el tratamiento con el valor más pequeño fue el recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen con un 6.74%, mientras que las zarzamoras con recubrimiento sin extracto presentó el valor intermedio con un 7%.

Como se observa en la Figura 56B las zarzamoras control infectadas presentaron el mayor porcentaje de pérdida de peso al final del almacenamiento con un valor de 9.5% mientras que el valor más pequeño lo obtuvieron las ZSI+RH con un valor de 6.74%.

De acuerdo con los resultados obtenidos los frutos infectados ya sean recubiertos o no obtuvieron alrededor de 18.24% mayor pérdida de peso con respecto a los que no fueron infectados lo que se debió a la presencia de microorganismos, como *Botrytis cinerea* que es el principal moho que daña a la zarzamora.

La pérdida de peso generada por la pérdida de humedad además de ser considerado un parámetro clave para determinar la calidad de las zarzamoras debido al importante porcentaje de agua contenido en ellas (86%) también se considera como parte de los síntomas o signos generados por el patógeno de *Botrytis cinerea* (Alencastro, 2011). Debido a lo anterior, las zarzamoras infectadas presentaron mayor pérdida de peso en comparación a las que no fueron infectadas, esto por la presencia del microorganismo.



Las ZI+RSE perdieron 13.91% (8.54 a 7.36) más peso en contraste con las ZI+RH, mientras que las ZSI+RSE perdieron 4.93% (7.09 a 6.74) más peso en comparación a las zarzamoras sin infectar tratadas con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen.

Las zarzamoras infectadas tratadas con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen presentaron un comportamiento similar a las zarzamoras de campo, la pérdida de peso fue mayor para estas últimas con un valor del 5.03% (7.36 a 7.75) al final del almacenamiento. En comparación con las zarzamoras sin infectar con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen éstas perdieron menos peso en un 8.42% en comparación al tratamiento anteriormente mencionado, ya que al final tuvieron un valor de 6.74%.

Los frutos tanto infectados como sin infectar tratados con los recubrimientos comestibles adicionados con extracto etanólico de Hoja Sen tuvieron menor pérdida de peso en comparación con sus respectivos controles, siendo el tratamiento más efectivo para controlar la pérdida de peso en zarzamoras.

Los resultados obtenidos para este parámetro se encontraron relacionados principalmente con las propiedades de barrera de cada una de las formulaciones de los recubrimientos estudiados y es que el tipo de polisacárido empleado, estructura química, densidad, presencia de plastificantes y aditivos, entre otros factores influyen directamente sobre las propiedades de barrera al vapor de agua de los recubrimientos (Pastor, 2010).

De acuerdo a lo expuesto en el apartado 5.1 la permeabilidad al vapor de agua con matriz de CMC 0.5% adicionada con extracto etanólico de Hoja Sen presentó la menor permeabilidad al vapor de agua con respecto a la adición de los otros extractos y al control, esto debido a la interacción natural que presentó el extracto etanólico de la planta de Hoja Sen, con el polisacárido CMC, plastificante y surfactante considerados en la formulación del recubrimiento, lo que justificó que al emplear la formulación menos permeable al vapor de agua se obtuvieran mejores resultados para el parámetro de pérdida de peso en las zarzamoras.

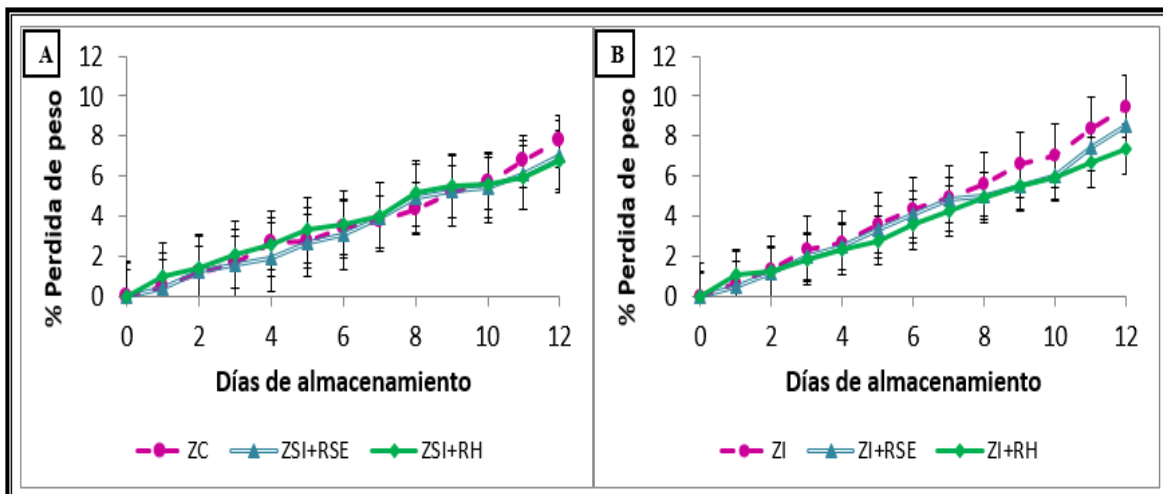


Figura 56. Pérdida de peso de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Acorde a la bibliografía citada los resultados concuerdan con los reportados por Márquez *et al.* (2009) quienes evaluaron el efecto de los recubrimientos comestibles sobre la calidad postcosecha del níspero japonés (*Eriobotrya japonica* T.). Los resultados reflejaron que el recubrimiento a base de quitosano fue el más efectivo mientras que el recubrimiento a base de sucroéster presentó los mayores porcentajes de pérdida de peso. Al igual que en este estudio y el realizado por Márquez *et al.* (2009) la pérdida fisiológica de peso de los frutos aumentó con el tiempo de almacenamiento en todos los tratamientos como consecuencia de la transpiración.

Navarrete (2009) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus fruticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir obtuvo pérdidas de peso para zarzamoras control del 7 al 8% lo que concuerda con la pérdida de peso reportada en este estudio para las zarzamoras de campo, mientras que el recubrimiento de gelatina al 3% con inmersión de 5 min presentó la menor pérdida de peso a los 11 días de almacenamiento con un valor aproximado de 4% mientras que en este estudio el recubrimiento de CMC 0.5% adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen con tiempo de inmersión de 1:30 min a los 12 días de almacenamiento presentó una pérdida de peso del 5.9% para zarzamoras no infectadas.



En el mismo orden se encontraron Duan *et al.* (2011) quienes estudiaron el efecto de un recubrimiento comestible a base de alginato, quitosano y el comercial “Semperfresh” aplicado en moras azules variedad “Duke” y “Elliot” bajo almacenamiento a condiciones comerciales, en dicho estudio se reportaron pérdidas de peso para todos los tratamientos evaluados de acuerdo a los tiempos de almacenamiento, los rangos para este parámetro fueron del 20-25% dependiendo del tratamiento.

Por otro lado los resultados obtenidos no concordaron por los reportados por Navarro (2007) quien evaluó el efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa y cera de abeja en calidad de ciruelas, naranjas y mandarinas, los resultados expuestos en dicho trabajo muestran que la aplicación de recubrimiento no impidió de manera significativa la pérdida de peso en ciruelas en relación a los días de almacenamiento, ya que presentaron pérdidas de peso muy semejantes a las ciruelas control, por lo que la variación de concentraciones (cera de abeja y HPMC) en las formulaciones no produjo gran efecto en este parámetro.

La aplicación del recubrimiento comestible logró reducir significativamente la pérdida de peso ya que de esta manera el recubrimiento ofreció una buena barrera a la transferencia de gases y vapor de agua durante el almacenamiento lo que proporcionó una mayor retención de firmeza por consecuencia la prolongación de su vida útil.

La aplicación del recubrimiento comestible además de mejorar el aspecto visible de las zarzamoras afectó de manera positiva la pérdida de peso, ya que los recubrimientos ayudaron a disminuir la transpiración de las frutas aún si éstas fueron infectadas, dicha condición ocasionó que la transpiración de las zarzamoras fuera mayor debido al estrés generado por el hongo en las mismas, al disminuir la pérdida de agua, esta disminuyó notablemente la velocidad de marchitamiento en las zarzamoras en comparación a los controles tanto infectados como sin infectar.

Estadísticamente en la pérdida de peso existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del día 4 hasta el 12 entre las zarzamoras de campo y aquellas que no fueron infectadas y tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen, con relación a los otros



que no tuvieron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) durante los días de almacenamiento refrigerado.

Cabe mencionar que existieron otros factores que afectaron el comportamiento de las películas formadas por la aplicación del recubrimiento en la superficie de las zarzamoras y finalmente se vieron reflejado en los resultados obtenidos para la pérdida de peso de las zarzamoras, como fueron la distribución del recubrimiento en la superficie de la zarzamora debido a las múltiples drupeolas formadoras del cuerpo de la zarzamora, la capacidad de éste para penetrar los poros de la zarzamora, morfología de la piel de la zarzamora que por lo general es lisa, no porosa, delgada y suave (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto, 2007).

Además fue importante el control de la H.R. (85%) y la temperatura de refrigeración (4 °C), ya que cuando el aire del ambiente no está saturado de vapor de agua, tiende a tomar de otras fuentes de su entorno hasta que alcanza el grado de saturación; cuanto más elevada sea la temperatura del aire, mayor es la capacidad para contener agua. Por ello toda atmósfera caliente de un almacén provoca un efecto deshidratante sobre las frutas (Navarrete, 2009).

5.6.1.3. Determinación de índice de decaimiento

En la Figura 57 se muestran los resultados obtenidos para el índice de decaimiento de los distintos tratamientos, los resultados mostrados a continuación presentaron un comportamiento similar a los observados en el apartado 5.5. aunque en comparación con los mismos el índice de decaimiento en este segundo experimento fue en promedio 46.80 y 34.5% mayor para los tratamientos infectados y no infectados respectivamente.

Del inicio del almacenamiento hasta el día 4 todas las zarzamoras presentaron índices de decaimiento muy similares, al llegar al día 8 las diferencias entre los distintos tratamientos comenzaron a ser notorias, en este día las ZC (Figura 57A) presentaron un índice de decaimiento de 0.66, mientras que las ZI en el mismo día tuvieron 56.29% (1.51 a 0.66) mayor índice de decaimiento en contraste con las de campo. Las ZI+RSE presentaron un deterioro de 1.44 mientras que para las no infectadas el índice de decaimiento fue 38.88% menor en comparación con las anteriores.

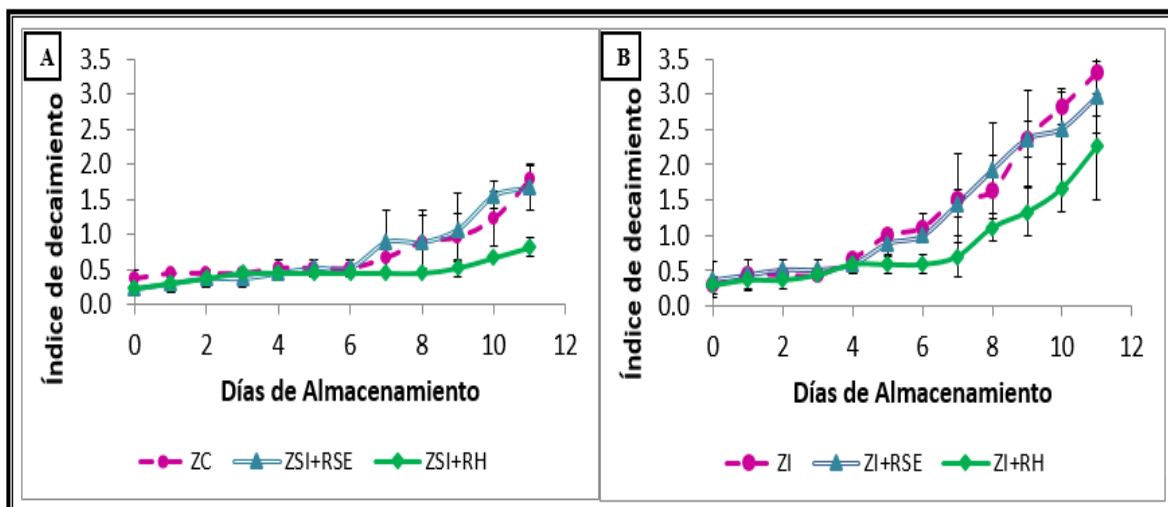


Figura 57. Índice de decaimiento de las zarzadoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzadoras sin infectar (B) Zarzadoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las zarzadoras infectadas y tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron el índice de decaimiento más bajo en comparación a las zarzadoras infectadas (I.D= 0.7), lo que resultó 53.64 y 51.38% menor índice de decaimiento con respecto a las zarzadoras control infectadas y las infectadas con recubrimiento sin extracto respectivamente. Por último las zarzadoras que no fueron infectadas y tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen al día 8 presentó un índice de decaimiento de tan sólo 0.44 (Figura 57B).

Al final del almacenamiento las ZI obtuvieron el mayor índice de decaimiento (3.3), mientras que las ZI+RSE quedaron con un valor intermedio de 2.9.

Los tratamientos que no fueron infectados presentaron en promedio índices de decaimiento hasta 40% menores con respecto a los tratamientos infectados esto debido obviamente a la presencia del microorganismo en las zarzadoras. Las zarzadoras de campo obtuvieron un I.D. de 1.8 mientras que las ZSI+RH presentaron un decaimiento de tan sólo 0.81 a los 12 días de almacenamiento, de igual manera las ZSI+RSE obtuvieron un índice de decaimiento intermedio con un valor 6.21% más bajo que las zarzadoras de campo.



