



S.E.P

S.E.S.T.N.M.

Tec.N.M.

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

**“EVALUACIÓN DEL USO DE RESIDUOS DE *OPUNTIA*
STREPTACANTHA PARA LA OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA
POLIMÉRICA COMESTIBLE Y SU APLICACIÓN EN EL EMPACADO DE
ALIMENTOS”.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

PRESENTA:

JAQUELINNE MOTA NAVARRETE

NO. DE CONTROL: 0128M1502

DIRECTORA:

DRA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA

CO-DIRECTORA:

M. en C. ROSA ELENA ORTEGA AGUILAR

Metepec, Estado de México, Diciembre del 2016.

Metepec, Méx., 02/diciembre/2016

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-1866/2016

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS

**C. JAQUELINNE MOTA NAVARRETE
CANDIDATA AL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL
PRESENTE.**

De acuerdo con el Reglamento de Titulación del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica de la Subsecretaría de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado "EVALUACIÓN DEL USO DE RESIDUOS DE OPUNTIA STREPTACANTHA PARA LA OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA POLIMÉRICA COMESTIBLE Y SU APLICACIÓN EN EL EMPACADO DE ALIMENTOS" la División de Estudios de Posgrado e Investigación concede autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE

Educación, Integridad y Ciencia



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL
DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

JLGR/magj

SEP

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Toluca

Metepec, Méx., 30/Noviembre/2016

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-1795/2016

DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN
PRESENTE.

Por este medio comunicamos a usted que la Comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada **"EVALUACIÓN DEL USO DE RESIDUOS DE OPUNTIA STREPTACANTHA PARA LA OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA POLIMÉRICA COMESTIBLE Y SU APLICACIÓN EN EL EMPACADO DE ALIMENTOS"**, que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Maestra en Ciencias en Ingeniería Ambiental presenta la C. JAQUELINNE MOTA NAVARRETE, con número de control 0128M1502 para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad necesario para proceder a la impresión del mismo.

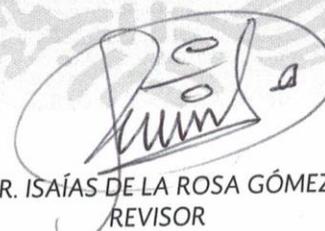
ATENTAMENTE


DRA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA
DIRECTORA DE TESIS


M. en C. ROSA ELENA ORTEGA AGUILAR
CO-DIRECTORA DE TESIS


DR. FRANCISCO JAVIER ILLESCAS MARTÍNEZ
REVISOR


DRA. MARÍA DEL CARMEN DÍAZ NAVA
REVISORA


DR. ISAÍAS DE LA ROSA GÓMEZ
REVISOR


SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL
DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, C.P. 52149,
Metepec, Estado de México. Tels. Dirección (01722) 208 7205, Subd. Académica 208 7207,
Subd. de Planeación 208 7206, Subd. Administrativa 208 7208, Conmut. 208 72 00
e-mail: info@toluca.tecnm.mx, www.toluca.tecnm.mx



AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitir que llegara hasta este momento.

Al **Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca otorgada.

A mi directora de Tesis la **Dra. Claudia Rosario Muro Urista**, por el tiempo, la paciencia y los consejos que me brindo.

A la **M. en C. Rosa Elena Ortega Aguilar**, al **Dr. Francisco Javier Illescas Martínez** y **Dra. María del Carmen Díaz Nava**, por sus observaciones que ayudaron a la mejora de este trabajo.

Al **Instituto Tecnológico de Toluca** y al **Laboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental (LIIA)**, por sus instalaciones. A los responsable técnicos del LIIA: Verito, Martita y Enrique, por sus servicios.

A mis compañeros y amigos: Karina Abigail, Ismael, Isis Neftaly, Marisol, Eva Monserrat, Yosselin, Antonio, Rosario Esmeralda, Yolanda, Pedro Samuel, José Ángel, Alejandra, Elizabeth, Jesús, Liliana, Victor Enrique y Luis Gerardo.

A mis Padres, hermano, cuñada y sobrinos, no me han dejado.

Mi nueva familia (suegros y cuñados) me han adoptado como un integrante más de su familia.

A mi esposo Luis Alberto y mi hijo Marco Eliud, por su cariño.

DEDICATORIAS

A Dios por acompañarme todos los días.

A mi hijo Marco Eliud que lo es todo en mi vida, que llego para organizar mi vida. Te amo Hijo.

RESUMEN

En México los residuos agroalimentarios, representan un grave problema ambiental. Sin embargo, muchos de ellos por su origen y de acuerdo a sus características fisicoquímicas, podrían ser utilizados como una fuente de diversos productos para el sector alimenticio. Entre estos se encuentran los polisacáridos, tales como las pectinas, que son una fuente de hidrocoloides, viscosificantes y/o gelificantes que pueden ser utilizados para diversas aplicaciones.

El objetivo de este trabajo es evaluar los residuos *Opuntia Streptacantha* (fruto del nopal silvestre) como fuente de obtención de pectina para obtener recubrimientos y películas comestibles biodegradables y antioxidantes, las cuáles podrían ser útiles para el embalaje de productos alimenticios perecederos, tales como las frutas y verduras. La metodología se basó en tres etapas. La primera fue la extracción y caracterización de la pectina, donde se probó el uso de todo el fruto o únicamente su cáscara; fruto maduro e inmaduro y 4 métodos de extracción basados en la hidrólisis ácida y enzimática, para seleccionar el más adecuado de acuerdo a las características de la pectina y a la eficiencia en el rendimiento. La segunda etapa consistió en la preparación de películas comestibles, utilizando matrices de pectina con adición de otros componentes como alginato de sodio, alcohol polivinílico, glicerol, cera de abeja y aceite de orégano. En todos los casos se determinaron características de la película en relación a espectroscopía infrarroja, morfología, porosidad, actividad antimicrobiana y antioxidante.

Y en la tercera etapa, se hizo la evaluación de la utilidad de la película utilizando manzanas como fruta indicadora. En este caso, se realizó un seguimiento en relación a las condiciones del fruto, durante 30 días de almacenamiento en refrigeración a 4 °C y a temperatura ambiente (20-25 °C), considerando propiedades como, durabilidad de la película, permeabilidad de agua, conservación de las manzanas, percepción de la película y sabor del fruto mediante un análisis sensorial. Entre los resultados obtenidos se encontró que la extracción de pectina proveniente de la

Opuntia Streptacantha, presenta un mayor rendimiento utilizando todo el fruto, en estado inmaduro y por medio enzimático. Con respecto a la caracterización de la pectina, los espectros del infrarrojo mostraron que las muestras obtenidas presentaron las principales bandas características del ácido galacturónico, siendo este último el principal componente de la pectina. El contenido de este componente fue de 55.60%, clasificando a la pectina como producto de alta metoxilación. El bajo porcentaje de cenizas, indicó un bajo índice de impurezas, por tanto, un producto de calidad considerable.

En la preparación y utilidad de la película a base de pectina se encontró que las manzanas que tuvieron mayor conservación fueron las que se almacenaron a 4 °C y las que fueron recubiertas con la película pectina-alcohol polivinílico-cera de abeja, siendo esta una película con menor espesor, menor porcentaje de humedad, menor porcentaje de cenizas, transparente y cuenta con una baja permeabilidad de vapor agua.

A su vez, el análisis sensorial arrojó que no hubo diferencia significativa entre cada tratamiento al evaluar apariencia, aroma, sabor, crocante y textura; comparadas con una manzana recién cortada (blanco) por lo que estas películas no presentaron un mal sabor, un mal olor ni una mala apariencia. Esto se puede atribuir a la buena capacidad antioxidante y antimicrobiana que contienen los componentes de los recubrimientos.

ABSTRACT

Agrifood waste in Mexico represents a serious environmental problem. Nevertheless, such waste due its origin and according to its physicochemical characteristics could be used as raw material for the fabrication of various products mainly for the food industry. Particularly, waste containing polysaccharides, such as pectins, which are a source of hydrocolloids, viscosifiers and/or gelling agents that can be used for various applications.

The aim of this study is to evaluate fruit waste from *Opuntia Streptacantha* (Wild cactus fruit) as a pectin source in order to obtain coatings, biodegradable edible films, and antioxidants, which could be used for packaging perishable food products such as fruits and vegetables. The methodology was divided on three stages. In the first stage it was tried and determined whether to use the whole fruit or only its skin, and it was determined whether to use ripe or unripe fruit. Four extraction methods based on acid and enzymatic hydrolysis were tested in order to select the most appropriate to rend the desired pectin characteristics and yield efficiency. The second stage describes the preparation process of edible films using pectin matrices with addition of other components such as sodium alginate, polyvinyl alcohol, glycerol, beeswax and oregano oil. In all cases, the characteristics of the film were determined in relation to infrared spectroscopy, morphology, porosity, and antimicrobial and antioxidant activity.

In the third stage, film applicability was evaluated on apples as control fruit. In this case, fruit conditions were monitored for 30 days in refrigeration storage at 4 °C and at room temperature (20-25 ° C), while monitoring properties such as film durability, water permeability, apple preservation, film perception and fruit flavor through sensory analysis. Among the obtained results it was found that extraction of pectin from *Opuntia Streptacantha* using enzymatic means showed the high yield using the whole fruit in the unripened state. Regarding the pectin characterization, infrared spectra showed from the obtained samples presented main characteristic bands in the

galacturonic acid peak area, the latter being the main component of pectin. Content of this component was about 55.60%, thus classifying pectin as a high methoxylation product. Low percentage of ash indicated a low impurities index; therefore, obtained pectin is a product of considerable quality.

During preparation and use of the pectin-based film, it was found that apples that were stored at 4 ° C were better preserved, and those were coated with a pectin-polyvinyl alcohol-beeswax film, such film was thinner, it presented a lower percentage of moisture and ash, it was transparent and it had a low water vapor permeability.

At the same time, sensorial analysis proved that there was no significant difference between each treatment when evaluating appearance, aroma, taste, crispness and texture compared to a freshly cut apple (white). These films did not present a bad taste, bad smell or bad appearance which can be attributed to good antioxidant and antimicrobial coating components capacity.

CONTENIDO

	PÁGINA
INTRODUCCIÓN	1
1 FUNDAMENTOS	4
1.1 Cactus del genero <i>Opuntia</i>	5
1.1.1 Variedades de la tuna	7
1.1.2 Composición química de la tuna	9
1.1.3 Mucílagos y pectinas de la tuna	12
1.2 Aplicaciones de las pectinas	18
1.3 Recubrimientos y películas comestibles	19
1.4 Principales componentes de los recubrimientos comestibles	20
1.5 Métodos de recubrimiento de alimentos	26
1.5.1 Inmersión (Superficies irregulares)	27
1.5.2 Spray (Superficies lisas y uniformes)	27
1.5.3 Casting (Películas independientes)	27
1.6 Principales propiedades de los recubrimientos comestibles	28
1.6.1 Propiedades de barrera	28
1.6.2 Propiedades mecánicas	30
1.6.3 Propiedades biológicas	30
1.7 Legislación actual referida al recubrimiento de alimentos	32
1.8 Principales enfermedades de las manzanas (pomáceas)	34
2 MÉTODO	37
2.1 Extracción y purificación de pectina a partir de residuos de <i>Opuntia Streptacantha</i>	38
2.2 Caracterización de las pectinas	41
2.3 Obtención y caracterización de las películas de pectina	45
2.3.1 Determinación de las características fisicoquímicas de las películas	46
2.3.2 Propiedades biológicas	50

2.4	Determinación de la utilidad del recubrimiento para la conservación de manzanas	51
2.4.1	Pérdida de peso de la manzana	52
2.4.2	Sólidos solubles y pH	53
2.4.3	Análisis sensorial	53
2.4.4	Prueba de pudrición en la manzana	54
3	RESULTADOS	55
3.1	Extracción y purificación de pectina a partir de residuos de <i>Opuntia Streptacantha</i> .	55
3.2	Caracterización de las pectinas	57
3.3	Obtención y caracterización de películas de pectina	65
3.3.1	Determinación de las características fisicoquímicas de las películas	66
3.3.3	Propiedades biológicas	74
3.4	Determinación de la utilidad del recubrimiento para la conservación de manzanas	78
3.4.1	Pérdida de peso de la manzana	85
3.4.2	Sólidos solubles y pH	86
3.4.3	Análisis sensorial	87
3.4.4	Prueba de pudrición en la manzana	95
	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	98
	REFERENCIAS	100

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
1.1 Clasificación taxonómica del genero <i>Opuntia</i>	7
1.2 Análisis químico de los principales componentes de la tuna (<i>Opuntia</i>)	10
1.3 Composición de la cáscara de frutos de <i>Opuntia</i>	11
2.1 Componentes utilizados para elaborar las películas	45
2.2 Escala de Puntuación	54
3.1 Cantidad de ácido galacturónico en la pectina extraída de la <i>Opuntia Streptacantha</i>	63
3.2 Características fisicoquímicas de las películas de pectina	66
3.3 Micrografías de las películas en el microscopio óptico	70
3.4 Micrografías de algunas películas vistas mediante SEM	71
3.5 Relación del % de inhibición de las películas de pectina-PVA	74
3.6 Imagen de los halos de inhibición generados por películas y por las matrices comparadas contra el generado por el antibiótico	75
3.7 Actividad antioxidante de las diferentes mezclas utilizadas como recubrimientos expresados en VCEAC (Actividad antioxidante equivalente a ácido ascórbico)	77
3.8 Manzanas recubiertas con películas usando glicerol como plastificante	79
3.9 Manzanas recubiertas con películas dentro del refrigerador	81
3.10 Manzanas fuera del refrigerador	84
3.11 Porcentaje de pérdida de peso de las manzanas recubiertas	82
3.12 Sólidos solubles y pH de manzanas recubiertas	86
3.13 Datos de apariencia	87
3.14 Análisis de varianza para la apariencia	88
3.15 Datos de aroma	89
3.16 Análisis de varianza para el aroma	90

3.17	Datos del sabor	91
3.18	Análisis de varianza para el sabor	91
3.19	Datos de crocante	92
3.20	Análisis de varianza para crocante	92
3.21	Datos de textura	93
3.22	Análisis de varianza para la textura	94
3.23	Análisis de varianza de los 5 parámetros	94
3.24	Correlación entre atributos	95
3.25	Microorganismos vistos en el microscopio	97

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
1.1 Variedad del género <i>Opuntia</i>	6
1.2 Variedad de tunas	8
1.3 Estructura química de las pectinas	14
1.4 Representación esquemática de la estructura de pectina. A) estructura convencional y B) alternativa, recientemente propuesta	16
1.5 Propiedades funcionales de un recubrimiento comestible en frutas y hortalizas frescas	20
2.1 Etapas que comprenden el método utilizado en la investigación	37
3.1 A) <i>Opuntia Streptacantha</i> en el campo ya madura, B) Pectina extraída y C) Pectina seca y molida	55
3.2 Porcentaje de extracción de pectinas de los métodos utilizados	56
3.3 Espectro FTIR del ácido galacturónico	57
3.4 Comparación del espectro FTIR del ácido galacturónico contra la pectina extraída por el método I	58
3.5 Comparación del espectro de ácido galacturónico y la pectina extraída por el método II	59
3.6 Comparación del espectro del ácido galacturónico y la pectina extraída con el método III	60
3.7 Espectro FTIR de pectina extraída con la enzima <i>Aspergillus niger</i> , comparada con el ácido galacturónico	61
3.8 Espectro de adsorción UV-vis del ácido galacturónico con el cromóforo m-hidroxidifenil	62
3.9 Curva de calibración de ácido galacturónico	62
3.10 Espectro de absorción UV-vis de la solución de manosa	64
3.11 Curva de calibración de la manosa para determinar azúcares totales	65

3.12	Espectro de la película con pectina-alginato y glicerol como plastificante; y de sus principales componentes (pectina y alginato)	72
3.13	Espectro de la película de pectina-PVA y glicerol como plastificante; y sus componentes (pectina y PVA)	73
3.14	Espectro de la película de pectina-PVA, glicerol como plastificante y aceite de orégano como aditivo; y de sus componentes (pectina, PVA y aceite de orégano)	73
3.15	Espectro de absorción UV-vis de la solución de ABTS	76
3.16	Curva de calibración de ácido Ascórbico para determinar actividad antioxidante	76
3.17	Manzanas con problema de blanqueado	80
3.18	Formación de una burbuja en película de pectina-alginato-aceite de orégano	83
3.19	Gráfico de medias de apariencia	88
3.20	Gráfico de medias del aroma	90
3.21	Gráfico de medias del sabor	91
3.22	Gráfico de medias de crocante	93
3.23	Gráfico de medias de textura	94

INTRODUCCIÓN

Los residuos agroalimentarios que comprenden, cáscaras, bagazo, frutas y vegetales dañados y/o no consumidos, así como la materia seca que proviene de la cosecha y los residuos secundarios que son obtenidos del procesamiento del producto o post-cosecha, representan un grave problema ambiental; particularmente en México, ya que no se cuenta con políticas adecuadas para su manejo y en la mayoría de los casos son mezclados con basura inorgánica dificultando aún más su disposición. Dichos residuos son generados en grandes volúmenes, y sólo una mínima parte es reutilizada en la producción de alimento animal y/o compostas. Sin embargo, de acuerdo a sus características que generalmente son nutritivas y algunas ocasiones terapéuticas y químicas, podrían ser utilizadas como una fuente de diversos productos para el sector alimenticio.

Específicamente la tuna, fruta del nopal de varias especies (*Opuntia spp*), y su cáscara, contienen una interesante fuente de fitoquímicos entre los que se encuentran, ácidos grasos poliinsaturados, polisacáridos y antioxidantes naturales como la vitamina E, tocoferoles y vitamina C, que podrían ser utilizados para la preparación de productos de alto valor agregado y de gran interés para el sector agroalimenticio, farmacéutico y cosmético. Sin embargo, su uso es limitado; ya que gran parte de este fruto que se encuentra en el campo, se utiliza como forraje o bien, termina en la basura, y solamente algunas especies comerciales se consumen principalmente como fruta fresca y en menor cantidad en la elaboración de melcocha, miel, jalea y bebidas fermentadas, a pesar de que son conocidas las cualidades alimenticias y medicinales que poseen.

A la fecha, la tuna se ha experimentado como una fuente para la extracción y caracterización de aceites a partir de sus semillas y piel; también han sido estudiadas para extracción de pigmentos, preparación de mermeladas y extracción de mucílagos. Particularmente, estos últimos, han sido analizados como una fuente

nueva de hidrocoloides, viscosificantes y/o gelificantes con potencial uso en la agroindustria y como recubrimiento protector para el embalaje de alimentos frescos y perecederos.

En este trabajo se plantea la posibilidad de aprovechar la pectina de la tuna *Opuntia Streptacantha* y sus propiedades antioxidantes para obtener recubrimientos y películas comestibles biodegradables, las cuáles podrían ser útiles para el embalaje de productos alimenticios, tales como la manzana.

Los recubrimientos y las películas juegan un papel importante en la conservación, distribución y comercialización de alimentos altamente perecederos como los hortícolas, productos frescos y mínimamente procesados. Algunas de sus funciones son proteger el producto contra daños mecánicos, físicos, químicos y microbiológicos, prolongando la vida útil del alimento.

Dentro de los alimentos altamente perecederos están las manzanas que pasan por un largo proceso de almacenamiento, por lo que en algunos países utilizan antioxidantes sintéticos como pre-tratamiento para su conservación en refrigeración hasta su posterior consumo. Se ha encontrado que el uso de estos antioxidantes provoca un mal a la salud humana. Una alternativa que se ha tomado es el uso de recubrimientos a base de ceras; sin embargo, para su aplicación se requiere un proceso de secado, que cuanto mayor sea la temperatura de secado, mayor será el impacto negativo sobre las características organolépticas y fisiológicas del fruto.

Como hipótesis se plantea que el recubrimiento obtenido de los residuos de *Opuntia Streptacantha* podría ser una gran opción para su aplicación como película, en manzanas, ya que además de proporcionar protección, aportaría su poder antioxidante y su fijación no requeriría de un proceso de secado.

Este documento está organizado de la siguiente manera: en el apartado 1 se presentan los fundamentos en los cuales se describen las principales características y propiedades de la *Opunia spp.* y de los productos que se obtienen de esta misma, como lo es la pectina; también se hace mención sobre las películas y recubrimientos alimenticios. Con base en la información presentada en los fundamentos se desarrollan una serie de pasos a seguir para realizar los experimentos, los cuales se describen en el apartado 2, denominado metodología. Finalmente, los resultados obtenidos se presentan y discuten en el apartado 3, de los cuales se generan las conclusiones.