Estadísticamente se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del día 8 al día 12 entre todos los tratamientos, mientras que del día 0 al 4 no existieron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) al aplicar los distintos tratamientos tanto en zarzamoras infectadas como en no infectadas.

Los resultados obtenidos concordaron con los presentados por Barrera *et al.* (2012) quienes emplearon un recubrimiento formulado con propóleos para el manejo postcosecha de frutos climatéricos (papaya) (*Carica papaya* L. cv. “Hawaiiana”) el estudio mostró que las papayas control tendieron más a deteriorarse con respecto a las papayas recubiertas, en particular se observaron diferencias en el color y textura de la pulpa, en la intensidad de la pudrición negra del pedúnculo y en las lesiones de la piel del fruto, efectos causados por antracnosis. Como se obtuvo en el proyecto anteriormente mencionado el índice de decaimiento durante los primeros 4 días fue menor a 1, mientras que al día 8 existió un deterioro considerable en las papayas así como en las zarzamoras empleadas para el desarrollo de este proyecto.

Las zarzamoras se clasifican como una fruta blanda, esto implica que tienen mayor facilidad a ser atacadas por mohos y levaduras, las frutas blandas son también muy sensibles a las lesiones físicas durante la manipulación y lesiones mecánicas (Navarrete, 2009). Los principales daños que se observaron en las zarzamoras durante el estudio tanto para el control como para los tratamientos, fueron ocasionados por deshidratación, pérdida de turgencia, liberación de líquido, pudrición gris en el pedúnculo así como la formación de moho, lo anterior ocasionado por el hongo *Botrytis cinerea*. Los daños fueron más severos en los controles en comparación a los tratamientos para un mismo periodo de tiempo como puede observarse en la Tabla 27 en la que se muestra un seguimiento fotográfico de lotes de zarzamoras con distintos tratamientos de acuerdo a los días de almacenamiento.

Para las ZI en daño ocasionado en la superficie de la frutilla fue hasta del 50% con un índice de decaimiento del 3.29 al doceavo día de almacenamiento, mientras que las zarzamoras de campo presentaron un deterioro superficial del 25% en el mismo periodo de tiempo, lo que indicó que las zarzamoras sin recubrimiento perdieron su calidad al ser atacadas por el hongo. En contraste las ZI+RH no mostraron invasión fúngica, mientras que aquellas con recubrimiento pero sin extracto mostraron un reducido ataque fúngico en comparación a las zarzamoras infectadas lo que mostró que el recubrimiento fue efectivo en la inhibición del



crecimiento de este hongo así como la presencia de otros microorganismos ofreciendo una barrera protectora por efecto de la modificación de la atmósfera de estas frutillas. Sin duda alguna la presencia del extracto etanólico de Hoja Sen como agente antimicrobiano fue un factor clave para disminuir el índice de deterioro principalmente en las zarzamoras infectadas.

Tabla 27. Seguimiento fotográfico de las zarzamoras recubiertas a base de carboximetilcelulosa 0.5% adicionadas con extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm para el parámetro de índice de decaimiento.

Tratamiento	Día 0	Día 4	Día 8	Día 12
ZI				
ZC				
ZI + RSE				
ZSI + RSE				
ZI + RH				
ZSI + RH				

Las abreviaciones representan: ZI= Zarzamora infectada, ZSI=Zarzamora sin infectar, ZC=Zarzamora de campo, RH= Recubrimiento +Hoja Sen 3000 ppm, RSE= Recubrimiento sin extracto.



5.6.1.4. Determinación de liberación de líquido

La liberación de líquido es un parámetro que se encuentra relacionado con la firmeza del fruto, ya que si el tejido celular resulta dañado el primer indicio es la pérdida de líquido y/o solutos del fruto. La degradación de los hidratos de carbono poliméricos, especialmente la de las sustancias pécticas y hemicelulosas, debilita las paredes celulares y las fuerzas cohesivas que mantienen unas células unidas a las otras. Las sustancias pécticas proceden de un precursor insoluble, la protopectina, que se encuentra ligada por enlaces cruzados a otras cadenas poliméricas a través de puentes de calcio y está unido a otros azúcares. Durante la maduración la protopectina va gradualmente degradándose. La velocidad de degradación de las sustancias pécticas está directamente relacionada con la de ablandamiento de la fruta (Navarrete, 2009).

Las zarzamoras que no fueron infectadas presentaron en promedio una liberación de líquido del 39.93% menor en comparación a las infectadas. Las zarzamoras de campo perdieron al final del almacenamiento 13.73% de líquido mientras que en el día 0 perdieron líquido en un 2.09% sólo 4.18% (2.09 a 2.18) por debajo de las zarzamoras control infectadas en el mismo periodo de tiempo (Figura 58A).

Como se observa en la Figura 58B la liberación de líquido en las zarzamoras se vio afectada por la inoculación de *Botrytis cinerea* ya que todos los tratamientos infectados presentaron una pérdida de líquido mayor al 20% al final del almacenamiento, mientras que al día 0 dichos tratamientos perdían 0.5% más líquido que los tratamientos no infectados. Incluso considerando lo anterior los recubrimientos comestibles beneficiaron de manera importante la retención de líquido en las zarzamoras, por ejemplo, las zarzamoras infectadas tratadas con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen disminuyeron en un 11.59% (20.21 a 22.86) la pérdida de líquido con respecto a las zarzamoras control infectadas, mientras que aquellas que sólo fueron tratadas con recubrimiento sin extracto sólo lograron disminuir en un 5.20%.

La diferencia en las zarzamoras recubiertas se observa con gran claridad a partir del día 4, y más aún en el día 12 de almacenamiento en el cual el tratamiento conformado por zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto perdieron menos líquido en un 42.02% en comparación con las zarzamoras de campo mientras que las zarzamoras sin infectar con



recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen perdieron casi 50% menos líquido con respecto a las zarzamoras de campo, de modo similar dicho tratamiento obtuvo una disminución en la liberación de líquido de las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen del 65.46% a los 12 días de almacenamiento refrigerado, en cuanto que las zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto en comparación con las zarzamoras infectadas con el mismo tratamiento liberaron menos líquido en un 65.16% (7.96 a 22.86).

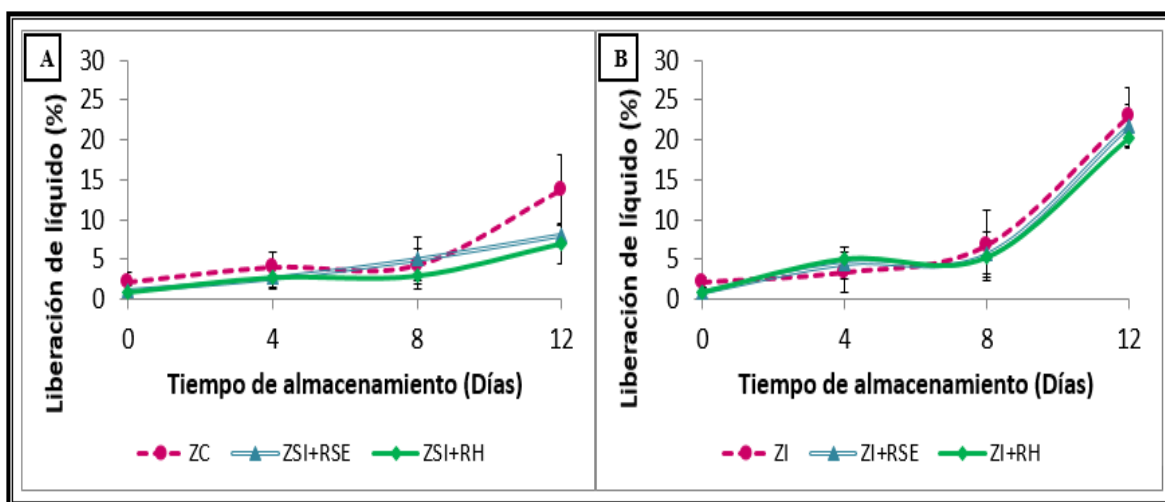


Figura 58. Liberación de líquido de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zorzamoras sin infectar (B) Zorzamoras infectadas. Donde: Zorzamora de campo (ZC), Zorzamora sin infectar (ZSI), Zorzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

El análisis estadístico mostró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del día 8 hasta el final del almacenamiento sólo entre las zarzamoras control infectadas y las zarzamoras sin infectar tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen, que son, como se puede apreciar en la Figura 58 los tratamientos que obtuvieron mayor y menor liberación de líquido, respectivamente. Así, los tratamientos restantes durante el mismo periodo de tiempo no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$). Igualmente del día 0 hasta el 4 de almacenamiento ninguno de los tratamientos estudiados presentaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para este parámetro.



Los resultados descritos anteriormente concuerdan con los reportados por Navarrete (2009) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus fruticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir y por Ayranci y Tunc (2004) quienes evaluaron el efecto de recubrimientos comestibles en la pérdida de agua y vitamina C en chabacano (*Armeniaca vulgaris* Lum.) y pimiento verde (*Capsicum annuum* L.), dichos estudios presentaron el mismo comportamiento expuesto en este trabajo ya que los frutos que fueron recubiertos perdieron menos líquido con respecto a sus controles, manteniendo la calidad de los mismos e incrementando su vida útil.

Cabe mencionar que Ayranci y Tunc (2004) emplearon un recubrimiento a base de metilcelulosa y diversos aditivos y a pesar de que los frutos estudiados fueron muy diferentes entre ellos y con las zarzamoras, las pérdidas de líquido reportadas fueron en promedio del 19.8% lo que los investigadores atribuyeron principalmente al polisacárido seleccionado para el recubrimiento, ya que por lo general los derivados de celulosa suelen presentar propiedades mecánicas y de barrera importantes que benefician los parámetros de calidad y a su vez las características propias de la fruta.

Muy contrario de lo que pasa con las zarzamoras que no fueron infectadas, los tratamientos infectados presentaron una mayor liberación de líquido debido a que el hongo consume de manera más rápida los polisacáridos que conforman la pared vegetal del fruto ya que son necesarios para la realización de actividades metabólicas y enzimáticas logrando finalmente que ésta se debilite, se rompa y pierda el líquido contenido en cada una de las drupeolas de las zarzamoras (Guerrero-Rodríguez *et al.*, 2007).

Por otro lado los tratamientos que no fueron infectados se encontraban irremediablemente en un proceso de “envejecimiento” conocido como senescencia en el cual las células senescentes permanecieron metabólicamente activas durante todo el proceso, aunque sufrieron un cambio de metabolismo encaminado al reciclaje de nutrientes. Señales hormonales o ambientales, asociadas a factores como la edad del tejido, iniciaron cascadas que activaron o inactivaron muchos genes, lo que condujo a una reorganización estructural y metabólica. Finalmente, una vez que finalizó el reciclaje celular, se perdió la integridad celular de forma irreversible con síntomas como la degradación del color, pérdida de elasticidad y turgencia del fruto,



adelgazamiento de la piel de la zarzamora y ruptura de la misma (Baquero-Duarte *et al.*, 2005).

5.6.2. Parámetros fisicoquímicos

5.6.2.1. Determinación de sólidos solubles

Como se observó en el apartado 5.5 el comportamiento mostrado por los distintos tratamientos fue similar en la determinación de sólidos solubles al exhibido en este segundo experimento, aunque existieron diferencias numéricas importantes entre ambos experimentos, por ejemplo, los tratamientos que no fueron infectados en el primer experimento presentaron en promedio un aumento en los °Brix del inicio al final del almacenamiento del 17.25% mientras que en la repetición fue tan sólo del 2.75%, por su parte los tratamientos infectados en el primer experimento aumentaron los °Brix un 12.11% y muy cerca del valor anterior los °Brix de tratamientos infectados en el primer experimento aumentaron en un 10.52% (Figura 59).

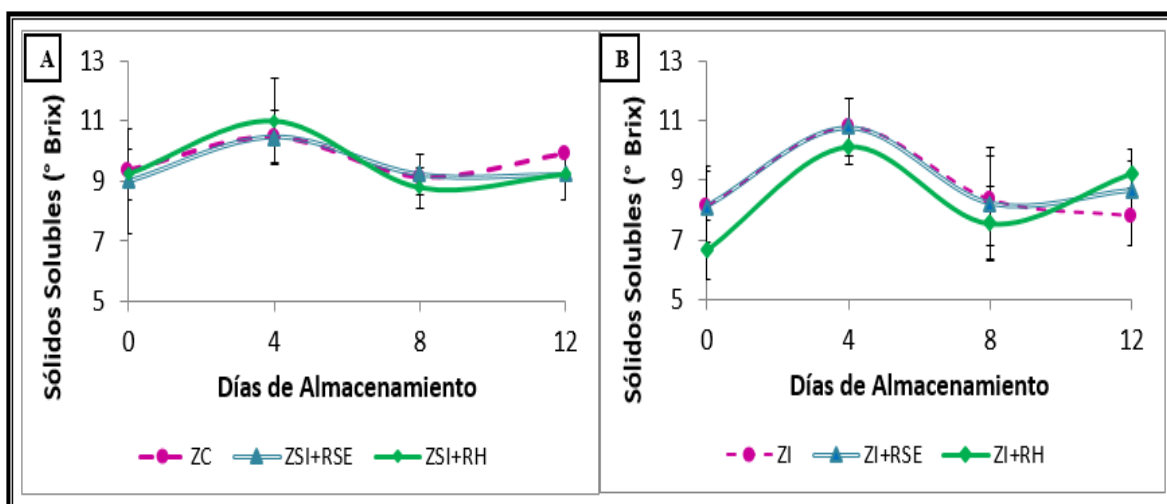


Figura 59. Sólidos solubles de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarcamoras sin infectar (B) Zarcamoras infectadas. Donde: Zarcamora de campo (ZC), Zarcamora sin infectar (ZSI), Zarcamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

De acuerdo a la Figura 59A al inicio del almacenamiento todos los tratamientos presentaron un valor promedio de sólidos solubles de 9.18, al día 4 se observó un incremento de los °Brix



en las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen del 34.09% (6.6 a 10.11) en comparación a los otros dos tratamientos aunque al día 12 de almacenamiento todos los tratamientos presentaron valores de 9 a 10 °Brix, por lo que estadísticamente no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la concentración de sólidos solubles con la aplicación de los recubrimientos comestibles y la adición de los extractos etanólicos en los mismos aplicados en las zarzamoras no infectadas.