1 FUNDAMENTOS

Las actividades agroindustriales generan residuos los cuales tienen un gran potencial contaminante. Se consideran como residuos primarios los que corresponden a la materia seca que proviene de la cosecha y los residuos secundarios son obtenidos del procesamiento del producto o post-cosecha. De ambos tipos, resultan miles de toneladas en pulpa y cascarilla, los cuales se acumulan por períodos largos en el lugar donde son cultivados o bien depositados después de su consumo o procesamiento, provocando malos olores así como un medio propicio para la reproducción de moscas y otras plagas responsables de múltiples enfermedades.

Algunos datos que se utilizan para tener una idea del volumen de residuos que generan los diferentes tipos de industrias después de procesar algunos de los productos del campo, son los siguientes: la industria de la cerveza solamente utiliza el 8% de los componentes del grano, la de aceite de palma el 9%, la de café el 9.5%, la de papel menos del 30% y la industria del procesado de frutas únicamente utiliza del 20-50% de su biomasa; el resto es un residuo que suele ser vertido a los cauces receptores sin tratamiento previo, contribuyendo a la degradación del ecosistema, lo que ha generado una de las principales problemáticas ambientales. Algunos de sus destinos son la incineración, o la plantación en forma de abono verde y alimentación animal, pese a que por sus características, son susceptibles de aplicación como materia prima en la obtención de diversos productos de interés comercial o social, ya que sus constituyentes son generalmente lignina, celulosa, hemicelulosa y polisacáridos que pueden ser aprovechados en diferentes formas (Saval, 2012).

A la fecha se conocen otras aplicaciones como son su aprovechamiento para la producción de biogás, como sustrato de microorganismos para la producción de metabolitos, y actualmente se han estudiado como materia prima para la obtención de biopolímeros para diferentes usos (Galanakis, 2012). Sin embargo, de este último, hace falta realizar varios estudios para analizar su aplicación y establecer

lineamientos que ayuden a su desarrollo a nivel industrial ya que muchos de ellos únicamente se han sintetizado a nivel laboratorio.

Específicamente en la cáscara y biomasa de la fruta del nopal, predominan polisacáridos tipo pectinas que pueden ser de gran utilidad en el sector comercial, su uso como materia prima se extiende a la obtención de biopolímeros que pueden ser utilizados como recubrimientos o películas comestibles de alimentos para preservar su vida útil. El poder antioxidante de la tuna también puede contribuir a la eficacia de su uso como recubrimiento o película protectora.

Actualmente la pectina es obtenida de residuos de cítricos, maracuyá, papaya y plátano (Qiu *et al.*, 2010; Prakash *et al.*, 2014; De-Oliveira *et al.*, 2015; Prakash y Arun, 2015) y es comercializada y ampliamente utilizada en el sector alimenticio como agente espesante. Otros estudios sobre el nopal hacen referencia a éste con un contenido considerable de pectina (Espino-Díaz, 2010; Guevara-Arauza *et al.*, 2011; Adetunui *et al.*, 2012; Lira-Vargas *et al.*, 2014; Lira-Ortiz *et al.*, 2014; Kamel, 2014). Sin embargo, a la fecha se desconoce su comercialización como base de este producto y, en caso de la tuna, existen pocos estudios referidos al tema.

1.1 Cactus del genero *Opuntia*

Debido a la amplia diversidad de climas, México es un país rico en productos relacionados con especies vegetales. Un caso específico es el nopal (*Opuntia Streptacantha*), el cual crece en zonas semiáridas y es un cultivo que requiere un cuidado mínimo, tolera suelos pobres, está adaptado a lluvias escasas y sus necesidades de nutrientes pueden ser fácilmente suplementadas con estiércol o cenizas. De acuerdo a su uso, es posible introducir en los distintos ambientes variedades mejoradas para sistemas de producción de múltiples propósitos y obtener

frutas, forrajes y pencas tiernas para consumir como verdura (Peña-Valdivia *et al.*, 2012).

El nopal es un árbol frutal, originario de América, existen alrededor 200 a 300 especies y crecen principalmente en regiones áridas y semiáridas (Pimienta-Barrios y Del Castillo, 2002; Stintzing y Carle, 2004). El género *Opuntia* está formado por más de 189 especies silvestres, de las cuales 83 son mexicanas; de ellas, 29 se distribuyen en la Altiplanicie Meridional (centro-norte de México), en una superficie aproximada de 300,000 km², en parte de los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas, Tlaxcala y Estado de México (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). Además de las variantes silvestres, existen otras con una gran riqueza con diferente grado de domesticación, desde las recolectadas o plantadas como cercos vivos y las propias de solares, hasta las de plantaciones comerciales (Reyes-Agüero *et al.*, 2005). En la Figura 1.1, se muestran diferentes especies del género *Opuntia*.



Figura 1.1 Variedad del Genero *Opuntia* (Los Apantles, 2015).

La taxonomía del género *Opuntia* es sumamente compleja debido a múltiples razones, entre las que destaca el hecho de que los fenotipos presentan gran variabilidad según las condiciones ambientales. Además, es frecuente encontrar casos de poliploidía, ya que se reproducen en forma sexual o asexual y existen numerosos híbridos interespecíficos, lo que complica más su clasificación (Sáenz, 2006). No obstante, la clasificación taxonómica se muestra en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1 Clasificación taxonómica del género *Opuntia* (CONAZA, 1996).

Reino:	<i>Vegetal</i>
División:	<i>Angiospermae</i>
Clase:	<i>Dicotiledoneae</i>
Orden:	<i>Opuntiales</i>
Familia:	<i>Cactaceae</i>
Subfamilia:	<i>Opuntioideae</i>
Tribu:	<i>Opuntiae</i>
Género:	<i>Opuntia</i>
Subgénero:	<i>Platyopuntia</i>
Especie:	<i>Varios</i>

1.1.1 Variedades de la tuna

El fruto del nopal varía en forma y fisiología de acuerdo a la especie; cuando tiene un sabor dulce se le conoce como tuna y cuando el sabor es ácido se denomina xoconostle (Granados y Castañeda, 2003).

Particularmente existen diferentes especies de la fruta del nopal (Tuna: *Opuntia*), que México produce prácticamente todas las épocas del año. Entre sus variedades se encuentran las de mayor consumo que son las pertenecientes a los grupos *Opuntia ficus-indica*, *O. streptacantha*, *O. robusta*, y *O. leucotricha*. Los nombres comunes con los que se conocen estas variedades son: tuna de agua, tuna fina, tuna blanca,

tuna de Castilla, tuna tapona, tuna Cardona, tuna memela y tuna cascarona por mencionar algunos (Flores, 1999); sin embargo, se cuenta también con una variedad que crece en áreas silvestres como la *Opuntia Streptacantha* por lo que su consumo es bajo, por tanto, no es comercializada. Es vista comúnmente tirada en los plantíos, constituyendo un residuo agrícola.

La tuna es una falsa baya con ovario ínfero simple y carnoso. La forma y tamaño de los frutos es variable. Los frutos pueden ser ovoides, redondos, elípticos y oblongos, con los extremos aplanados, cóncavos o convexos. Los colores son diversos: pueden encontrarse frutos rojos, anaranjados, púrpuras, amarillos y verdes, con pulpas también de los mismos colores (Figura 1.2). La epidermis de los frutos es similar a la del cladodio, incluso con aréolas y abundantes gloquidios y espinas, que a diferencia del cladodio, persisten aún después de la sobremadurez del fruto. La cáscara de los frutos difiere mucho en grosor, siendo también variable la cantidad de pulpa, la cual es jugosa y dulce. Esta última presenta numerosas semillas, que se consumen junto con la pulpa. Hay frutos que presentan semillas abortadas, lo que aumenta la proporción de pulpa comestible (Sáenz *et al.*, 2006).



Figura 1.2. Variedad de tunas (Morales-Escobar, 2014).

En general, la tuna posee propiedades bioactivas, especialmente algunas variedades presentan una importante actividad antioxidante, teniendo la posibilidad de producir alimentos funcionales con un alto valor agregado. Otras propiedades gelificantes y espesantes son actualmente estudiadas para uso como emulsificantes y como materia prima en el sector alimenticio y la industria cosmética y farmacéutica (Sumaya-Martínez *et al.*, 2010; Sumaya-Martínez *et al.*, 2011).

1.1.2 Composición química de la tuna

La tuna es un alimento de gran valor nutritivo. Es un fruto rico en vitaminas, minerales y proteínas, con excelentes propiedades para la digestión debido al contenido de sus semillas. En relación con otras frutas, también es notable la diferencia en contenido y cantidad de algunos elementos como el fósforo, potasio y calcio. La fibra que proporcionan las semillas de la tuna difícilmente podría ser aventajada en el beneficio que aporta al sistema digestivo su ingestión (Flores, 1999).

Los frutos y cladodios de nopal son fuente de fibra soluble (mucílago y pectina) (Maki-Díaz *et al.*, 2015), pigmentos (betalaínas y carotenoides), Ca, Mg, K, fenoles y vitamina C. Todos ellos son compuestos apreciados para una alimentación saludable, como ingredientes para diseñar alimentos nuevos por sus propiedades nutraceuticas (Valencia-Sandoval *et al.*, 2010), y como una alternativa en medicina tradicional (Gurrieri *et al.*, 2000; Sáenz, 2006; Figueroa-Cares *et al.*, 2010).

Los colores de las frutas (verde, rojo, amarillo o púrpura) se deben a la presencia de varios pigmentos como betalaínas y carotenos (Tesoriere *et al.*, 2005; Castellar *et al.*, 2006; Díaz *et al.*, 2006). La tuna es una de las pocas fuentes de betalaínas en la naturaleza y por lo tanto se presentan como una alternativa atractiva para reemplazar los aditivos sintéticos; esto es, además de las ventajas de la producción de la fruta

para el consumo directo. La tuna podría tener una doble aplicación, como colorantes naturales y proporcionar beneficios para la salud a través de su función antioxidante (Stintzing y Carle, 2004; Tesoriere *et al.*, 2005). Sin embargo, la estabilidad de betalaínas ha sido estudiada por varios investigadores, y se ha demostrado que son afectadas por el pH, la actividad del agua, la exposición a la luz, el oxígeno, la temperatura y las actividades enzimáticas. Por otra parte, la temperatura es el factor más decisivo para la descomposición de la betalaína (Castellar *et al.*, 2006). La estabilidad es un aspecto importante a considerar para el uso de estos pigmentos como antioxidantes y colorantes en los alimentos.

En la Tabla 1.2. se presentan los resultados de algunos análisis químicos de los principales componentes de la tuna, en donde se observa que dentro de los sólidos predominantes de la cáscara se encuentran los carbohidratos. Hasta ahora, la cáscara y las semillas son productos de desecho de la tuna y no se han encontrado reportes en donde se aprovechen industrialmente para generar productos con valor agregado.

Tabla 1.2. Análisis químico de los principales componentes de la tuna (*Opuntia*) (CONAZA, 1996, Meneses y Morales, 2000).

	Cáscara %p/p (b.h.*)	Pulpa %p/p (b.h.*)	Semilla %p/p (b.h.*)
Humedad	82-87	85-90	---
Cenizas	0.40-1.91	0.2-0.3	1.8
Proteínas	0.35-0.51	0.5-1.0	10.3
Grasas	0.39	0-0.59	5.2-11.5
Fibra cruda	1.27	0.27	46.4
Azúcares reductores directos totales	4.15-4.99	8.7-11	---
Azúcares reductores directos	0.15	2-6	---
Acidez como ácido cítrico	0.729	0.052	0.084
pH	-	5.35	----

%p/p=porcentaje peso en peso, b.h.*=base húmeda

En estudios recientes se ha reportado que la cáscara de fruto de *Opuntia* constituye hasta cerca del 50% del peso húmedo total del fruto (Mercado, 2004) y que en la composición química de ésta predominan polisacáridos no celulósicos ($\approx 40\%$).

En particular, la cáscara de frutos de *Opuntia ficus indica* representa entre el 15 y el 20% del peso seco total del fruto (Habibi *et al.*, 2004).

La Tabla 1.3 muestra la composición química promedio de la cáscara de frutos de *Opuntia ficus indica*, la cual revela una cantidad importante de minerales (11.5% de cenizas), de grasas y ceras (11.0%). Sin embargo, el contenido de polisacáridos que incluyen celulosa, es sobresaliente ($\approx 60\%$).

Tabla 1.3. Composición de la cáscara de frutos de *Opuntia* (Habibi *et al.*, 2004).

Componente	%p/p (*b.s.)
Cenizas	11.5
Grasa y ceras	11.0
Lignina	2.4
Proteína (Nx6.25Mucilago)	8.6
Mucilago	4.1
Celulosa	27.0
Otros polisacáridos	35.0

*b.s. = base seca

La cáscara ocupa una porción importante en la constitución de la tuna, algunos autores han realizado estudios de microscopía electrónica de barrido en muestras de cáscara deshidratada y sus observaciones revelaron que las células de la piel del fruto estaban constituidas principalmente de células del colénquima y parénquima (células que dan grosor y sostén), tejidos usualmente ricos en polisacáridos como la pectina (Habibi *et al.*, 2004). Estas observaciones y otros estudios realizados a finales de los años 90 (Forni *et al.*, 1994) han dado pauta a sugerir que la cáscara de

este fruto pudiera ser fuente de pectinas con potencial uso en la industria agroalimentaria.

1.1.3 Mucílagos y pectinas de la tuna

Los mucílagos son sustancias con capacidad viscosificante sin capacidad para gelificar. Se encuentran en las algas, semillas de lino, semillas de chía, en raíces de malva, membrillo, líquen, en ciertos hongos y en muchos vegetales (Guevara-Arauza *et al.*, 2011) y por supuesto, la familia *Cactácea* también se caracteriza por su contenido de mucílagos.

Los mucílagos son carbohidratos complejos de naturaleza viscosa (Trachtenberg y Mayer, 1981; Trachtenberg y Mayer 1982; Pimienta-Barrios, 1990; Sudzuki, 1995), se distribuyen en las diferentes partes de la *Opuntia*; plantas, pencas y frutas (cáscara y pulpa). Los mucilagos juegan un papel muy importante en la fisiología de las plantas, teniendo en cuenta que las especies de *Opuntia* crecen comúnmente en condiciones de escasez de agua (Nobel *et al.*, 1992). Ellos son responsables de la capacidad de las cactáceas para retener el agua, incluso en condiciones climáticas desfavorables (Saag *et al.*, 1975).

Varios grupos de investigadores han informado que el mucílago de *Opuntia spp.* está compuesto de L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-xilosa y ácido galacturónico (Trachtenberg y Mayer, 1981; Medina-Torres *et al.*, 2000; Madjdoub *et al.*, 2001; Sáenz 2004).

Con respecto a las propiedades reológicas de mucílago de cactus, se tiene que en solución, muestra un comportamiento no newtoniano con un ligero aumento en el grado de cizalla cuando su concentración aumenta (Cárdenas *et al.*, 1997). Su

viscosidad se incrementa cuando el pH aumenta también, llegando a un máximo con un pH de 6.6 (Sáenz *et al.*, 1992).

Entre los mucílagos de la tuna se encuentran las pectinas, las cuales se obtienen por extracción acuosa de las cáscaras de la fruta, asistida con pH ácidos o agentes quelantes o bien temperaturas altas. Dichas extracciones generan extractos con concentraciones altas de ácido urónico, lo que caracteriza a las pectinas con propiedades gelificantes.

Las pectinas se conforman por una mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Constituyen el 30% del peso seco de la pared celular primaria de células vegetales. En presencia de agua forman geles. Determinan la porosidad de la pared, y por tanto el grado de disponibilidad de los sustratos de las enzimas implicadas en las modificaciones de la misma. Las pectinas también proporcionan superficies cargadas que regulan el pH y el balance iónico (Voragen *et al.*, 2009), funcionan como agentes de hidratación y material de unión de la red celulósica. Aún dentro del propio vegetal existe una distribución de las pectinas; las más esterificadas están en la parte más interna y las menos esterificadas en la periferia (Schols y Voragen, 2002; Valdez-Martínez, 2006).

Por definición, las pectinas son ácidos pectínicos con diferentes grados de esterificación y neutralización, que pueden contener de 200 a 1000 unidades de ácido galacturónico (Valdez-Martínez, 2006). La pectina describe a una familia de oligosacáridos y polisacáridos que, aunque tienen características comunes sus estructuras son extremadamente diversas. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) y la normatividad de los Estados Unidos de América, estipulan que la pectina debe contener por lo menos 65% de ácido galacturónico (Willats *et al.*, 2006), unido por enlaces glucosídicos α -D-(1→4), en la cual algunos de los carboxilos pueden estar en forma de sal o esterificados con metilos como se muestra en la Figura 1.3. Las pectinas se

encuentran asociadas con otros hidratos de carbono, principalmente con hemicelulosas en las paredes celulares de los vegetales; y son responsables de la firmeza de algunos productos. Existen otros compuestos similares a las pectinas, las protopectinas, altamente esterificadas con metanol y muy insolubles en agua, que se encuentran en los tejidos inmaduros de los frutos y son responsables de su textura rígida; sin embargo, la acción de una enzima protopectinasa hace que se conviertan en pectinas solubles o ácido pectínico, en un proceso que ocurre durante la maduración y que trae consigo el ablandamiento del fruto. De todas estas sustancias, las pectinas son las más abundantes e importantes, están en mayor cantidad en los frutos inmaduros y especialmente en algunos tejidos suaves, como en la cáscara de los cítricos (naranja, limón, toronja, lima), manzanas, peras, etc. (Valdez-Martínez, 2006).

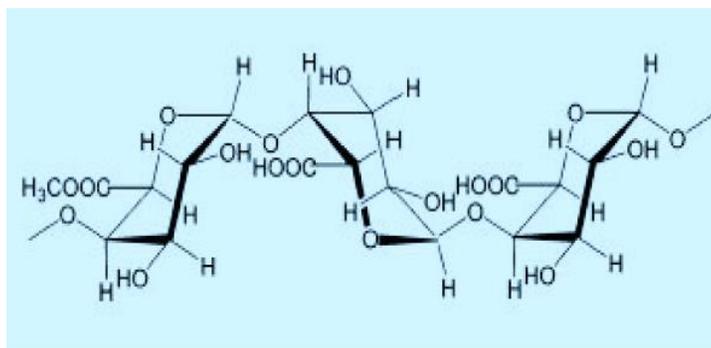


Figura 1.3. Estructura química de las pectinas (Nordby *et al.*, 2003).

La estructura primaria de las pectinas puede ser extremadamente heterogénea entre plantas, tejidos y aún entre células de la misma pared celular. La longitud de las cadenas y la composición glucosídica de los principales dominios estructurales pueden variar considerablemente. Recientemente se ha revisado la estructura básica de las pectinas y se ha reconocido que está constituida por tres polisacáridos “pécticos”, todos con ácido galacturónico (AGal) en su composición (Willats *et al.*, 2006):

- Homogalacturano (HG): es un polímero lineal constituido por (1→4)- α -D-ácido galacturónico.
- Ramnogalacturano I (RGI): polímero cuya unidad estructural básica es el disacárido [\rightarrow 4)- α -D-AGal-(1→2)- α -L-Ram-(1→)] con cadenas de azúcares, principalmente arabinosas y galactosas, unidas a las ramnosas.
- Ramnogalacturano II (RGII): llamado confusamente así, ya que su cadena principal es un homogalacturano en lugar de un ramnogalacturano, con cadenas laterales compuestas de diversos azúcares, unidas a los residuos de ácido galacturónico.

Hasta ahora se ha aceptado que el ramnogalacturano y el homogalacturano constituyen el esqueleto principal de los polímeros “pécticos” como se muestra en la Figura 1.4 A. Sin embargo, recientemente se ha propuesto una estructura alternativa (Figura 1.4 B), en la cual el homogalacturano es una cadena lateral o ramificación de la cadena principal de ramnogalacturano (Willats *et al.*, 2006). Las estructuras esquematizadas sólo intentan ilustrar algunos de los principales rasgos de organización encontrados en muchas pectinas (Willats *et al.*, 2006).

Independientemente de la estructura secundaria de las pectinas, el ácido galacturónico presente tanto en la cadena de homogalacturano como de ramnogalacturano puede estar metil-esterificado y/o acetilado; y ambos, el grado de esterificación (GE) y de acetilación (GA), tienen un fuerte impacto sobre las propiedades funcionales. Tradicionalmente las pectinas se clasifican como de “alto éster” o “bajo éster” con grados de esterificación >50% y <50%, respectivamente (Willats *et al.*, 2006).