De modo similar las zarzamoras infectadas con recubrimiento sin extracto y las zarzamoras control infectadas presentaron 8.11 °Brix al inicio del almacenamiento mientras que las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron 17.87% menos °Brix en relación a los otros tratamientos. Como se observa en la Figura 59B las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen al día 4 presentaron 6.94 y 8.15% menos °Brix en comparación a los otros tratamientos, los cuales presentaron valores muy cercanos durante todo el almacenamiento. Al llegar al día 12 las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen aumentaron los °Brix en un 27.76% (6.6 a 9.22) con respecto al día 0, mientras que aquellas que fueron recubiertas pero sin la adición de extracto incrementaron los sólidos solubles en un 6.35% (8.11 a 8.66) asimismo las zarzamoras control infectadas presentaron cambios en la concentración de los sólidos solubles con respecto a los días de almacenamientos disminuyendo éstos en un 4.19%. El análisis estadístico mostró que no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la concentración de sólidos solubles con la aplicación de las distintas formulaciones de recubrimientos con el transcurso del almacenamiento

De manera análoga que en el apartado 5.5 la concentración de sólidos solubles de los distintos tratamientos incrementaron con el transcurso del tiempo, fenómeno que se debe a la maduración de la zarzamora. Una de las diferencias importantes que se presentó en contraste al primer experimento fue que los tratamientos infectados tratados con recubrimiento sin extracto y recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen incrementaron la concentración de sólidos solubles a pesar de la presencia del hongo ya que en el primer experimento todos los tratamientos infectados disminuyeron los sólidos solubles del día 0 al 12 de almacenamiento, para este experimento sólo las zarzamoras control infectadas



siguieron el mismo patrón que en el experimento anterior ya que disminuyeron sus °Brix con el transcurso de los días de almacenamiento, lo que como ya fue explicado anteriormente la disminución de sólidos solubles se debió a la utilización de estos como fuentes de energía para que el microorganismo realizara sus actividades metabólicas necesarias para sobrevivir.

Los resultados obtenidos para este parámetro difieren con los presentados por Restrepo y Aristizábal (2010) quienes trabajaron en la conservación de fresa (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca de sábila y cera de carnaúba, dicho estudio reportó que las fresas recubiertas frente a los frutos control no reveló diferencia en la concentración de los sólidos solubles por efecto de los factores de tratamiento y tiempo, además de que se advirtió un descenso importante en los sólidos solubles al día 10 de almacenamiento, a pesar de que las fresas no se infectaron con ningún tipo de microorganismo, los autores atribuyeron el descenso de los °Brix de las fresas a procesos fisiológicos de las fresas como la senescencia y la respiración.

Por último Navarrete (2009) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus frocticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir presentó incrementos en la cantidad de sólidos solubles de acuerdo al tiempo de almacenamiento dicho comportamiento coincidió con las zarzamoras sin infectar e infectadas sometidas a los distintos tratamientos, los valores de °Brix fueron en promedio 9.55 °Brix para las zarzamoras de campo y para los tratamientos el valor promedio fue de 8.73 °Brix para el día 11 de almacenamiento, mientras que en este estudio los valores de sólidos solubles para zarzamoras de campo al día 12 de almacenamiento fueron 3.34% mayores en contraste con los reportados por Navarrete (2009) para zarzamoras control y los tratamientos presentaron 22.67% más sólidos solubles en comparación con los tratamientos estudiados por Navarrete (2009) lo que claramente muestra un rezago en la cantidad de sólidos solubles en zarzamoras de un estudio con respecto al otro.

5.6.2.2. Determinación de pH

En la Figura 60 se muestran los resultados obtenidos para este parámetro los cuales demostraron que la aplicación del recubrimiento no provocó modificaciones para este parámetro ya que las zarzamoras infectadas con los distintos tratamientos así como dos de los tres tratamientos aplicados a zarzamoras sin infectar incrementaron sus valores de pH a



lo largo del almacenamiento, por lo que el recubrimiento no afectó el curso de la maduración de las zarzadoras.

En la Figura 60A al inicio del almacenamiento el grupo control presentó un pH de 3.9, mientras que aquellas que fueron tratadas con recubrimiento sin extracto obtuvieron un pH 1.28% (3.9 a 3.85) menor en el mismo periodo de tiempo, mientras que para aquellas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen el pH fue 5.65% (3.68 a 3.9) menor en relación al control.

Al final del almacenamiento las ZC incrementaron su pH en un 3.46% (3.9 a 4.04) mientras que las ZSI+RH el pH aumentó en un 1.07% (3.68 a 3.72). Finalmente las ZSI+RSE fue el único tratamiento en el cual disminuyó el pH con una diferencia del 5.45% (3.85 a 3.64) del día 0 al día 12 de almacenamiento. Para estos tratamientos sin infectar existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las zarzadoras de campo y las zarzadoras tratadas con recubrimiento sin extracto y aquellas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen en el día 12, mientras que del día 0 al 8 no existieron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre los diversos tratamientos para este parámetro.

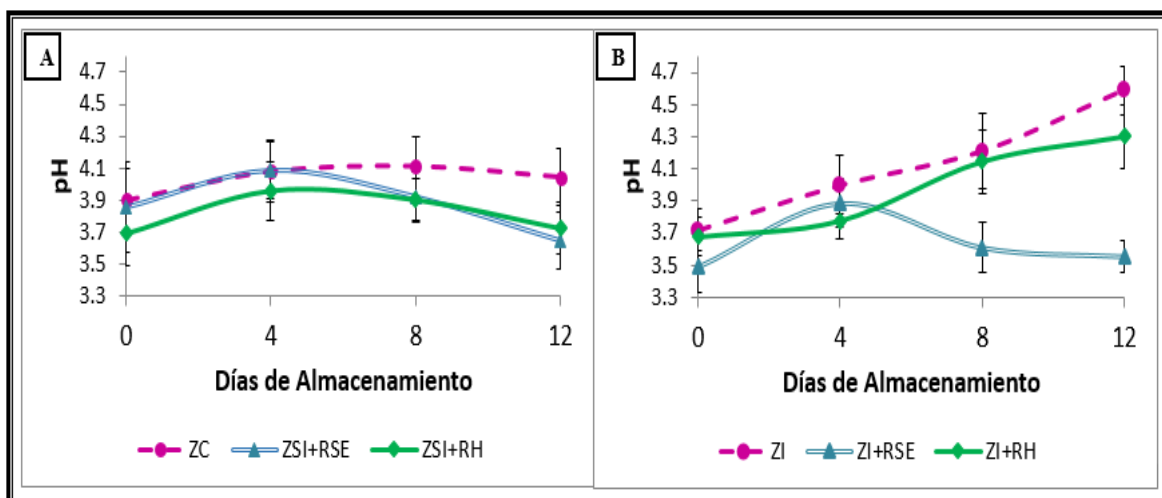


Figura 60. pH de las zarzadoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzadoras sin infectar (B) Zarzadoras infectadas. Donde: Zarzadora de campo (ZC), Zarzadora sin infectar (ZSI), Zarzadora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



Por otra parte la Figura 60B la cual muestra los tratamientos infectados se observa que las ZI al día 0 obtuvieron un pH con valor de 3.72, las ZI+RH obtuvieron un pH con un valor 1.34% (3.67 a 3.72) menor en comparación al control infectado, mientras que las ZI+RSE presentaron el pH más bajo con una diferencia porcentual del 6.45% (3.48 a 3.72) con respecto al control infectado, con el transcurso del tiempo el pH de los tres tratamientos infectados fue incrementando; al llegar el día 12 las zarzamoras control infectadas incrementaron su pH un 18.77%, aquellas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen incrementaron su pH un 14.65% y las zarzamoras que fueron recubiertas con recubrimiento sin extracto obtuvieron un pH tan sólo 1.95% mayor en el día 0. Estadísticamente existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del día 8 hasta el 12 entre las zarzamoras infectadas tratadas con recubrimiento sin extracto y las zarzamoras tratadas con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen y aquellas consideradas el grupo control, mientras que del día 0 al 4 no existieron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre los distintos tratamientos para el pH.

La medición pH se traduce en conocer el ion hidrógeno que es la unidad para la conservación de alimentos y en el deterioro de estos, ya que pueden presentarse cambios debido a la acción enzimática y desarrollo de microorganismos. La intensidad de estos cambios dará como resultado una marcada concentración del ion hidrógeno (Navarrete, 2009) debido a lo anterior los tratamientos infectados presentaron en promedio cambios en el pH de hasta 13.79% mayores con respecto a los no infectados por lo que acción del hongo se vio reflejada en este parámetro.

González (2010) trabajó en la conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeynalicum*), los datos obtenidos coincidieron con dicha investigación que reportó valores de pH en el día 1 de 2.98 mientras que al día 7 los valores de pH llegaron hasta 3.13 la diferencia con respecto a los valores de pH alcanzados en esta investigación para los tratamientos sin infectar fue del 14.61% mayor con respecto a los reportados en la bibliografía consultada.

Por su parte Han *et al.* (2004) evaluó distintos recubrimientos comestibles para mejorar la capacidad de almacenamiento y valor nutricional de fresas (*Fragaria x ananassa*) y frambuesas (*Rubus ideaus*) frescas y congeladas, los valores de pH reportados para fresa con



recubrimiento a base de quitosano obtuvieron valores al día 0 de 3.6 con una diferencia 7.69% mayor con respecto a las obtenidas para las zarzamoras recubiertas sin infectar en el mismo día, al final del almacenamiento (día 14) las fresas alcanzaron un pH de 4.2 lo que representó un pH 4.28% mayor con respecto al obtenido por las zarzamoras recubiertas sin infectar al día 12. Mientras que las frambuesas con recubrimiento a base de quitosano tuvieron valores de pH al inicio del almacenamiento de 3 a 3.2 lo que representó un valor 22.79% menor a los obtenidos por las zarzamoras recubiertas con CMC 0.5%, al final del almacenamiento el pH de las frambuesas incrementó un 8.82% mientras que el de las zarzamoras recubiertas sin infectar incrementó un 3.46%.

5.6.2.3. Determinación de acidez

De acuerdo a la Figura 61A las zarzamoras de campo presentaron 0.61% de ácido cítrico al día 0 al llegar al final del almacenamiento dicho grupo control aumentó la acidez en un 6.15% (0.61 a 0.65) las zarzamoras con recubrimiento sin extracto al día 0 presentaron una acidez 16.43% (0.73 a 0.61) mayor con respecto al control, en el día 12 dicho tratamiento incrementó en un 2.66%, finalmente las zarzamoras tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen al día 0 presentó un porcentaje de ácido cítrico del 0.56% mientras que al día 12 el tratamiento anterior alcanzó una acidez de 0.65% de ácido cítrico.

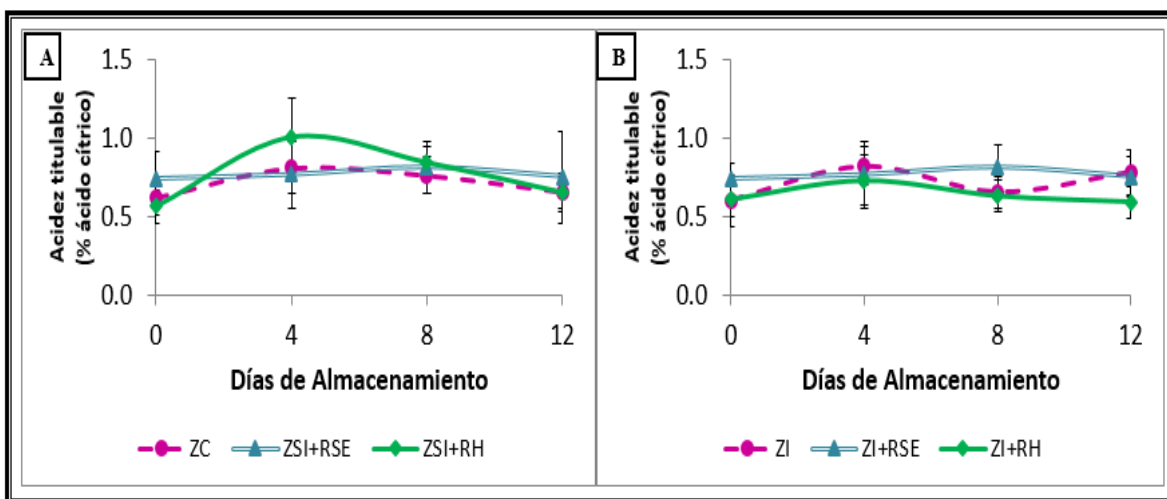


Figura 61. Acidez de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Zarzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



En el análisis estadístico al día 0 no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los distintos tratamientos sin infectar al igual que en el día 8 y al día 12, por su parte al día 4 se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre el grupo de zarzamoras sin infectar con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen y aquellas con recubrimiento sin extracto y las zarzamoras de campo.