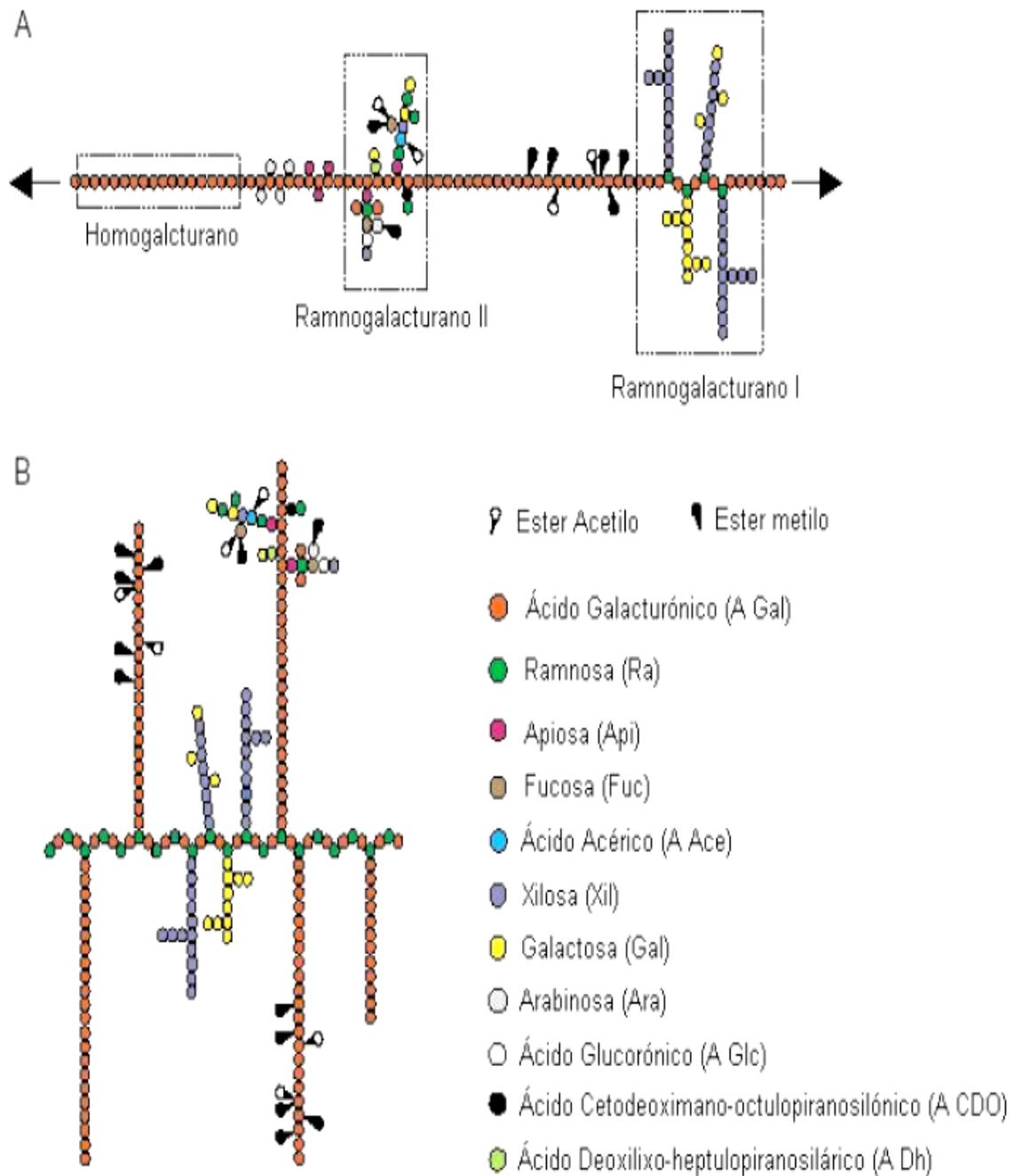


Figura 1.4. Representación esquemática de la estructura de pectina. A) Estructura convencional y B) alternativa, recientemente propuesta. Las estructuras esquematizadas sólo intentan ilustrar algunos de los principales rasgos estructurales encontrados en muchas pectinas (Willats *et al.*, 2006)

Las pectinas de alto metoxilo son aquellas en las cuales más del 50% de los grupos carboxilo del ácido galacturónico del polímero se encuentran esterificados con metanol. Estas pectinas son capaces de formar geles en condiciones de pH entre 2.8 y 3.5 y un contenido de sólidos solubles (azúcar) entre 69 y 70 °Bx (Ferreira, 2007). La adición del azúcar ejerce un efecto “deshidratante” sobre los polímeros, lo que favorece las interacciones polisacárido-polisacárido de manera hidrófoba, y crece una estructura tridimensional que rodea las moléculas de sacarosa altamente hidratadas (Badui, 2006).

Las pectinas de alto metoxilo se pueden dividir en dos grupos: las de gelificación rápida, que tienen un tiempo de gelificación menor a cinco minutos y un grado de esterificación con metanol entre 68 y 75%, y las de gelificación lenta, que tienen un tiempo de gelificación mayor a cinco minutos y un grado de esterificación con metanol entre 60 y 68% (Ferreira *et al.*, 2003).

Las pectinas de bajo metoxilo son aquellas en las cuales menos del 50% de los grupos hidroxilo están esterificados con metanol. Para la formación del gel requieren la presencia de cationes divalentes empleando por lo general el calcio. En este caso la síntesis del gel ocurre por la formación de enlaces de dichos cationes con moléculas de pectina adyacentes formando una red tridimensional con los grupos carboxilo de la pectina (Badui, 2006; Ferreira, 2007).

Los geles se pueden obtener entre pH 1.0 a pH 7.0 o aun superior; el pH no afecta la textura del gel ni el intervalo de sólidos solubles y puede fluctuar entre 0 y 80% pero la presencia de calcio (40 y 100 ppm) es el factor predominante en la formación del gel. Si no hay calcio no se produce gelificación, aunque se puede emplear magnesio en este proceso. La cantidad de calcio necesaria depende de la cantidad de sólidos solubles, así para 30% de sólidos solubles se requieren de 40 a 100 ppm de calcio y para 45% de sólidos solubles de 20 a 40 ppm de calcio (Ferreira, 2007).

Las pectinas de bajo metoxilo pueden dividirse en tres grupos: las de gelificación rápida que poseen una alta reactividad con iones calcio y contienen un grado de esterificación aproximadamente del 30%; las de gelificación media, que poseen en una reactividad intermedia con iones de calcio y contienen un grado de esterificación aproximada del 32%; y por último, las de gelificación lenta que poseen una reactividad media con iones calcio y contienen un grado de esterificación aproximada del 35% (Gaviria y López, 2005).

Otra propiedad de las pectinas es la solubilidad, que también ayuda a su diferenciación. Bajo esta propiedad se distinguen tres clases, las pectinas solubles en agua, las pectinas solubles en oxalato y las pectinas solubles en ácido.

Las materias primas utilizadas para extraer pectinas a escala industrial son usualmente los subproductos de la industria de alimentos, tales como cáscaras de cítricos y pomáceos. Las preparaciones comerciales de pectinas poseen generalmente más del 70% de ácido galacturónico en peso. Las condiciones de extracción típicas son: pH= 1.5 a 3, temperatura entre 60-100 °C y tiempos de extracción entre 0.5 a 6 h (Schols y Voragen, 2002).

1.2 Aplicaciones de las pectinas

Las pectinas desempeñan un papel muy importante en la industrialización de las frutas, como la elaboración de jaleas (manufacturadas con pectinas de bajo grado de esterificación), gelatinas (con pectinas de alta esterificación) o geles similares y, sobre todo, en lo relacionado con la elaboración de bebidas. Asimismo, las pectinas se emplean en la elaboración de productos de relleno y de glaseado en panificación, para la estabilización de productos lácteos (pasteurizados, esterilizados o acidificados) y en la industria de la confitería (Rolin y De Vies, 1990; Valdez-Martínez, 2006).

La turbiedad, la viscosidad y el “cuerpo” de los jugos se dan debido a un sistema coloidal que depende de la concentración y del grado de polimerización de la pectina, así como el pH y las sales disueltas en el medio; de estas características depende que el consumidor acepte el producto o no, de manera que aquél que está clarificado generalmente no tiene demanda comercial. Sin embargo, en otros casos se persigue la eliminación de las pectinas como un paso importante en la clarificación de los jugos de uva y de manzana, para lo cual incluso se añaden enzimas comerciales. Por otra parte, estos polímeros llegan a causar problemas en ciertos procesos, sobre todo en la obturación de los poros de ciertos equipos usados en la industria.

Las pectinas de bajo grado de metoxilación se pueden emplear normalmente en la elaboración de recubrimientos comestibles ya que son capaces de formar geles firmes en presencia de iones de calcio, los cuales forman puentes estables con los grupos carboxilos de la pectina (Mancini y McHugh, 2000).

1.3 Recubrimientos y películas comestibles

Un recubrimiento (coating) comestible es definido como una capa delgada de material comestible formado como un revestimiento sobre el alimento mientras una película (film) comestible es una capa preformada y delgada elaborada con material comestible y la cual una vez elaborada puede ser colocada sobre el alimento o entre los componentes del mismo (McHugh, 2000). La principal diferencia entre ambos sistemas comestibles es que los recubrimientos son aplicados en forma líquida sobre el alimento, generalmente por inmersión del producto en una solución, y las películas comestibles son en primer lugar preformadas como láminas sólidas las cuales son posteriormente aplicadas en forma de recubrimiento sobre el alimento.

Según Kester y Fennema (1986) los recubrimientos comestibles tienen la función de retardar la migración de humedad, controlar el transporte de gases (O_2 , CO_2 y

etileno), retener componentes volátiles, servir de vehículo de aditivos, mejorar las propiedades mecánicas y de manejo del alimento, además de impartir una mayor integridad a la estructura del mismo (Figura 1.5).

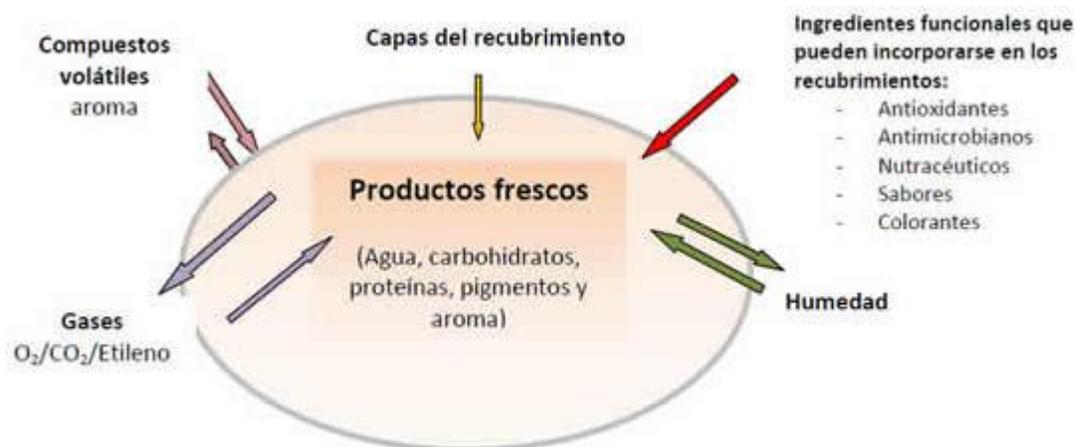


Figura 1.5. Propiedades funcionales de un recubrimiento comestible en frutas y hortalizas frescas (Falguera *et al.*, 2011).

1.4 Principales componentes de los recubrimientos comestibles

Para la formación de un recubrimiento comestible se necesita en primer lugar de una solución que pueda constituir una matriz estructural con suficiente cohesión (Debeaufort *et al.*, 1998). Cuando se combinan lípidos, proteínas y polisacáridos que pueden interactuar física y/o químicamente, se pueden obtener recubrimientos con mejores propiedades. Sin embargo, la compatibilidad de los componentes es un punto importante a considerar cuando se trata de una mezcla de biopolímeros, ya que se puede alterar drásticamente el funcionamiento de los compuestos del recubrimiento (Diab *et al.*, 2001).

Con el fin de mejorar el intercambio de gases, la adherencia, y las propiedades de permeabilidad a la humedad, generalmente se combinan dos o más materiales (Baldwin *et al.*, 1995). Dichas mezclas suelen realizarse mediante la emulsión de uno de los componentes, generalmente un lípido, en el resto de los componentes, o mediante un recubrimiento multicapa, donde éste se aplica mediante una técnica de laminación, en la cual se hace la inmersión de la fruta en una primera solución, generalmente la matriz, seguida por una inmersión en otro tipo de solución, ya sea de naturaleza lipídica o cálcica, entre otras.

Las coberturas de base polisacárida suelen usarse en frutas ya que reducen la tasa respiratoria y el intercambio de gases gracias a su permeabilidad selectiva al O₂ y al CO₂ (Nisperos-Carriedo, 1994; Nussinovitch, 1997) aunque son una barrera deficiente al vapor de agua (Kester y Fennema, 1986; García *et al.*, 1998).

La incorporación de otros componentes tales como lípidos, bien en una emulsión o como una capa dentro de las formulaciones de las coberturas, generalmente mejoran las propiedades de barrera al vapor de agua de este tipo de recubrimientos (García *et al.*, 2000; Yang y Paulson, 2000). Entre los polisacáridos empleados más frecuentemente como base para formar recubrimientos comestibles en frutas se encuentran: maltodextrina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, pectina, alginato y gelano (Pavlath *et al.*, 1993; Wong *et al.*, 1994; Yang y Paulson, 2000; Díaz-Sobac *et al.*, 2001; Turhan *et al.*, 2001; Le Tien *et al.*, 2001; Rojas-Graü *et al.*, 2006).

La celulosa es un polisacárido compuesto por unidades de D-glucosa que son altamente permeables al vapor de agua (Kester y Fennema, 1986). Constituye uno de los recubrimientos comestibles más empleados en productos frescos ya que posee formas solubles no iónicas, tales como la metilcelulosa (MC), y formas aniónicas, como la carboximetilcelulosa (CMC) que le confieren excelentes propiedades mecánicas y funcionales (Baldwin, 1999). Por sus efectivas cualidades y su bajo costo, Nispero-Carriedo (1994) aplicaron un recubrimiento a base de

carboximetilcelulosa, lecitina y polietilenglicol en rodajas de mango, logrando mantener el color original de la fruta durante todo el almacenamiento.

El quitosano de alto peso molecular, normalmente obtenido por desacetilación alcalina de la quitina proveniente de crustáceos, es ampliamente utilizado como recubrimiento comestible (Jiang y Li, 2001; Zhang y Quantick, 1998). Este tipo de recubrimiento es efectivo en prolongar la vida útil y mejorar la calidad de frutas ya que presenta una alta permeabilidad selectiva frente a los gases, una ligera resistencia al vapor de agua, además de poseer propiedades antifúngicas (Krochta y De Mulder-Johnston, 1997). La aplicación de coberturas de quitosano retardó los cambios en el contenido de antocianinas, flavonoides y fenoles totales, además de disminuir la pérdida de peso y el pardeamiento en frutas como “Litchi” (Zhang y Quantick, 1997). Del mismo modo, Assis y Pessoa (2004) evaluaron las propiedades de recubrimientos de quitosano aplicados en rodajas de manzana, observando que dicho recubrimiento era efectivo previniendo la pérdida de peso, además de ser un excelente recubrimiento antifúngico.

El alginato, es un polisacárido derivado de algas marrones de origen marino (*Phaeophyceae*), se encuentra formando parte de la pared celular de las algas, de forma análoga a la celulosa y pectina en la pared celular de las plantas terrestres (Mancini y McHugh, 2000). El ácido algínico es un copolímero insoluble y de bajo peso molecular de los ácidos gulurónico (G) y manurónico (M), pero sus sales de metales alcalinos son solubles en agua y forman geles rápidamente en presencia de calcio, los cuales presentan buenas características para ser empleados como películas comestibles. Las propiedades gelificantes del alginato se deben a su capacidad de formar enlaces con iones divalentes como el calcio. En presencia de iones de calcio, el alginato experimenta cambios conformacionales dando lugar al modelo de gelación conocido como “caja de huevo”.

Entre los polisacáridos, el alginato constituye uno de los biopolímeros más usados debido a unas propiedades coloidales únicas y a su habilidad para formar geles fuertes o polímeros insolubles al reaccionar con cationes metálicos polivalentes como el calcio (King, 1983; Rhim, 2004).

El gelano es secretado por la bacteria *Pseudomonas elodea* (Yang y Paulson, 2000). Es un hidrocoloide multifuncional el cual puede ser usado en una amplia variedad de productos alimenticios que demandan procesos de gelificación, texturización, estabilización, suspensión y formación de películas. El gelano, al igual que el alginato es muy apropiado para formar recubrimientos comestibles debido a sus propiedades coloidales y a su habilidad para formar geles en presencia de cationes tales como K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} (Yang y Paulson, 2000). Este polisacárido es capaz de formar recubrimientos con buenas propiedades mecánicas y de barrera, además de ser un gel de apariencia transparente.

El almidón es uno de los materiales crudos más comúnmente empleados en la agricultura ya que es económico, fácilmente disponible y relativamente fácil de manipular (Gontard y Guilbert, 1992). La amilosa es el compuesto responsable de la formación de recubrimientos en el almidón y su uso para tal fin se ha extendido en los últimos años. Los recubrimientos elaborados con este material presentan baja permeabilidad al oxígeno (Donhowe y Fennema, 1994). García *et al.*, (1998) trabajaron con recubrimientos de almidón con alto contenido en amilosa para el recubrimiento de fresas (*Fragaria ananassa*) logrando extender la vida útil de las frutas con disminución del proceso de senescencia, mantenimiento de la firmeza y reducción de la pérdida de peso durante el almacenamiento.

Los purés de frutas son también utilizados como matriz de recubrimientos comestibles, siendo las sustancias pécticas y celulósicas los constituyentes de sus polisacáridos primarios. Además, la variedad de azúcares presentes en los purés de frutas funciona como agentes plastificantes, lo que le confiere un beneficio añadido.

El uso de estos recubrimientos es también bastante reciente. McHugh *et al.*, (1996) fueron los primeros en desarrollar estas coberturas a partir de frutas como manzana, pera, melocotón y albaricoque, siguiendo las nuevas tendencias de consumo dirigidas a la adquisición de productos más naturales. Los autores señalaron que los recubrimientos de puré de frutas pueden ser usados en sistemas alimenticios, no sólo por sus favorables características sensoriales, sino también por sus propiedades de barrera, las cuales permiten mejorar la calidad del producto y extender su vida útil. Más adelante, McHugh y Senesi (2000) incorporaron lípidos a coberturas de puré de manzana con el fin de mejorar las propiedades de barrera de los recubrimientos, además de ácido cítrico y ácido ascórbico como inhibidores del oscurecimiento. Observaron que la adición de lípidos a las coberturas de manzana redujo significativamente la permeabilidad de agua, además de mantener el sabor y aroma de las piezas de fruta.

Algunos de los estudios que se han realizado con proteínas como base para fabricar recubrimientos comestibles incluyen: caseína, proteína aislada o concentrada de suero lácteo, gluten de trigo, zeína y proteína de soya, entre otras (Gontard y Guilbert 1992; Avena-Bustillos y Krochta, 1993; Gagri *et al.*, 2001; Sabato *et al.*, 2001; Pérez-Gago *et al.*, 2003).

La caseína, una proteína de la leche bastante soluble en agua, puede dar lugar a recubrimientos con buenas propiedades mecánicas, además de no conferir ningún tipo de color u olor diferente del alimento donde se aplica. Debido a su alta permeabilidad al vapor de agua, necesita de otras sustancias que mejoren sus propiedades de barrera. Por ejemplo, la incorporación de lípidos en recubrimientos de caseína provee una buena protección para frutas y vegetales contra la pérdida de agua y el pardeamiento oxidativo (Baldwin *et al.*, 1995).

Las coberturas hechas a partir de proteínas de suero aisladas poseen alta permeabilidad a los gases y han sido probadas en frutas. Un estudio realizado en

manzanas Fuji cubiertas con este tipo de recubrimiento comestible indicó que dichas coberturas son buenas barreras al intercambio gaseoso (Cisnero-Zevallos y Krochta, 2003).