Los lotes de zarzamoras que fueron infectados (Figura 61B) presentaron al día 0 valores de acidez muy similares a los obtenidos por las zarzamoras sin infectar. Las zarzamoras control infectadas, así como las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron un valor de acidez del 0.60%, mientras que las zarzamoras con recubrimiento sin extracto obtuvieron una acidez 17.8% mayor con respecto a los otros tratamientos. Al final del almacenamiento las zarzamoras control infectadas y aquellas que fueron tratadas con recubrimiento sin extracto presentaron un porcentaje de ácido cítrico promedio del 0.76%, mientras que las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen llegó a un valor de acidez del 0.59%, dicho tratamiento fue el único que disminuyó su porcentaje de acidez en un 1.66% (0.60 a 0.59) los otros tratamientos aumentaron su acidez en mayor o menor proporción.

Estadísticamente en los días 0, 4 y 12 no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los distintos tratamientos estudiados, sólo existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los grupos de zarzamoras infectadas con recubrimiento sin extracto y el grupo control de zarzamoras infectadas y aquellas que fueron tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen.

Al comparar con los resultados mostrados en el apartado 5.5. el comportamiento de la acidez de los distintos tratamientos es muy similar al reportado para este segundo experimento, por lo que la explicación se debe a la presencia del hongo en las zarzamoras y diversos procesos metabólicos naturales de las mismas como son la respiración, maduración y senescencia.

Duan *et al.* (2011) estudiaron el efecto de un recubrimiento comestible a base de alginato, quitosano y el comercial “Semperfresh” aplicado en moras azules variedad “Duke” y “Elliot” bajo almacenamiento a condiciones comerciales reportaron valores de acidez para la variedad “Duke” de 0.63% tan sólo un 3.17% mayor en comparación con las zarzamoras de campo en



el día 0 y un 3.07% menor para el mismo tratamiento en el día 12. Para las zarzamoras de la variedad “Elliot” los valores de acidez fueron de 1.09% lo que representa una acidez del 44.03% mayor en comparación a las reportadas para la variedad “Cherokee” para las zarzamoras de campo al día 0 para el final del almacenamiento la diferencia fue del 40.36%.

González (2010) trabajó en la conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeynalicum*), los resultados reportados no coincidieron con los obtenidos para este parámetro ya que los valores de acidez obtenidos fueron en promedio 74.38% mayores con respecto a los valores obtenidos para zarzamoras infectadas y no infectadas en el día 0, además con transcurso de los días la acidez se vio disminuía, comportamiento contrario al obtenido por las zarzamoras durante esta investigación.

Al igual que con el autor anterior los resultados obtenidos difirieron con los reportados por Navarrete (2009) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus frocticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir ya que presentó valores de acidez de hasta 78.68% menores en relación a las obtenidas por las zarzamoras recubiertas sin infectar en el día 0, además presentó una disminución de la acidez conforme avanzaban los días de almacenamiento, a pesar de lo anterior el recubrimiento no modificó de manera considerable el porcentaje de ácido málico presente en las zarzamoras según los distintos tratamiento por lo que el autor relaciona la reducción de la acidez con el proceso natural de maduración en las zarzamoras.

5.6.3 Parámetro fisiológico

5.6.3.1. Determinación de respiración

En contraste con los resultados mostrados en el apartado 5.5.3 en este segundo experimento el grupo de las zarzamoras control fue el único que presentó una tasa respiratoria durante 5 de los 12 días de almacenamiento.

Al día 1 las ZC presentaron una tasa respiratoria de 79.73 mgCO₂/Kgh la cual fue 51.48% (79.73 a 38.68) más elevada en contraste al obtenido por este mismo tratamiento en el primer experimento, al día 2 la tasa respiratoria de las zarzamoras de campo incrementó en un 11.16% mientras que del día 3 al día 5 la variación en el porcentaje de CO₂ obtenido fue de



aproximadamente 1.57%. El comportamiento de la respiración de las ZC en este experimento fue diferente al mostrado con el primer experimento, ya que se observó un paulatino descenso de la tasa respiratoria de los tres tratamiento mostrados con respecto a los días de almacenamiento, mientras que en este segundo experimento la respiración de las ZC se mantuvo en ascenso durante los primeros 3 días mientras que en los dos restantes se mantuvo más o menos constante con una variación del 3.44% para finalmente dejar de respirar al día 6 mientras que en el primer experimento las zarzamoras control dejaron de respirar un día antes con respecto a las zarzamoras empleadas para esta repetición y las zarzamoras recubiertas dos días en comparación con los resultados obtenidos en esta repetición.

Estadísticamente existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) del día 5 hasta el 12, mientras que del día 1 al 4 no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las tasas respiratorias obtenidas por las zarzamoras control.

Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Pastor (2010) quien evaluó recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa su caracterización y aplicación, dicho autor reportó tasas de respiración ascendentes durante 9 días para fresones recubiertos y control la tasa respiratoria más elevada fue de 14% CO₂ en comparación con las zarzamoras la tasa respiratoria de los fresones fue 82.44% menor, aunque como se sabe la tasa respiratoria depende de la naturaleza del fruto estudiado.

Navarro (2007) evaluó el efecto de la composición de recubrimientos a base de hidroxipropilmetilcelulosa y cera de abeja en la calidad de ciruelas, naranjas y mandarinas, reportó porcentajes de CO₂ para ciruelas cv “Angelano” de 25 a 38 para el control con variaciones de 5.76% durante 8 días de almacenamiento, mientras que las recubiertas con HPMC presentaron una tasa respiratoria de 13 a 18% CO₂ la cual fue en comparación con la obtenida para las zarzamoras de campo un 76.42% menor, aunque el comportamiento fue muy similar con el obtenido esta investigación durante el segundo experimento.

La respiración, como proceso fisiológico fundamental en la degradación y síntesis de metabolitos en el fruto, requiere como sustrato principal el oxígeno, que se ve disminuido por la barrera física que ejercen los recubrimientos comestibles. Por tanto, cabe esperar que su aplicación reduzca la tasa respiratoria del fruto, prolongando así su vida útil (Márquez *et*



al., 2009). Algunos investigadores han encontrado que la tasa de respiración de diferentes frutos disminuye con la aplicación de recubrimientos comestibles, lo que se vio reflejado en los resultados obtenidos ya que sólo las zarzamoras de campo respiraron mientras que las recubiertas no presentaron ningún porcentaje de CO₂ durante su almacenamiento. La efectividad de los recubrimientos depende de la barrera al oxígeno que los mismos ejerzan.

5.6.4. Parámetros químicos

5.6.4.1. Determinación de capacidad antioxidante

Los antioxidantes son un conjunto heterogéneo de sustancias formadas por vitaminas, minerales, pigmentos naturales (carotenoides, polifenoles, etc), otros compuestos vegetales y enzimas, que bloquean el efecto dañino de los radicales libres. El término antioxidante significa que impide la oxidación perjudicial de otras sustancias químicas, ocasionadas en las reacciones metabólicas o por factores exógenos (Salmerón, 2010).

Rubus es uno de los géneros más diversos de plantas y se distribuye en todo el mundo, la diversidad de este género se manifiesta en la gran variedad de frutos y su pigmentación. Los frutos de las especies del género *Rubus* contienen compuestos fenólicos a los cuales se les reconoce como agente quimiopreventivos, las antocianinas entran en este grupo, se ha encontrado una gran variación en el contenido de antocianinas así como en la capacidad antioxidante (Martínez-Cruz *et al.*, 2011). Dicha actividad antioxidante ha sido relacionada con el contenido de antocianinas y fenoles totales de moras de diversos genotipos de *Vaccinium L.*, *Rubus L.*, y *Ribes L.* Las zarzamoras, que pertenecen al género *Rubus spp*, son fuente significativa de fenoles en la dieta humana, las cuales tienen un gran potencial antioxidante (Leyva, 2009).

Así mismo las frutas rojas y bayas como las fresas, arándanos y zarzamoras son consumidas a nivel mundial en fresco y en forma de productos procesados, tales como zumos, confituras, frutas desecadas, helados, etc. Estas frutas constituyen una de las principales fuentes de compuestos fenólicos, especialmente ácidos benzoicos y cinámicos, antocianos, flavonoles, catequinas y taninos, compuestos que permaneces presentes también en los productos elaborados a partir de las mismas (García-Alonso *et al.*, 2002).



Los tratamientos que no fueron infectados al día 0 presentaron valores promedios de 29 a 34 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$ observándose una tendencia descendente de la capacidad antioxidante al igual que para los tratamientos infectados aunque en menor proporción, por ejemplo, para el grupo de las zarzamoras de campo su capacidad antioxidante disminuyó en un 35.97% (29.99 a 19.2) del día 0 al 12 de almacenamiento, para las zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto la capacidad antioxidante se perdió en un 58.95% (33.65 a 13.85) con el transcurso de los días mientras que las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen la capacidad antioxidante disminuyó en un 23.49% (33.84 a 25.89) (Figura 62A).

En el día 0 los tratamientos que fueron infectados presentaron valores de 33.07 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$ para las zarzamoras tratadas con recubrimiento sin extracto las cuales presentaron una capacidad antioxidante 23.43% (33.07 a 25.32) mayor con respecto al grupo de zarzamoras control infectadas. Por otro lado las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron el valor más elevado con un valor del 26.64% (45.08 a 33.07) mayor con respecto a las zarzamoras tratadas con recubrimiento sin extracto (Figura 62B).

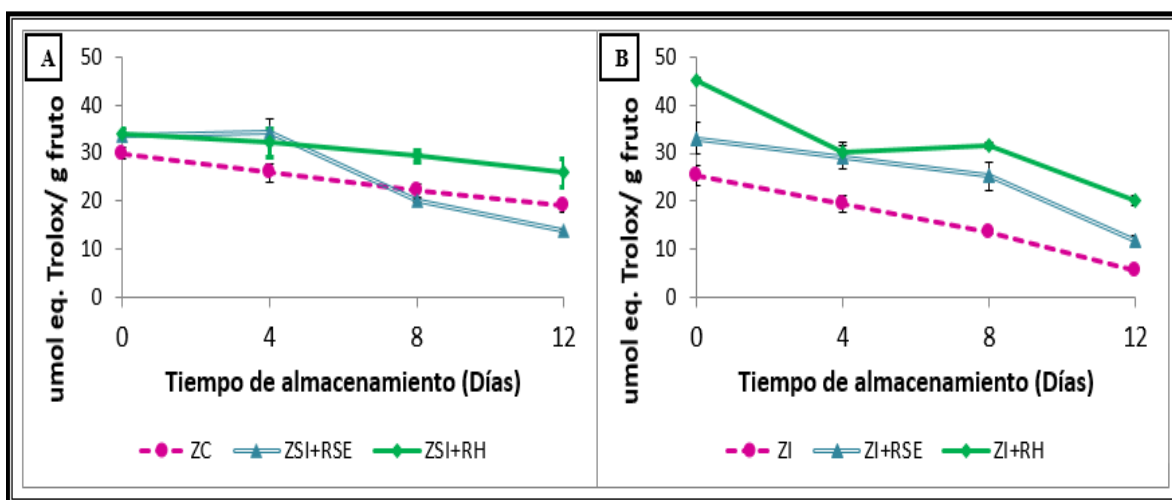


Figura 62. Capacidad antioxidante de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zarzamoras sin infectar (B) Zarzamoras infectadas. Donde: ZC, ZSI, ZI, RSE, RH. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



Con el transcurso de los días se observó un comportamiento descendente en la capacidad antioxidante de los tratamientos infectados, para el grupo control de zarzamoras infectadas se presentó una disminución de la capacidad antioxidante del 77.96% (25.32 a 5.58) en el día 12 en relación al día 0 mientras que para las zarzamoras tratadas con recubrimiento sin extracto la capacidad antioxidante disminuyó en un 64.37% (33.07 a 11.78) lo que demostró que la aplicación del recubrimiento ayudó a que los compuestos fenólicos permanecieran por más tiempo en las zarzamoras por lo que incrementó la capacidad antioxidante de las mismas a pesar del transcurso del tiempo. Finalmente las zarzamoras infectadas que fueron tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen al día 12 obtuvieron una capacidad antioxidante de 20.28 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$ lo que representó una pérdida de capacidad antioxidante del 55.01% (45.08 a 20.28) al día 0.

Estadísticamente en el día 0 y 4 no se presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos infectados aunque para el día 8 y 12 existieron diferencias significativa ($p \leq 0.05$) entre las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen y las tratadas con recubrimiento sin extracto así como las zarzamoras control infectadas, ya que las primeras presentaron la capacidad antioxidante más elevada con respecto a los otros tratamientos en los periodos de tiempo antes mencionados.