La zeína es una proteína natural del maíz, insoluble en agua, pero soluble en soluciones acuosas de alcohol, glicerol y ésteres de glicerol (Martín-Polo *et al.*, 1992). Posee buenas propiedades para formar coberturas, además de excelentes propiedades de adhesividad y buena barrera al oxígeno, aunque por su elevada hidrofiliidad y fragilidad requieren la adición de agentes plastificantes como el glicerol (Gennadios y Weller, 1991). Park *et al.*, (1994) utilizaron zeína de maíz para elaborar coberturas comestibles y las usaron para recubrir tomates, obteniendo una reducción de cambios de color, pérdida de peso y firmeza de los frutos.

Por otro lado, el alcohol polivinílico (PVA) es un polímero biodegradable e hidrofílico, con múltiples usos en la preparación de materiales plásticos, tal es el caso de la industria farmacéutica que lo emplea como excipiente, adhesivo, formador de películas, lubricante en lentes de contacto, barrera al dióxido de carbono en botellas PET, y como recubrimientos en papel o películas solubles en agua, siendo esta última la principal aplicación en el campo de envases de alimentos. Tiene excelentes características para formar películas que presentan una buena resistencia a la tracción, flexibilidad y excelente barrera al oxígeno y otros gases permeantes, debido a la cristalinidad y cohesión interna. Sus propiedades son influenciadas por su grado de hidrólisis y su peso molecular. No es tóxico y no es carcinogénico (Piñuel *et al.*, 2010).

Además del componente de naturaleza polimérica y de alto peso molecular (matriz), otro componente importante de los recubrimientos son los plastificantes. Éstos son moléculas pequeñas de bajo peso molecular, de baja volatilidad y con una naturaleza química similar a la del polímero formador de recubrimiento. Se usan para mejorar la flexibilidad y la funcionalidad de los recubrimientos. Dentro de los agentes

plastificantes utilizados más frecuentemente se encuentran: glicerol, polietilenglicol, sorbitol, aceites, ácidos grasos, ceras, etc., siendo el glicerol uno de los más utilizados. Generalmente se requieren plastificantes como el glicerol en las formulaciones a base de polisacáridos y de proteínas, para aumentar la flexibilidad de los recubrimientos, al aumentar el volumen libre o la movilidad molecular de los polímeros, reduciendo los enlaces de hidrógeno internos entre las cadenas de polímeros y aumentando el espacio intermolecular. Sin embargo, los plastificantes pueden afectar la capacidad de atracción de agua del sistema y generalmente suelen aumentar la permeabilidad al oxígeno de los recubrimientos comestibles (McHugh y Krochta, 1994; Sothornvit y Krochta, 2000).

Agentes plastificantes como alcoholes polihídricos, ceras y aceites se utilizan para mejorar la flexibilidad y elongación del material de las sustancias poliméricas. La adición de surfactantes y emulsificantes reduce la actividad de agua superficial y la velocidad de pérdida de humedad de los alimentos recubiertos. Se pueden agregar también agentes de liberación controlada y lubricantes para prevenir que los alimentos recubiertos se hagan pegajosos; entre éstos últimos se incluyen grasas, aceites, emulsificantes, petrolato, polietilenglicol, y silicona. (Baldwin *et al.*, 1995). Ayranci y Tunc (1997) investigaron ácidos grasos como esteárico, palmítico y laúrico, adicionados a coberturas a base de celulosa para medir sus efectos sobre la disminución de la pérdida de humedad de fresas recubiertas.

1.5 Métodos de recubrimiento de alimentos

La aplicación de los recubrimientos y películas comestibles supone una alternativa a futuro para la conservación de los alimentos. Los procedimientos de aplicación del recubrimiento dependen mayoritariamente del tipo de producto que se desee recubrir. Algunos de los métodos utilizados se describen a continuación.

1.5.1 Inmersión (Superficies irregulares)

Es el método más adecuado para productos con superficies irregulares que requieren un recubrimiento uniforme (Baldwin *et al.*, 1997). El producto debe ser lavado y secado previamente, luego se sumerge en la solución de recubrimiento, garantizando un mojado completo. Tras la inmersión, se deja drenar el material sobrante y se procede al secado. Actualmente, se emplea en películas de cera, aplicadas en frutas y verduras, así como también en carnes, pescados y aves de corral.

1.5.2 Spray (Superficies lisas y uniformes)

Con este procedimiento se consiguen recubrimientos más delgados y uniformes que los obtenidos por inmersión. Este método es muy utilizado para superficies lisas y uniformes. La solución se aplica presurizada, y es mediante la regulación de esta presión como se consiguen diferentes tamaños de gota. Esta técnica es la más adecuada cuando buscamos recubrir una sola cara del alimento; por ejemplo, como es el caso de las pizzas, cuando llevan salsas húmedas.

Otras variaciones a este método pueden ser la aplicación del recubrimiento por medio de cepillos o rodillos (Guilbert, 1986).

1.5.3 Casting (Películas independientes)

Esta técnica permite la obtención de films independientes, de calidad, que facilitan la caracterización e investigación de sus propiedades, para optimizar los resultados.

Consiste en verter solución formadora de film sobre una superficie plana y se procede a su posterior secado. Después el film es retirado de la superficie, de forma

independiente. Debido a esto, esta técnica sólo se utiliza cuando el alimento a recubrir posee una matriz estructural suficiente.

1.6 Principales propiedades de los recubrimientos comestibles

De acuerdo a Olivas y Barbosa-Cánovas (2005) los recubrimientos comestibles aplicados en frutas producen una atmósfera modificada en la fruta, reducen el deterioro, retrasan la maduración de frutas, reducen la pérdida de agua, retardan los cambios de color, mejoran la apariencia, disminuyen la pérdida de aromas, transportan compuestos antioxidantes y estabilizan de la textura, imparten color y sabor, y pudieran servir como transporte de otras sustancias. Entre las principales propiedades de los recubrimientos comestibles pueden destacar las siguientes: fisicoquímicas, mecánicas, biológicas y reológicas.

1.6.1 Propiedades de barrera

Para muchas aplicaciones, la característica funcional más importante de los recubrimientos comestibles es la resistencia a la migración de humedad (Kester y Fennema, 1986). La deshidratación superficial constituye uno de los principales problemas en el mantenimiento de la calidad de los productos. La pérdida de agua de frutas y vegetales frescos se traduce en una pérdida de peso y de turgor del producto con la consecuente disminución de la calidad durante su comercialización (Avena-Bustillos *et al.*, 1994). La naturaleza del recubrimiento comestible empleado desempeña aquí un papel muy importante: a mayor hidrofiliidad de los materiales utilizados, mayor permeabilidad al vapor de agua (Martín-Belloso *et al.*, 2005).

Los recubrimientos elaborados a partir de polímeros naturales, tales como los polisacáridos (almidón y derivados de la celulosa, alginatos, pectinas, gelano,

carragenano, etc.), así como aquellos a base de proteínas, muestran una baja resistencia al agua y poseen pobres propiedades de barrera como consecuencia de su naturaleza hidrofílica (Yang y Paulson, 2000). Para mejorar las propiedades de barrera al vapor de agua de este tipo de recubrimientos se pueden incorporar lípidos, que emulsificados en la solución formadora de coberturas o formando una doble capa sobre el producto, pueden ayudar a prevenir reacciones degradativas del tejido como consecuencia de la pérdida de humedad, así como las reacciones respiratorias en los tejidos vegetales (García *et al.*, 2000; Yang y Paulson, 2000; Rojas-Graü *et al.*, 2006). De esta manera se pueden formular coberturas comestibles combinando las ventajas de los componentes hidrocoloides y de los componentes lipídicos, éstos últimos como barrera al vapor de agua y los primeros como barrera selectiva al oxígeno y al dióxido de carbono, además de proveer una matriz de soporte estructural (Kester y Fennema, 1986; Baldwin *et al.*, 1996).

Por otro lado, la habilidad de los recubrimientos comestibles para modificar el transporte de gases es importante para productos como frutas y vegetales frescos, los cuales son caracterizados por tener un metabolismo activo. Los recubrimientos comestibles aplicados a productos que respiran deben permitir una correcta modificación del entorno gaseoso dentro del envase (Gorris y Peppelenbos, 1992). Su uso sobre frutas permite la producción de una atmósfera modificada mediante un aislamiento del producto del ambiente que lo rodea (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2005). No obstante, aunque lo que se espera es una reducción de la transferencia de gases entre la fruta y el ambiente, recubrimientos extremadamente impermeables pueden inducir a la creación de condiciones de anaerobiosis que tienen como consecuencia una pérdida de los compuestos aromáticos típicos de la fruta y la presencia de aromas indeseables (Mattheis y Fellman, 2000). De allí radica la importancia de conocer con anterioridad tanto las características del producto que se quiera recubrir como el material a emplear en la elaboración del recubrimiento.

1.6.2 Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de los recubrimientos comestibles dependen en del tipo de material empleado en su elaboración y especialmente de su grado de cohesión, es decir, la habilidad del polímero para formar puentes moleculares numerosos y estables entre las cadenas poliméricas, los cuales impiden su separación (Guilbert y Biquet, 1996). Las propiedades de las coberturas dependen de la composición y estructura de los ingredientes. Por lo tanto, la elección de las sustancias a emplear y/o aditivos activos a añadir están totalmente relacionadas con la función para la cual se desea utilizar la cobertura comestible, la naturaleza del alimento y el método de aplicación (Debeaufort *et al.*, 1998). El recubrimiento de frutas suele hacerse por inmersión en una solución formadora de cobertura o por rociado de la misma sobre la fruta, generalmente precedidos por un rápido escurrido-secado de la solución sobrante y posterior almacenamiento refrigerado. Según Olivas y Barbosa-Cánovas (2005) cuando el material empleado para recubrir se coloca en la superficie de las frutas, se desarrollan dos fuerzas: cohesión de las moléculas dentro de la cobertura y adhesión entre el recubrimiento y la fruta. El grado de cohesión de los recubrimientos comestibles gobierna las propiedades de barrera y mecánicas de las coberturas. Una alta capacidad de adhesión asegura una durabilidad larga del recubrimiento en la superficie de la fruta.