Como se observa en la Figura 62, las zarzamoras que fueron infectadas como las que no fueron infectadas y que fueron tratadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron las menores pérdidas de capacidad antioxidante en comparación a los otros tratamientos lo que pudo deberse a dos factores importantes, el primero fue la formulación del recubrimiento ya que la capacidad de las películas comestibles para retardar la humedad, el oxígeno, aromas y el transporte de soluto muchas de las veces es mejorada mediante la inclusión de aditivos tales como antioxidantes, antimicrobianos, colorantes, saborizantes, entre otros (Ponce *et al.*, 2008) ya que no fueron los mismos resultados obtenidos para las zarzamoras con recubrimiento sin extracto y las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen por lo que la formulación del recubrimiento fue un factor a considerar para los resultados obtenidos en este parámetro. El segundo factor fue la adición del extracto etanólico de Hoja Sen ya que los extractos de plantas son los principales responsables para las actividades de los antimicrobianos en las



plantas, hierbas y especias. Los compuestos de la planta, incluyen glucósidos, saponinas, taninos, alcaloides, orgánica ácidos y otros, que a su vez están presentes como parte del sistema de defensa de la planta contra la infección microbiana y constituyen principalmente el 85% de los extractos vegetales siendo el porcentaje restante conformado por otros componentes por lo general a nivel de trazas (Tajkarimi *et al.*, 2010). Dichos compuestos polifenólicos son los causantes de la actividad antioxidante de los extractos vegetales por lo que al ser adicionado el extracto etanólico de Hoja Sen al recubrimiento y al ser aplicado éste en las zarzamoras incrementó la capacidad antioxidante de las mismas, presentando además los valores más elevados al inicio y final del almacenamiento tanto para tratamientos infectados como sin infectar.

Al igual que para los tratamientos infectados los tratamientos no infectados en el día 0 y 4 no se presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre los diversos tratamientos aunque para el día 8 y 12 existieron diferencias significativa ($p \leq 0.05$) entre las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen y las tratadas con recubrimiento sin extracto así como las zarzamoras de campo, ya que el tratamiento con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen presentó la capacidad antioxidante más elevada en relación a los otros tratamientos en los días 8 y 12.

Los resultados obtenidos para este parámetro coincidieron con los reportados por Acosta-Montoya *et al.* (2010) quienes evaluaron el contenido de fenoles y capacidad antioxidante de zarzamora durante tres estados de madurez, Koca y Karadeniz (2009) quienes evaluaron las propiedades antioxidantes de zarzamora y mora azul crecidas en la región del Mar Negro de Tuquía, Peña-Varela *et al.* (2006) quienes evaluaron el contenido de antocianinas totales y actividad antioxidante en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus* L.) con diferentes estado de madurez y García-Alonso *et al.* (2002) quienes evaluaron las propiedades antioxidantes en concentrados de uva y frutos rojos; la diferencia entre los valores obtenidos en dichas investigaciones y los obtenidos en este proyecto variaron aproximadamente ± 30.33 a 42.8% lo que se debió principalmente al método analítico empleado para la determinación de la capacidad antioxidante ya que la capacidad antioxidante total de la muestra viene determinada por interacciones sinérgicas entre diferentes compuestos antioxidantes, así como por el modo de acción concreto de cada uno de ellos, por lo que es necesario utilizar



procedimientos adecuados en la extracción de antioxidantes y en la medida de capacidad antioxidante (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto, 2007), debido a lo anterior pueden existir variaciones importantes en los resultados obtenidos dependiendo del método empleado, por otro lado la variedad de zarzamora estudiada fue un factor que provocó diferencias en los resultados analizados ya que la variedad de esta frutilla es de vital importancia en la composición de la misma.

En contraste, los resultados obtenidos en las investigaciones realizadas por Martínez-Cruz *et al.* (2011) quienes determinaron la concentración de antocianinas y actividades anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltldl (zarzamora), Palomo *et al.* (2010) quienes evaluaron el efecto antioxidante de frutos y hortalizas de la región central de Chile, Wu *et al.* (2010) quienes determinaron los efectos del almacenamiento refrigerado y tecnologías de procesamiento sobre los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de zarzamoras cv “Marion” y “Evergreen” y Salmerón (2010) quien evaluó los compuestos polifenólicos y potencial antioxidante de frutos de zarzamora silvestre (*Rubus* spp.) colectados en Michoacán, difirieron con los obtenidos para las zarzamoras (*Rubus frocticosus*) empleadas en esta investigación, los datos bibliográficos fueron aproximadamente 60% mayores con respecto a los obtenidos experimentalmente durante el desarrollo de este proyecto.

Diversos autores han encontrado que el contenido de polifenoles y antocianinas influyen directamente en la capacidad antioxidante, además de que el grado de polimerización de los polifenoles tiene un marcado efecto sobre la actividad antioxidante. Así, los compuestos polimerizados son más potentes como antioxidantes que los monómeros. Por otro lado, el potencial antioxidante también está influenciado por el número y la posición de grupos OH en la estructura fenólica (Salmerón, 2010).

El contenido en compuestos antioxidantes de frutas y hortalizas y, por tanto, su capacidad antioxidante asociada, se puede ver afectado por factores fisiológicos, como la maduración, así como por factores tecnológicos, como las condiciones de conservación y procesado. Por tanto, es necesario poseer métodos optimizados para la determinación de capacidad antioxidante en estos productos y evaluar su evolución a lo largo de los distintos procesos postcosecha (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto, 2007) ya que por lo general se pierden



cantidades importantes de compuestos polifenólicos lo que se ve reflejado en una disminución de la capacidad antioxidante de los frutos con el transcurso del tiempo.

5.6.4.2. Determinación de antocianos

Las antocianinas son pigmentos que dan lugar a los colores de azules a rojos observados en muchos frutos rojos y flores. Hoy en día hay un interés creciente en el uso de antocianinas en los alimentos funcionales y en la industria nutraceútica, actualmente se han reportado diversos beneficios potenciales para la salud como son la disminución de enfermedades coronarias, mejora visual, funcionan como anticancerígenos, antimutagénicos y antiinflamatorios. Muchos de estos beneficios a la salud han sido atribuidos a las propiedades antioxidantes de las antocianinas (Elisia *et al.*, 2007). Las especies del género *Rubus* (zarzamoras, grosellas, frambuesas, entre otras) se han descrito como fuentes naturales de antocianinas como son la cianidina-3-glucósido y en algunos casos glucósidos de pelargonidina (Leyva, 2009).

Las antocianinas son importantes para la industria alimentaria, siendo considerado como reemplazos potenciales de colorantes alimentarios sintéticos y en la nutrición humana o como agente protector contra algunas enfermedades. Estudios previos han informado de la influencia de la madurez, condiciones de almacenamiento y tratamiento postcosecha en el contenido de antocianinas totales, fenólicos, antioxidantes y propiedades en frutos de zarzamora (Acosta-Montoya *et al.*, 2010).

En la Figura 63 se muestran los resultados obtenidos con respecto a la concentración de antocianinas en zarzamoras (contenido representado principalmente por el antociano cianidina-3-glucósido) con los diferentes tratamientos con respecto al tiempo de almacenamiento.

Las zarzamoras sin infectar con recubrimiento sin extracto y las zarzamoras de campo presentaron una concentración de antocianinas de 43.20 y 41.42 mg/ 100 g respectivamente mientras que para las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen la concentración de antocianos fue mayor en comparación a los otros dos tratamientos con un valor de 47.36 mg/ 100 g (Figura 63A).



Comenzando con los tratamientos sin infectar se puede distinguir las zarzamoras que conformaron el grupo control ya que fue el único tratamiento que presentó un comportamiento ascendente durante los días 4 y 8 para finalmente en el día 12 obtener la concentración de antocianos más baja durante todo el almacenamiento, la concentración de antocianos del día 0 al 12 disminuyó en un 15.69% (41.42 a 34.92) alcanzando el valor más alto en el día 4 con una concentración de 74.44 mg/ 100 g. Mientras que el tratamiento conformado por zarzamoras con recubrimiento sin extracto presentaron una disminución en la concentración de antocianos del 19.74% (43.2 a 34.67) del día 0 al día 12 presentando el punto más elevado al día 8 con un aumento del 24.81% (43.2 a 57.46) con respecto al valor obtenido en el día 0. Finalmente el tratamiento de zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentó una pérdida de antocianos del 16.82% (47.36 a 39.39) manteniendo un comportamiento descendente durante los 12 días de almacenamiento.

De acuerdo al análisis estadístico durante los doce días de almacenamiento existieron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tres tratamientos estudiados, aunque en el día 0 y 12 las zarzamoras sin infectar con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron los valores más elevados provocando una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a las zarzamoras de campo y a las tratadas con recubrimiento sin extracto.

En el día 0 se observan los tratamientos infectados con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen y con recubrimiento sin extracto con una concentración de zarzamoras de 63.08 y 61.50 mg/ 100 g respectivamente mientras que el grupo control infectado presentó una concentración inicial de antocianos 31% menor con respecto a la obtenida por las zarzamoras infectadas con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen (Figura 63B).

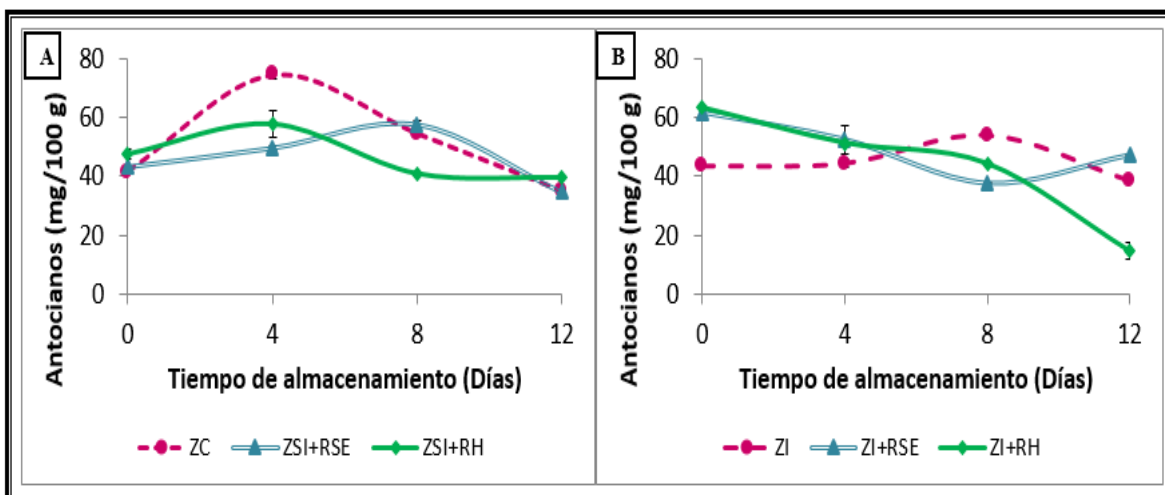


Figura 63. Contenido de antocianos de las zorzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Zorzamoras sin infectar (B) Zorzamoras infectadas. Donde: Zorzamora de campo (ZC), Zorzamora sin infectar (ZSI), Zorzamora infectada (ZI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Los tratamientos infectados formados por zorzamoras con recubrimiento sin extracto y zorzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen comenzaron con una concentración de antocianos muy similar con una diferencia entre ellos del 2.50%. Específicamente las zorzamoras con recubrimiento sin extracto perdieron antocianos en un 23.46% (61.5 a 47.07) del día 0 al último día de almacenamiento, mientras que las zorzamoras control infectadas perdieron 52.21% menos antocianos que el tratamiento anterior. Por su parte las zorzamoras con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen presentaron la mayor pérdida de antocianos con una disminución de la concentración final con respecto a la inicial del 76.9% (63.08 a 14.57).

Estadísticamente existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos estudiados al día 0, 8 y 12, por el contrario al día 4 no se presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos considerados para este parámetro.

Tanto en los tratamientos sin infectar como en los infectados se observó una pérdida de antocianos de las zorzamoras lo que se reflejó como un comportamiento descendente.

De acuerdo a los resultados reportados por Martínez-Cruz *et al.* (2011) quienes determinaron la concentración de antocianinas y actividades anti radicales libres de *Rubus adenotrichus*



Schltdl (zarzamora), Rodríguez-García *et al.* (2010) quienes evaluaron las propiedades fisicoquímicas y funcionales de jugo obtenidos mediante tratamiento enzimático en zarzamora comercial (*Rubus spp.*) del estado de Michoacán, Wu *et al.* (2010) quienes determinaron los efectos del almacenamiento refrigerado y tecnologías de procesamiento sobre los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de zarzamoras cv “Marion” y “Evergreen”, Salmerón (2010) quien evaluó los compuestos polifenólicos y potencial antioxidante de frutos de zarzamora silvestre (*Rubus spp.*) colectados en Michoacán, Leyva (2009) quien determinó la concentración de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora, Elisia *et al.* (2007) quienes evaluaron la capacidad antioxidante del extracto de zarzamora enriquecida con antocianinas, Peña-Varela *et al.* (2006) quienes evaluaron el contenido de antocianinas totales y actividad antioxidante en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus* L.) con diferentes estado de madurez y Lohachoompol *et al.* (2004) quienes evaluaron el cambio total de antocianinas en moras azules y su efecto antioxidante después de la deshidratación y congelación; ninguno de los resultados reportados en la bibliografía citada concuerdan con los obtenidos durante esta experimentación ya que los resultados más elevados (100-500 mg/ 100 g) difieren hasta en un 88.65% de los obtenidos para este parámetro en la realización de este proyecto mientras que para los valores menores (5-10 mg/ 100 g) la diferencia es del 83.66% menor con respecto a los resultados en zarzamoras cv. Cherokee.

Las diferencias entre los valores encontrados en la literatura y los obtenidos en el presente proyecto pudieron deberse a la variedad de zarzamora empleada para cada estudio ya que la inducción de síntesis de antocianinas requiere de una alta intensidad de luz, ello está asociado con la estación del año y condiciones de desarrollo de la planta. La acumulación de antocianinas se estimula cuando condiciones ambientales o cambios de desarrollo propician que la planta sea más sensible. Las temperaturas ejercen una fuerte influencia en la acumulación de antocianinas, de tal manera que la síntesis de estos compuestos se induce cuando la planta es expuesta a temperaturas por debajo del óptimo así como a periodos cortos con bajas temperaturas o largos periodos estacionales, por el contrario, las altas temperaturas reducen la síntesis y ello se asocia con la pérdida neta de pigmentos.



Estudios recientes han demostrado que la síntesis de antocianinas estaban fuertemente influenciada por el genotipo, así como del ambiente en el que se desarrolló la planta (Salmerón, 2010); además otro factor que pudo ser atribuido a estas diferencias fue el grado de eficiencia de los solventes utilizados para la extracción de la muestra, ya que a pesar de que la técnica empleada fue la misma no siempre la extracción se realizó bajo las mismas condiciones. Por último también se consideró como factor que pudo modificar los resultados el tratamiento postcosecha realizado a los frutos estudiados ya que algunos fueron congelados, deshidratados, recubiertos, etc, por lo que siendo las antocianinas sensibles a cambios de luz, temperatura, pH, acidez y demás pudo afectarse la concentración de dichos pigmentos en las zarzamoras.

En relación al comportamiento observado en la Figura 63 Wang y Xu (2007) en su investigación sobre la cinética de degradación de antocianinas en jugo y concentrado de zarzamora demostraron que el contenido de antocianinas disminuyó en mayor o menor grado dependiendo de la temperatura y tiempo de almacenamiento, además reportaron que las constantes de velocidad de degradación respondieron a una reacción de primer orden, a pesar de que los resultados obtenidos no reflejaron completamente una tendencia definida de reacción de primer orden, el comportamiento es muy similar a dicha cinética de degradación aunque con algunas excepciones.

Cabe recordar que las antocianinas son colorantes naturales que pertenecen a la familia de los flavonoides por lo que son pigmentos solubles en agua, esta característica favoreció que los tratamientos infectados presentaran pérdidas de coloración más significativas con respecto a los tratamientos sin infectar ya que los infectados perdieron porcentajes de líquidos considerables con respecto a los tratamientos sin infectar por lo que en ese líquido perdido también se encontraba en mayor o menor proporción concentraciones de antocianinas de acuerdo a la eficiencia de cada tratamiento. Como consecuencia a lo anterior a partir del día 8 se podían observar a las zarzamoras con una coloración opaca o disminuida con respecto al día 4 y principalmente al día 0. La aplicación del recubrimiento en tratamientos sin infectar benefició aproximadamente en un 2% la retención de pigmentos naturales de las zarzamoras en el transcurso del almacenamiento refrigerado promoviendo una mejor apariencia debida a la coloración uniforme y característica de la zarzamora.



5.6.5. Determinación de parámetros sensoriales

La evaluación sensorial de las zarzamoras tuvo la finalidad de obtener resultados e interpretaciones en relación a las características brindadas o incrementadas por el recubrimientos comestible durante el almacenamiento (Hernández, 2005), los resultados se reflejaron en la aceptación o rechazo por el consumidor según el tratamiento evaluado.

Las zarzamoras tratadas con recubrimiento a base de CMC adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen como sin extracto fueron evaluados en sus características sensoriales que permitieron la identificación de algunos atributos como: apariencia visual, intensidad de color, olor, olores extraños, sabor, textura y calificación global.

En la Figura 64A se observan los resultados obtenidos para los tratamientos no infectados en el día 0 en donde los panelistas percibieron una diferencia entre las zarzamoras de campo y las zarzamoras con recubrimiento sin extracto con respecto a las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen para la “apariencia visual” de las mismas para la cual estas últimas presentaron una calificación de “muy buena”. El análisis estadístico este atributo fue el único que presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los distintos tratamientos estudiados mientras que para los atributos restantes no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el día 0.

La Figura 64B muestra los resultados obtenidos en el día 12 en donde se percibió diferencia para los atributos de “apariencia visual” y “textura” en las zarzamoras de campo y las zarzamoras con recubrimiento sin extracto, mientras que las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen, obtuvieron las calificaciones más elevadas en contraste con los otros tratamientos; en relación a la “apariencia visual” las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen fueron calificadas por el consumidor como “buenas”, mientras que el lote de zarzamoras con recubrimiento sin extracto fueron “aceptables como límite de consumo” y finalmente las zarzamoras de campo fueron las más afectadas en este atributo ya que el panelista las calificó con valores que en la escala fueron acreedores a ser calificados como “malas”. Por su parte la “textura” para las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen fueron



merecedoras de una calificación de “aceptables como límite de consumo” mientras que los tratamientos restantes fueron calificados como “blandas”.

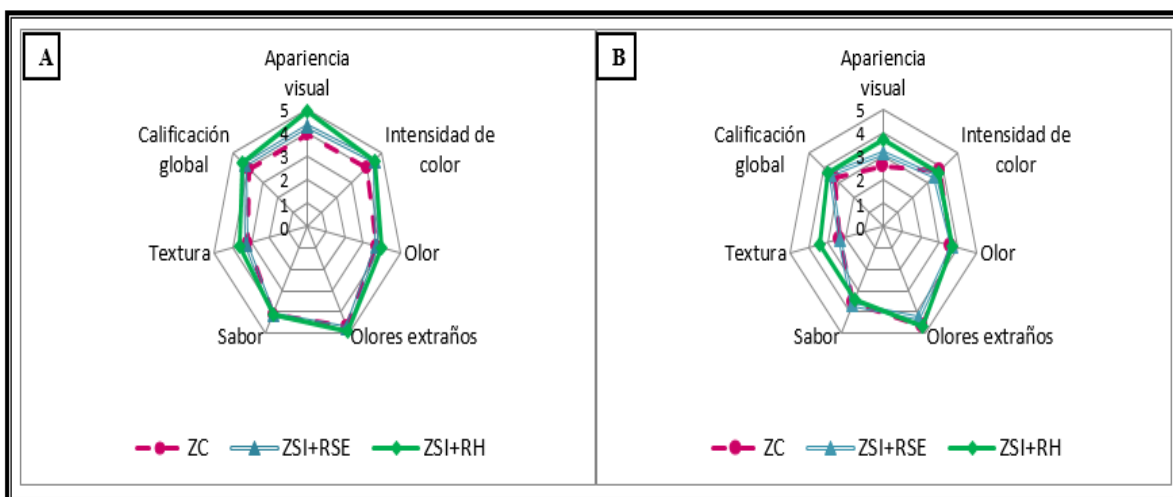


Figura 64. Perfiles sensoriales de las zarzamoras recubiertas con carboximetilcelulosa 0.5% con y sin extracto etanólico de Hoja Sen a 3000 ppm (A) Día 0 (B) Día 12. Donde: Zarzamora de campo (ZC), Zarzamora sin infectar (ZSI), Recubrimiento sin extracto (RSE), Recubrimiento con extracto de Hoja Sen (RH). Las barras verticales representan \pm desviación estándar. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Estadísticamente los atributos anteriormente mencionados presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las zarzamoras de campo y las zarzamoras con recubrimiento sin extracto con respecto a las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen mientras que para los atributos restantes tales como “intensidad de color”, “olor”, “olores extraños”, “sabor” y “calificación global” no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el día 12.

Durante el almacenamiento la “apariciencia visual” del grupo control decayó un 33.33% (3.9 a 2.6) del día 0 al 12, mientras que para el tratamiento formado con zarzamoras con recubrimiento sin extracto la “apariciencia visual” declinó en un 27.44% (4.3 a 3.12) como se observa en los resultados obtenidos para este parámetro las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen presentaron el menor decaimiento en la “apariciencia visual” con una diferencia del 24.48% (4.9 a 3.7) menor con respecto al tratamiento anterior.



La pérdida de textura para las zarzamoras control fue del 28.12% (3.2 a 2.3) del día 0 al 12, para el lote de zarzamoras con recubrimiento sin extracto la diferencia en la textura del inicio al final del almacenamiento fue del 30.30% (3.3 a 2.3), mientras que para las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto de Hoja Sen la diferencia fue de tan sólo el 5.55% (3.6 a 3.4).

Los resultados coincidieron con los reportados por González-Olmos y Guzmán-Morfín (2011) quienes evaluaron el efecto de películas comestibles formuladas a base de alginato y gretina en la vida útil del mango cortado listo para consumir ya que las propiedades sensoriales que se afectaron más durante el almacenamiento fueron “textura”, “firmeza” y “sabor” para el final del almacenamiento (día 15) el grupo control fue el más afectado por lo que fue calificado por los panelistas como “desagradable”, mientras que los mangos recubiertos fueron “ni agradable ni desagradable”, este comportamiento fue muy parecido al exhibido por las zarzamoras para este parámetro.

Por el contrario los resultados reportados por Navarro (2007) quien evaluó el efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa y cera de abeja en calidad de ciruelas, naranjas y mandarinas, difirieron completamente ya que en dicha investigación se reportó que la evaluación organoléptica de atributos de “sabor” y “textura” en ciruelas cv Angelano no se vieron afectadas a lo largo del almacenamiento, ya que no se presentaron diferencias significativas y además no fueron detectadas diferencias en el análisis organoléptico por los panelistas.

La pérdida de “textura” en las zarzamoras de campo como en las recubiertas se encuentra relacionada con otros parámetro como son la liberación de líquido y pérdida de peso, ya que de acuerdo a lo expuesto anteriormente las zarzamoras que fueron recubiertas obtuvieron valores más bajos con respecto a los obtenidos para el control, mientras que la adición de extracto favoreció las características mecánicas del recubrimiento brindando una mayor elasticidad y flexibilidad (Pastor, 2010), por lo que la presión ejercida sobre la superficie del fruto mantuvo por más tiempo la estructura inicial provocando que la textura en las zarzamoras con recubrimiento adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen lograra afectarse menos en comparación con los otros tratamientos.



La “apariencia visual” a su vez se encontró relacionada con el índice de decaimiento y el proceso natural de senescencia en las zarzadoras ya que conforme el tiempo de almacenamiento avanzaba se podían observar arrugamiento del pericarpio de la zarzadora, en algunos casos pérdida de color y ruptura de drupeolas por daño mecánico el cual se asoció a la debilidad del tejido del fruto, haciendo que algunas de estas características fueran calificadas por los panelistas con valores bajos rechazándolas como frutos viables para su consumo.



Conclusiones



6. CONCLUSIONES

En referencia a los resultados obtenidos en el presente proyecto se concluye lo siguiente:



El uso de CMC y maltodextrina a sus diferentes concentraciones permitieron la formación de películas comestibles modelo, encontrándose que la carboximetilcelulosa presentó mejores características para la elaboración de películas que puedan ser aplicadas a frutos debido a que mostró mayor transparencia y menor permeabilidad al vapor de agua que la maltodextrina.



La utilización de los distintos extractos etanólicos obtenidos de plantas del desierto mexicano como agentes antimicrobianos resultó ser efectiva en la inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis cinerea*, presentando porcentajes de inhibición de 30 hasta 100%, siendo los extractos etanólicos de Hoja Sen y Sangre de Drago a 3000 ppm los que presentaron los mejores resultados en las pruebas *in vitro*.



Los extractos acuosos de Orégano, Sangre de Drago y Hoja Sen presentaron porcentajes de inhibición menores hasta en un 45% en comparación con los extractos etanólicos y la utilización de la planta de Hoja Sen fue más efectiva con respecto a Orégano y Sangre de Drago en las tres concentraciones evaluadas.



Los prototipos de recubrimiento presentaron un comportamiento similar al exhibido por los propios extractos durante las pruebas *in vitro*, tanto en matriz de carboximetilcelulosa como de maltodextrina dichos extractos presentaron los mayores porcentajes de inhibición contra el hongo *Botrytis cinerea*, siendo el envase activo de carboximetilcelulosa 0.5% adicionada con extracto etanólico de Hoja Sen (3000 ppm) el de mayor poder antifúngico.



La aplicación del envase activo a base de carboximetilcelulosa 0.5% adicionado con extracto etanólico de Hoja Sen (3000 ppm) a zarzamoras sin infectar ayudó a controlar los



parámetros como: la pérdida de peso, índice de decaimiento, liberación de líquido, disminución de la capacidad antioxidante y de antocianos en comparación con las zarzamoras de campo, mientras que en zarzamoras infectadas la aplicación de esta tecnología controló dichos parámetros en comparación con el control infectado.



Los parámetros sensoriales, color, fisicoquímicos (sólidos solubles, pH, acidez titulable) y respiración no fueron afectados por la aplicación del recubrimiento.



La aplicación de envases activos a base de carboximetilcelulosa 0.5% adicionado con extracto etanólicos de Hoja Sen (3000 ppm) es una opción tecnológica adecuada para la conservación de esta fruta, aumentando su vida útil.



Recomendaciones



7. RECOMENDACIONES

Con base a los resultados explicados anteriormente se recomienda lo siguiente:



Evaluar el efecto del recubrimiento comestible en otras variedades de zarzamora o de diferentes procedencias.



Evaluar otra matriz y/o concentración de recubrimiento comestibles como la goma xantana, quitosano, mucílago o suero de proteína.



Evaluar distintas concentraciones de los aditivos formadores de los recubrimientos comestibles (surfactante, plastificante) ya que influyen de manera importante en las propiedades físicas, mecánicas y de barrera de las películas modelo.



Estudiar otro tipo de agentes antimicrobianos adicionados en un recubrimiento comestible aplicados en zarzamora tales como: aceites esenciales de canela, albahaca, mejorana, menta, romero, valeriana, de flores como el jazmín y rosa, o de cáscaras de algunas frutas como: limón, mandarina, mango o naranja; o en su defecto extractos etanólicos a base de: clavo, tomillo, ajo, yerbabuena o manzanilla.



Determinar la actividad de distintas enzimas como: celulasas, pectin metilesterasas y relacionarlo con los cambios de firmeza en la zarzamora.



Estudiar otros métodos de aplicación del recubrimiento que evite daños a las zarzamorras, principalmente aspersion.



Evaluar distintos métodos experimentales para determinar la capacidad antioxidante de la zarzamora, ya que bibliográficamente existe la posibilidad de una amplia e interesante comparación.



Considerar como una variable los distintos estados de madurez de las zarzamoras.



Realizar un estudio microbiológico más específico sobre el hongo de *Botrytis cinerea* para evaluar el efecto antifúngico de los extractos etanólicos y asegurar por completo la inocuidad del producto.



Estudiar el efecto de los mismos extractos: Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago en el control de hongos postcosecha como: *Colletotrichum*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, etc.



Estudiar el efecto del recubrimiento seleccionado (carboximetilcelulosa 0.5% con extracto de Hoja Sen) en otros frutos.



Referencias



8. REFERENCIAS

1. Acosta-Montoya, O., Vaillant, F., Cozzano, S., Mertz, C., Pérez, A.M., Castro, M.V. (2010). Phenolic content and antioxidante capacity of tropical Highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltzl.) during three edible maturity stages. *Food chemistry*. 119(1): 1497-1501.
2. Aguirre, A., Borneo, R., León, A.E. (2013). Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience*. 9(2): 2-9.
3. Alencastro, C.L.M. (2011). Alternativas ecológicas para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en mora de castilla (*Rubus glaucus* Beth).). Tesis de Ingeniero Agrícola. Escuela Politécnica del Ejército. Sancelquí, Ecuador.
4. Andrade-Cuvi, M.J., Moreno-Guerrero, C., Henríquez-Bucheli, A., Gómez-Gordillo, A., Concellón, A. (2010). Influencia de la radiación UV-C como tratamiento postcosecha sobre carambola (*Averrhoa carambola* L.) mínimamente procesada almacenada en refrigeración. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 11(1): 18-27.
5. AOAC (1990). *Methods of analysis*. 15 th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, D.C.
6. Arcila-Lozano, C.C. Loarca-Piña, G. Lecona-Uribe, S. González, M.E. (2009). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Sociedad Latinoamericana de Nutrición*. 54(1): 26-42.
7. Arévalo, A. (1996). Películas biodegradables a partir de residuos de cítricos: propuesta de empaques activos. *Revista Latinoamericana de Biotecnología*. 26(1): 188-202.
8. Ávila-Rodríguez, H.G., Cuspoca-Riveros, J.A., Fischer, G., Ligarreto-Moreno, G.A., Quicazán de cuenca, M.C. (2007). Caracterización fisicoquímica y organoléptica del fruto de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) almacenado a 2°C. *Revista de la Facultad Nacional Agroalimentaria de Medellín*. 60(2): 4179-4193.



9. Ayranci, E., Tunc, S. (2004). The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris* Lam.) and Green peppers (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*. 87(1): 339-342.
10. Azuola, R., Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Tecnología en Marcha*. 20(4): 30-40.
11. Baquero-Duarte, L.E., Castro-Rivera, J.A., Narváez-Cuenca, C.E. (2005). Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): Maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombiana*. 10(2): 49-59.
12. Barrera, B.E. Gil, L.M. García, P.C.M. Durango, R.D.L. (2012). Empleo de un recubrimiento formulado con propóleos para el manejo postcosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiana). *Revistas Facultad Nacional de Agronomía*. 65 (1): 6497-6506.
13. Benito, P.E., Arraz, M., Eslava, P.A. (2000). Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Revista Iberoamericana de Micología*. 17(1): 43-46.
14. Bifani, V., Ramírez, C., Ihl, M., Rubilar, M., García, A., Zaritzky, N., (2007). Effects of murta (*Ugni molinae* Turcz) extract on gas and water vapor permeability of carboxymethylcellulose-based edible films. *LWT*. 40(1): 1473-1481.
15. Bleoju, M. (2007). Estudio de estabilidad y algunas propiedades tecnológicas de pigmentos sintetizados por *Epicoccum nigrum*. Tesis de maestría en seguridad y biotecnología alimentaria. Universidad de Burgos. Burgos, España.
16. Bósquez, M.E. (2003). Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka). Tesis para obtener el título de ingeniero en alimentos. Universidad Autónoma Metropolitana, ciudad de México, México.
17. Bolda, M., Koike, S. (2012). A treatise on *Botrytis* diseases of strawberry and cranberry. *Postharvest Biology and Technology*. 52(1): 80-91.
18. Caamal-Herrera, I.O. Pereira-Pacheco, F.E. Madera-Santana, T.J. (2011). Caracterización óptica y mecánica de películas comestibles a base de mezclas



- binarias de almidones de *Phaseolus lunatus* L, *Manihot esculenta* Crantz y *Zea mays* L. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 12(1): 100-109.
19. Canales, M. (1999). Físicoquímica: Teoría. Universidad Nacional Autónoma de México. Tomo I. México.
 20. Centurión-Yah, A.R., Solís-Pereira, S., Saucedo-Veloz, C., Báez-Sañudo, R., Sauri-Duch, E. (2008). Cambios físicos, químicos y sensoriales en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatos*) durante su desarrollo. Revista Fitotecnia Mexicana. 31(1): 1-5.
 21. Chana-Thaworn, J., Chanthachum, S., Wittaya, T. (2011). Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceotatum*) extract. LWT- Food Science and Technology. 44(1): 284-292.
 22. Chávez-Díaz, I.I. (2011). Biocontrol de *Rhizopus stolonifer* en frutos de zarzamora (*Rubus fruticosus*) empleando microbiota nativa, asociada a la planta. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en producción agrícola sustentable. Instituto Politécnico Nacional. Michoacán, México.
 23. Chávez-Martínez, O. (2011). Cultivo y manejo de la zarzamora. Tesis de licenciado en biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.
 24. Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J., Zhengfu, W. (2007). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. Ultrasound Sonochemistry, 14(1): 767-778.
 25. Codex Alimentarius (1981). International Food Standards. CODEX STAN 69-1981. Codex standard for quick frozen raspberries. Disponible en: http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/en/?no_cache=1. Fecha de consulta: 03/10/12.
 26. Cuevas-Montilla, E., Antezana, A., Winterhalter, P. (2008). Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. Red-Alfa Lagrotech. 2(1): 79-95.



27. Cosmopolita, droguería (2012). Precios de gomas, espesantes y resinas. Disponible en: <http://www.cosmotienda.com/tienda/gomas-espesantes-resinas-c-13.html>. Fecha de consulta: 13/02/13.
28. Díaz-Narváez, G.C., Pérez-Cabrera, L.E., Hernández-Lozano, L.C., Ramírez-Gómez, M.M. (2010). Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de mucílago de linaza y quitosano y su aplicación para extender la vida útil de fresas. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, México.
29. Dios, A.J. (2001). Métodos para medir propiedades físicas en la industria de alimentos. Acribia, Zaragoza, España.
30. Du, X.F., Kurnianta, A., MacDaniel, M., Finn, C.E., Qian, M.C. (2010). Flavour profiling of “Marion” and thornless blackberries by instrumental and sensory analysis. Food Chemistry. 121(1): 1080-1088.
31. Duan, J., Wu, R., Strick, C.B., Zhao, Y. (2011). Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions. Postharvest Biology and Technology. 59(1): 71-79.
32. Duarte, A.Y., Ramírez, B.M., Zamorano, S.L. (2006). Acción antifúngica del extracto etanólico y sus fracciones de polaridad creciente del epicarpio de lima (*Citrus aurantifolia* Swingle) aplicada a *Botrytis cinerea* y *Monilia fructicola* causantes de la podredumbre gris en la uva (*Vitis vinifera*), y la podredumbre morena en el durazno (*Prunus serótina* Ehrh). GIPA. 2(1): 56-63.
33. Elisia, I., Hu, C., Popovich, D.G., Kitts, D.D. (2007). Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract. Food Chemistry. 101(1): 1052-1058.
34. Figueroa, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R.M., Narváez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación de mango, aguacate y su perspectiva al uso de propóleo en su formulación. Revista Colombiana de Ciencias Agroindustriales. 3(2): 386-400.
35. Fonnegra, G.R (1990). Plantas medicinales probadas en Colombia. 2da edición. Universidad de Antioquia. Colombia.



36. Food and Agricultural Organization (FAO) (2011). Consulta de bases de datos de producción mundial y comercio internacional de zarzamora. Disponible en: <<http://apps.fao.org/faostat>>. Fecha de consulta: 09/09/12.
37. Galet, D.A. (2009). Envases activos que permiten alargar la vida útil de los alimentos. *Generalitat Valenciana*. 3(1): 3-30.
38. Galus, S., Mathieu, H., Lenart, A., Debeaufort, F., (2012). Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 16(1): 148-154.
39. Gamboa-Alvarado, R., Hernández-Castillo, F.D., Guerrero-Rodríguez, E., Sánchez-Arizpe, A., Lira-Saldívar, R.H. (2003). Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de Hoja Sen (*Flourensia cernua* D.C.), Mejorana (*Origanum majorana* L.) y Trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht.]. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21(1): 13-18.
40. García-Alonso, J., Periago, M.J., Vidal-Guevara, M.L., Cantos, E. (2002). Evaluación de las propiedades antioxidantes en concentrados de uva y frutos rojos. *Anales de Veterinaria de Murcia*. 18(1): 103-114.
41. García-Méndez, A.D. (2008). Evaluación de un tratamiento postcosecha de la tecnología IV gama en frutos de moras (*Rubus glaucus* Benth). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 9(1): 43-54.
42. Gennadios, A., Cutis, W.L., Gooding, H.C. (1994). Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*. 21(1): 395-409.
43. Geraldine, R. M., Ferreira, N., Alvarenga, B., Almeida, G., (2008). Characterization and effect of edible coatings on minimally processed garlic quality. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 72(1): 403-409.
44. Gimeno, C.E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM: Farmacia y Sociedad*. 23(6): 80-84.
45. González, M.V. (2010). Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización de aceite esencial de canela (*Cinnamomum zaynalicum*). Tesis para



- obtener el grado de bioquímico farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
46. González-Olmos, M.G., Guzmán-Morfín, I. (2011). Efecto de películas comestibles formuladas a base de alginato y grenetina en la vida útil del mango cortado listo para consumir. Tesis para obtener el título de ingeniero en alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán, Estado de México.
 47. Guerrero-Rodríguez, E., Solís-Gaona, S., Hernández-Castillo, F.D., Flores-olivás, A., Sandoval-López, V., Jasso-Cantu, D. (2007). Actividad biológica in vitro de extractos de *Flourensia cernua* D.C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* Keissl, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* Sacc. Revista Mexicana de Fitopatología. 25(1): 48-53.
 48. Gutiérrez-Avella, D.M., Ortiz-García, C.A., Mendoza-Cisneros, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Centro Nacional de Metrología. 20(1): 12-19.
 49. Habig, M.T., Krochta, M.J. (1994). Sorbitol vs Glycerol plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 42(4): 841-845.
 50. Han, C., Zhao, Y., Leonard, S.W., Traber, M.G. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). 33(1): 67-78.
 51. Hernández, A.E. (2005). Evaluación sensorial. Tesis para obtener el grado de químico en alimentos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá, Colombia.
 52. Jasso de Rodríguez, D., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F.D., Aguilar-González, C.N., Saénz-Galindo, A., Villareal-Quintanilla, J.A., Moreno-Zuccolotto, L.E. (2011). *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan desert plants against postharvest fruit fungi. Industrial Crops and Products. 34(1): 960-966.



53. Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Brulé, G. (2010). Ciencia de los Alimentos. Volumen 2. Acribia S.A., Zaragoza, España.
54. Jiménez, G., Rodríguez, E., Contreras, M., Valbuena, A., Colina, M. (2011). Obtención de carboximetilcelulosa usando *Lemna* como materia prima. Revista Iberoamericana de Polímeros. 12(6): 334-341.
55. Koca, I., Karadeniz, B. (2009). Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. Scientia Horticulturae. 121(1): 447-450.
56. Kocic-Tanackov, S., Dimic, G., Tanackov, I., Pejin, D., Mojovic, L., Pejin, J. (2012). The inhibitory effect of oregano extract on the growth of *Aspergillus* spp. and on sterigmatocystin biosynthesis. LWT-Food Science and Technology. 49(1): 14-20.
57. Kolodziejska, I., Piotrowska, B. (2007). The water vapor permeability, mechanical properties and solubility of fish gelatin-chitosan films modified with transglutaminase or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) and plasticized with glycerol. Food Chemistry. 103(1): 295-300.
58. Leyva, D.E. (2009). Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora. Tesis para obtener el grado de Ingeniero en Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Oaxaca, México.
59. Liu, J., Liang, J., Kan, J., Chang-Hai, J. (2013). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). Food and chemical Toxicology. 51(1): 310-316.
60. Lizcano-Ramón, A.J., Vergara-González, J.L. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales: *Valeriana Pilosa*, *Herperomeles Ferruginea*, *Myrcianthes Rhopaloides* y *Passiflora Manicata* frente a microorganismos patógenos. Tesis para obtener el título de microbióloga industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
61. Lohachoompol, V., Srzednicki, G., Craske, J. (2004). The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 5(1): 248-252.



62. López-Benítez, A. López-Betancourt, S.R., Vázquez-Badillo, M.E. (2005). Inhibición de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend sp. *Lyvopersici* (Sacc) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante extractos vegetales acuosos. Revista Mexicana de Fitopatología. 23(1): 183-190.
63. López-Cruz, I. (2009). Identificación, dinámica poblacional y parasitoides de dos lepidópteros paga de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.) en tres regiones productoras del estado de Michoacán. Tesis para obtener el título profesional de Biólogo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México.
64. Luján, G.C., Martínez, R.A., Ortega, S.J., Castro, B.F. (2010). Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. Revista Química Viva. 9(2): 86-96.
65. Maqbool, M., Chinnan, M.S. (2010). Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. Crop Protection. 21(1): 211-224.
66. Márquez, C.J. Cartagena, V. Pérez-Gago, M.B. (2009). Efecto de los recubrimientos comestibles sobre la calidad en postcosecha del níspero japonés (*Eriobotrya japonica* T.). VITAE. 16(3): 304-310.
67. Martínez-Cruz, N.S. Arévalo-Niño, K. Verde-Star, M.J. Rivas-Morales, C. Oranday-Cárdenas, A. Núñez-González. (2011) Antocianinas y actividades anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltldl (zarzamora). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 42(4): 66-71.
68. Martínez-Flores, S., González-Gallego, J., Culebras, J.M., Tuñón, M.J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. 318(6): 271-278.
69. Mauer, L.J., Smith, D.E., Labuza, T.P. (2000). Water vapor permeability, mechanical, and structural properties of edible β -casein films. International Dairy Journal. 10(6): 353-358.
70. Miranda, S.P., Cárdenas, G., López, D., Lara-Sagahon, A.V. (2003). Comportamiento de películas de quitosán compuesto en un modelo de



- almacenamiento de aguacate. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 47(4): 331-336.
71. Molina, G.S. Rotta, F.M.C. Torres, E. (2004). Incidencia de infecciones quiescentes de *Botrytis cinerea* en flores y frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). *Agronomía Colombiana*. 22(2): 101-109.
72. Moreno, P.M., Martínez, D.T., Reyes, L.D., Peña, L.A., Pérez, A.C. (2006). Intensidad de color y contenido de antocianinas en chile guajillo (*Capsicum annum* L.). *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 12(1): 135-140.
73. Muhammad-Javeed, A., Jacquot, M., Jamshidian, M., Muhammad, I., Arab-Tehrany, E., Desorby, S. (2013). Fabrication and physicochemical characterization of HPMC films with commercial plant extract: Influence of light and film composition. *Food Hydrocolloids*. 31(1): 420-427.
74. Muñoz, R.M., Juárez, R. (2006). El mercado mundial de la frambuesa y zarzamora. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrícola. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
75. Navarrete, G.K. (2009). Aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus frocticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir. Tesis para obtener el título de ingeniero en alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Izcalli. Estado de México.
76. Navarro, T.M. (2007). Efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidropilmetilcelulosa y cera de abeja en la calidad de ciruelas, naranjas y mandarinas. Tesis doctoral de tecnología en alimentos. Universidad politécnica de Valencia. Valencia, España.
77. Ogawa, J.M., Zher, E.I. (2009). Plagas y enfermedades de los frutales de hueso. Grupo Mundi-Prensa. Madrid, España.
78. Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martin-Belloso, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintainsensory quality and antioxidant properties of fresh-cur pears. *Postharvest Biology and Technology*. 50(1): 87-94.
79. Palomo, G.I., Gutiérrez, C.M., Astudillo, S.A., Rivera, S.C., Torres, U. C., Guzmán, J.L., Moore-Carrasco, R., Carrasco, S.G., Alarcón, L.M. (2010).



- Antioxidant effect of fruits and vegetables of central region of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 4(1): 18-28.
80. Parra-Quezada, R.A. Acosta-Rodríguez, G.F. Arreola-Ávila, J.G. (2005). Crecimiento y producción de zarzamora cv. Cheyenne con cubiertas orgánicas. *TERRA Latinoamericana*. 23(2): 233-240.
81. Pascual, A.M.R. (2000). *Microbiología alimentario: metodología analítica para alimentos y bebidas*. 2^{da} edición. Díaz Santos. Madrid, España.
82. Pastor, N.C. (2010). *Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metilcelulosa: caracterización y aplicación*. Tesis para obtener el grado de doctor en ingeniero en alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
83. Peña-Varela, G., Salinas-Moreno, Y., Ríos-Sánchez, R. (2006). Contenido de antocianinas totales y actividad antioxidante en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus* L.) con diferente grado de maduración. *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 12(2): 159-163.
84. Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. (2007). Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. Madrid, España.
85. Petersson, M., Stading, M. (2005). Water vapor permeability and mechanical properties of mixed starch-monoglyceride films and effect of film forming conditions. *Food Hydrocolloids*. 19(1): 123-132.
86. Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M.L., Marques, A. (2013). Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food hydrocolloids*. 30(1): 224-231.
87. Ponce, A.G., Roura, S.I., del Valle, C.E., Moreira, M.R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest Biology and Technology*. 49(1): 284-300.
88. Quilaque-Gutiérrez, M., Echeverría, I., Ihl, M., Bifani, V., Mauri, A.N. (2012). Carboxymethylcellulose-montmorillonite nanocomposite films activated with



- murta (*Ugni molinae* Turcz) leaves extract. Carbohydrate Polymers. 87(1): 1495-1502.
89. Quintero, C.J. Falguera, V. Muñoz, H.A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. Facultad de Ingeniería Agronómica. 5(1): 93-118.
90. Rachtanapun, P., Luangkamin, S., Tanprasert, K., Suriyatem, R. (2012). Carboxymethyl cellulose film from durian rind. LWT-Food Science and Technology. 48(1): 52-58.
91. Ramírez, C., Gallegos, I., Ihl, M., Bifani, V. (2012). Study of contact angle, wettability and water vapor permeability in carboxymethylcellulose (CMC) based film with murta leaves (*Ugni molinae* Turcz) extract. Journal of Food Engineering. 109 (1): 424-429.
92. Ramírez-González, S., López-Báez, O., Guzmán-Hernández, T., Munguía-Ulloa, S., Espinosa-Zaragoza, S. (2011). Actividad antifúngica *in vitro* de extractos de *Origanum vulgare* L., *Tradescantia spathacea* Swartz y *Zingiber officinale* Roscoe sobre *Moniliophthora roreri* (Cif & Par) Evans. Tecnología en marcha. 24(2): 3-17.
93. Ramos-García, M.L. Butista-Baños, S. Barrera-Necha, L. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. Revista Mexicana de Fitopatología. 44(1): 44-57.
94. Raybaudi-Massilia, R.M., Mosqueta-Melgar, J., Martín-Belloso, O. (2008). Edible alginate-based coatings as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melón. International Journal of Food Microbiology. 121(1): 313-327.
95. Rebordinos, L., Vallejo, I., Santos, M., Collado, G.I., Carbú, M., Cantoral, J.M. (2004). Análisis genético y relación con patogenicidad en *Botrytis cinerea*. Revista Iberoamericana de Micología. 21(1): 47-42.
96. Restrepo, F.J. Aristizábal, T. Iván D. (2010). Conservación de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch cv Camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca de sábila (*Aloe barbadensis* miller) y



- cera de carnúba. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. 3(17): 252-263.
97. Rodríguez-García, M.A., Guzmán-Maldonado, S.H., Andrade-Esquivel, E., Hernández-López, D. (2010). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de jugo obtenidos mediante tratamiento enzimático en zarzamora comercial (*Rubus spp.*) del estado de Michoacán. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, México.
 98. Rodríguez-Pérez, M.A., Hernández-Rojas, L.A., Madrigal-Ambriz, L.V., García, D.E., Vázquez-Galindo, J., Velasco-Villalpando, S. (2010). Evaluación de antocianinas de la zarzamora (*Rubus eubatus*) en fruta y en conserva. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, México.
 99. Rojas-Graü, M.A., raybaudi-Massilia, R.M., Soliva-Fortuny, R.C., Avena-Bustillos, R.J., McHugh, T.H., Martín-Belloso, O. (2007). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*. 45(1): 254-264.
 100. Rossi, D., Guerreni, A., Maietti, S., Bruni, R., Paganetto, G., Poli, F., Scalvenzi, L., Radice, M., Saro, K., Sacchetti, G. (2011). Chemical fingerprinting and bioactivity of Amazonian Ecuador *Croton lechleri* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) stem bark essential oil: A new functional food ingredient? *Food Chemistry*. 126(1): 837-848.
 101. Ruíz, R.J.O. (2004). Caracterización reológica de emulsiones aceite en agua (O/W) estabilizadas con goma de mezquite y quitosano y su efecto en la permeabilidad de películas comestibles. Tesis de maestría en ciencias. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México, México.
 102. Saavedra, N.H., Algecira, N.A. (2010). Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. *NOVA*. 14(8): 171-182.
 103. Salmerón, S.B. (2010). Evaluación de compuestos polifenólicos y potencial antioxidante de frutos de zarzamora silvestre (*Rubus spp.*) colectados en Michoacán. Tesis para obtener el título de ingeniero agrónomo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México.



104. SE (2012). Secretaría de Economía. Industria y comercio. Disponible en: <http://www.economia.gob.mx/comunidad-negocios/industria-y-comercio>. Fecha de consulta: 09/12/12.
105. Secretaria de Desarrollo Rural (2008). Zanzamora: Perfil comercial. Disponible en: <http://www.secretdesarrural.gob.mx/perfil-comerci/industria-y-comercio>. Fecha de consulta: 11/08/12.
106. SENASA (2012). Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. DF 64/90. Normas de calidad para frambuesa fresca (*Rubus idaeus* L.). Disponible en: <http://www.senasa.gov.ar/seccion.php?in=10> Fecha de consulta: 23/10/12.
107. SIAP/SAGARPA (2012). Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Resumen nacional de producción agrícola de zanzamora. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350. Fecha de consulta: 13/11/13.
108. Siriwoharn, T., Wrolstad, R.E., Finn, C.E., Pereira, C.B. (2004). Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus* L. Hybrids) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(1): 8021-8030.
109. Sorian, C., Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(1): 323-331.
110. Souza, M.P., Grosso, C.R. (2010). Polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. tree gum (policaju) as a coating for Tommy Atkins mangoes. *Chemical papers*. 64(4): 475-481.
111. SSA (1994) Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>
112. Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A., Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 21(1): 1199-1218.



113. Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T. (2013). Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from skin gelatin incorporated with root essential oils. *Journal of Food Engineering*. 117(1): 350-360.
114. Torres, C.E. (2000). *Herbolaria Mexicana. Enciclopedia medicinal volumen 1*. México. Grupo Editorial Tomo.
115. Trejo-Márquez, A., Ramos-López, K., Pérez-Guillén, C. (2007). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa (*Fragaria vesca* L.) almacenada en refrigeración. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones, Cartagena, España.
116. Turhan, N.K., Sahbaz, F. (2004). Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. *Journal of Food Engineering*. 61(3): 459-466.
117. Tzoumaki, M.V., Biliaderis, C.G. (2009). Impact of edible coatings and packaging on quality of White asparagus (*Asparagus officinalis* L) during cold storage. *Food Chemistry*. 117(1): 55.63.
118. Vargas-Martínez, M.G. y Trejo-Márquez, M.A. (2013). Desarrollo de recubrimientos biorgánicos a partir de fitomoléculas de especies del semidesierto mexicano y microorganismos antagonistas para alargar la vida de anaquel de frutas y hortalizas. Informe técnico de proyecto del Fondo de Innovación Tecnológico Secretaría de Economía - CONACYT.
119. Vargas, V.L., Centurión, Y.A., Tamayo-Canul, E., Tamayo-Cortés, J., Saucedo-Veloz, C., Sauri-Duch, E. (2007). Variación de la respiración y producción de etileno de rebanadas de pitahaya (*Hylocereus undatus*). V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones, Cartagena, España.
120. Villalobos-Carbajal, R., Hernández-Muñoz, P., Albors, A., Chiralt, A., (2009). Barrier and optical properties of edible hydroxypropyl methylcellulose coatings containing surfactants applied to fresh cut carrot slices. *Food Hydrocolloids*. 23(1): 526-535.



121. Villamán, D.M.C. (2007). Elaboración y caracterización de films comestibles basadas en mezclas entre proteínas de quínoa y quitosano. Tesis de licenciatura de ingeniería en alimentos. Universidad de Chile. Santiago, Chile.
122. Valle-Guadarrama, S., López-Rivera, O., Reyes-Vigil, M., Castillo-Merino, J., Santos-Moreno, A. (2008). Recubrimiento comestibles basado en goma arábica y carboximetilcelulosa para conservar frutas en atmósferas modificadas. *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 14(3): 235-241.
123. Wang, W.D., Xu, S.Y. (2007). Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*. 82(1): 271-275.
124. Wen, M., Chuan-He, T., Shou-Wei, Y., Xiao-Quan, Y., Qin, W., Fu, L., Zi-Hao, W. (2012). Characterization of gelatin-based edible films incorporated with olive oil. *Food Research International*. 49(1): 572-579.
125. Wu, R., Frei, B., Kennedy, J.A., Zhao, Y. (2010). Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of “Marion” and “Evergreen” blackberries. *LWT-Food Science and Technology*. 43(1): 1253-1264.