1.6.3 Propiedades biológicas

Un uso potencial de los recubrimientos comestibles en frutas lo constituye la retención y el transporte de aditivos, tales como antioxidantes, antimicrobianos, estabilizantes y reafirmantes de la textura, colorantes, saborizantes, compuestos bioactivos o funcionales, entre otros, que podrían conferir un beneficio añadido al recubrimiento mejorando sus propiedades. Por ejemplo, el enriquecimiento de los recubrimientos comestibles con aditivos funcionales permite mejorar aspectos de

calidad, tanto nutricionales como estéticos, sin destruir la integridad del alimento (Guilbert y Biquet, 1996). Se ha demostrado que algunos aditivos actúan más efectivamente en alimentos cuando son aplicados formando parte del recubrimiento comestible que cuando son aplicados en soluciones acuosas mediante dispersión o inmersión, ya que las coberturas pueden mantener los aditivos en la superficie del alimento durante más tiempo (Baldwin *et al.*, 1996).

El pardeamiento enzimático constituye una de las principales causas de deterioro en frutas pudiendo ser evitado mediante la incorporación de antioxidantes en la formulación de las coberturas. Entre los antioxidantes normalmente usados en productos frescos para evitar el oscurecimiento superficial se encuentran, el ácido ascórbico, sus sales, 4-hexilresorcinol, el ácido cítrico, y algunos aminoácidos que contienen azufre como la cisteína, la N-acetilcisteína y el glutatión, entre otros.

Dichos compuestos pueden usarse solos o en combinación con otros aditivos, tales como antimicrobianos y agentes reafirmantes de la textura, con el fin de aumentar la vida útil de frutas (Pizzocaro *et al.*, 1993; Son *et al.*, 2001). La incorporación de agentes antimicrobianos dentro del recubrimiento comestible constituye una técnica innovadora en el mantenimiento de la seguridad, inocuidad y vida útil de alimentos mínimamente procesados. Entre los principales agentes antimicrobianos incorporados en recubrimientos comestibles se encuentran ácidos orgánicos y sus sales (ácido sórbico, propiónico y benzoico), bacteriocinas (nisina y pediocinas), sulfitos, nitritos, enzimas (lisozimas), Gelano y otros (Suppakul *et al.*, 2003). Una de las tendencias más recientes consiste en la incorporación de compuestos de origen natural, tales como el propoleo (Kim *et al.*, 2001) o extractos de plantas tales como canela, vainillina, clavo, orégano, cebolla, ajos, mostaza, semillas de pomelo, entre otras, los cuales poseen propiedades antimicrobianas (Brody *et al.*, 2001; Suppakul *et al.*, 2003). Skandamis y Nychas (2000) señalaron que la efectividad antimicrobiana de los aceites esenciales aumenta cuando el pH del alimento es bajo.

Además de compuestos antimicrobianos y antioxidantes, los recubrimientos comestibles también pueden incorporar agentes estabilizantes de la textura, imprescindibles para el mantenimiento de la calidad de productos frescos. Soliva-Fortuny *et al.* (2003) señalaron que las sales cálcicas se emplean frecuentemente en frutas frescas con la finalidad de frenar fenómenos de pérdida de firmeza. En efecto, uno de los compuestos más usados es el cloruro cálcico, el cual puede añadirse al recubrimiento para mantener la textura inicial de las frutas, mejorando su calidad durante el almacenamiento. La adición de calcio o de algún ión multivalente en un recubrimiento comestible facilita la formación de enlaces cruzados, contribuyendo a la obtención de recubrimientos estructuralmente más fuertes y estables (Wong *et al.*, 1994; Mei *et al.*, 2002; Rhim, 2004).

Los recubrimientos comestibles, además, pueden emplearse para transportar ingredientes activos, pudiendo ser excelentes vehículos para mejorar el valor nutricional de los alimentos (Rojas-Graü *et al.*, 2006).

1.7 Legislación actual referida al recubrimiento de alimentos.

No existe una normatividad específica para los recubrimientos comestibles, sin embargo, sobre los componentes de éstos, la COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios) tienen un acuerdo donde determina los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios y disposiciones sanitarias.

En el apartado cuarto de este acuerdo declara que los aditivos alimentarios pueden tener varias clases funcionales y/o funciones tecnológicas, las cuales son indicativas más no exhaustivas. En caso de que el fabricante del producto decida declarar la clase funcional o función tecnológica ésta debe ser la más descriptiva, permitiéndose la nomenclatura descrita en este acuerdo o bien, alguna otra similar o sinónima. Las

clases funcionales y funciones tecnológicas reconocidas son los agentes de glaseado que son sustancias que, cuando se aplican en la superficie exterior de un producto, confiere a este un aspecto brillante o lo revistan con una capa protectora. Dentro de estos están los agentes formadores de películas.

En cuanto a los productos que conforman las películas, se encuentran los aditivos alimenticios, ácido clorhídrico, sorbitol, EDTA, cloruro de calcio, glicerol, pectinas, ácido cítrico. De estos aditivos no existe regulación de la IDA (Ingesta Diaria Admisible); sin embargo, se puede considerar su uso de acuerdo a las BPF (Buenas Practicas de Fabricación), donde se indica que se debe añadir al producto, limitándose a la dosis mínima necesaria para obtener el efecto deseado, a condición de que no altere la naturaleza, sustancia o inocuidad del producto.

Lo anterior indica que, de acuerdo a la normatividad en México, en lo referente a películas utilizadas como recubrimiento en alimentos, se debe considerar que los productos que se emplean para la preparación de éstos, no sean tóxicos al humano y su ingesta no provoca algún daño a la salud. Sin embargo, no existe restricción de algún compuesto ni una cantidad específica de alguno de éstos.

En cuanto a la normativa internacional para alimentos que podría incidir en la regulación del uso de recubrimientos para alimentos, se encontró con la DIRECTIVA 95/2/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO, la cual es relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes. Sin embargo, tampoco se encontró normatividad en las sustancias que generalmente se emplean para la preparación de recubrimiento y la cantidad que los regula, *quantum satis* (cantidad adecuada), corroborando que los recubrimientos alimenticios son considerados hasta la fecha, sin repercusiones en la salud humana, siempre que los componentes de dicho recubrimiento estén identificados como productos comestibles.

1.8 Principales enfermedades de las manzanas (pomáceas).

Uno de los factores que mayormente inciden en la calidad y condición de manzanas, son las pudriciones. Generalmente sus síntomas se expresan luego de algunos meses de almacenaje en cámaras refrigeradas. Estas enfermedades causan pérdidas directas por desecho de la fruta sin valor comercial, e indirectas por la necesidad de adoptar medidas de control, además de los costos que implica el reembalaje de los frutos.

Las pudriciones más comunes son causadas por hongos, entre los que destacan el "Moho Verde" y la "Pudrición Calicinal", causadas por *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*, el "Corazón Mohoso" causado por *Alternaria alternata* (sólo afecta manzanas), la "Pudrición Blanca" (*Botryosphaeria dothidea*) y el "Ojo de Buey" (*Neofabraea alba*).

Moho verde (*Penicillium expansum*). Se caracteriza por ser un hongo extremadamente contaminante. Puede sobrevivir en el huerto en frutos que caen al suelo al momento de la cosecha, en donde produce una gran cantidad de conidias, las que son fácilmente removidas por el viento, contaminando superficialmente los frutos de la temporada. Durante la cosecha, heridas efectuadas en la manipulación de los frutos facilitan la penetración del hongo. Los síntomas consisten en lesiones redondeadas de consistencia blanda, que se cubren de abundantes conidias de color verde. Lluvias previas a la cosecha sirven para aumentar el inóculo. El hongo continúa produciendo conidias en el interior de las cámaras de almacenaje, las que son movidas por el aire frío de los ventiladores, cayendo sobre los frutos e iniciando nuevas pudriciones. En períodos de almacenaje prolongado, el Moho Verde, puede causar pérdidas bastante elevadas. Asimismo, *P. expansum* es capaz de contaminar distintos recintos del empackado, como cámaras de guarda, túneles de prefrío, líneas de selección, bins y especialmente el agua de lavado de los frutos.

Pudrición calcinal (*Botrytis cinérea*). Este es un hongo que coloniza los restos florales senescentes, permaneciendo latente adheridos a éstos, en la cavidad calicinal de peras y manzanas, hasta su madurez. Los síntomas se presentan después de los 3 meses de guarda refrigerada. *B. cinérea* no muere a temperatura de 0 °C. En peras y manzanas, cuyos restos florales venían contaminados con el hongo desde el huerto, forman un micelio de color blanco que crece formando los “nidos de botritis”, que, dependiendo de la duración de la guarda, pueden pudrir un número significativo de frutos.

Corazón mohoso (*Alternaria alternata*). Esta pudrición ocurre en manzanas de cavidad calicinal abierta, siendo importante en el cv. *Fuji*. El hongo coloniza restos florales senescentes, penetrando al interior del fruto a través del tubo calicinal, alcanzando la cavidad carpelar, cubriendo las semillas con un micelio de color gris oscuro. Las manzanas afectadas caen prematuramente de los árboles alrededor de 15 a 10 días antes de la cosecha. El síntoma del Corazón Mohoso sólo se puede observar al cortar los frutos.

Pudrición blanca (*Botryosphaeria dothidea*). En la primavera se inicia la liberación de ascosporas y conidias, dependiendo del estado sexual del hongo presente en los árboles, las cuales van a infectar los frutos en desarrollo desde la cuaja hasta la cosecha. Ambos tipos de esporas son diseminados por las lluvias y dispersadas por el viento. La infección ocurre por la penetración directa en frutos mojados y con temperaturas entre los 28 y 30 °C. El síntoma típico de Pudrición Blanca en los frutos es la decoloración de la epidermis, resaltando el color oscuro de las lenticelas. La pulpa de los frutos afectados permanece firme al tacto; sin embargo, la pudrición puede extenderse a la totalidad del fruto.

Pudrición “Ojo de Buey” (*Neofabrea alba*). La pudrición se observa en fruta almacenada por al menos tres meses, en forma de numerosas lesiones circulares localizadas en las lenticelas, con un centro de color pardo claro rodeado de un halo

más oscuro, lo que semeja un 'ojo de buey', nombre común a la enfermedad. Sobre las lesiones, se forman acérvulos blanquecinos y macroconidias curvas, características del estado asexual del hongo. El impacto de las gotas de lluvia sobre la masa conidial es fundamental para la dispersión de las esporas del hongo.

2 MÉTODO

El desarrollo experimental para la presente investigación se basa en 5 etapas. En la Figura 2.1, se muestran estas etapas y lo que incluye cada una.

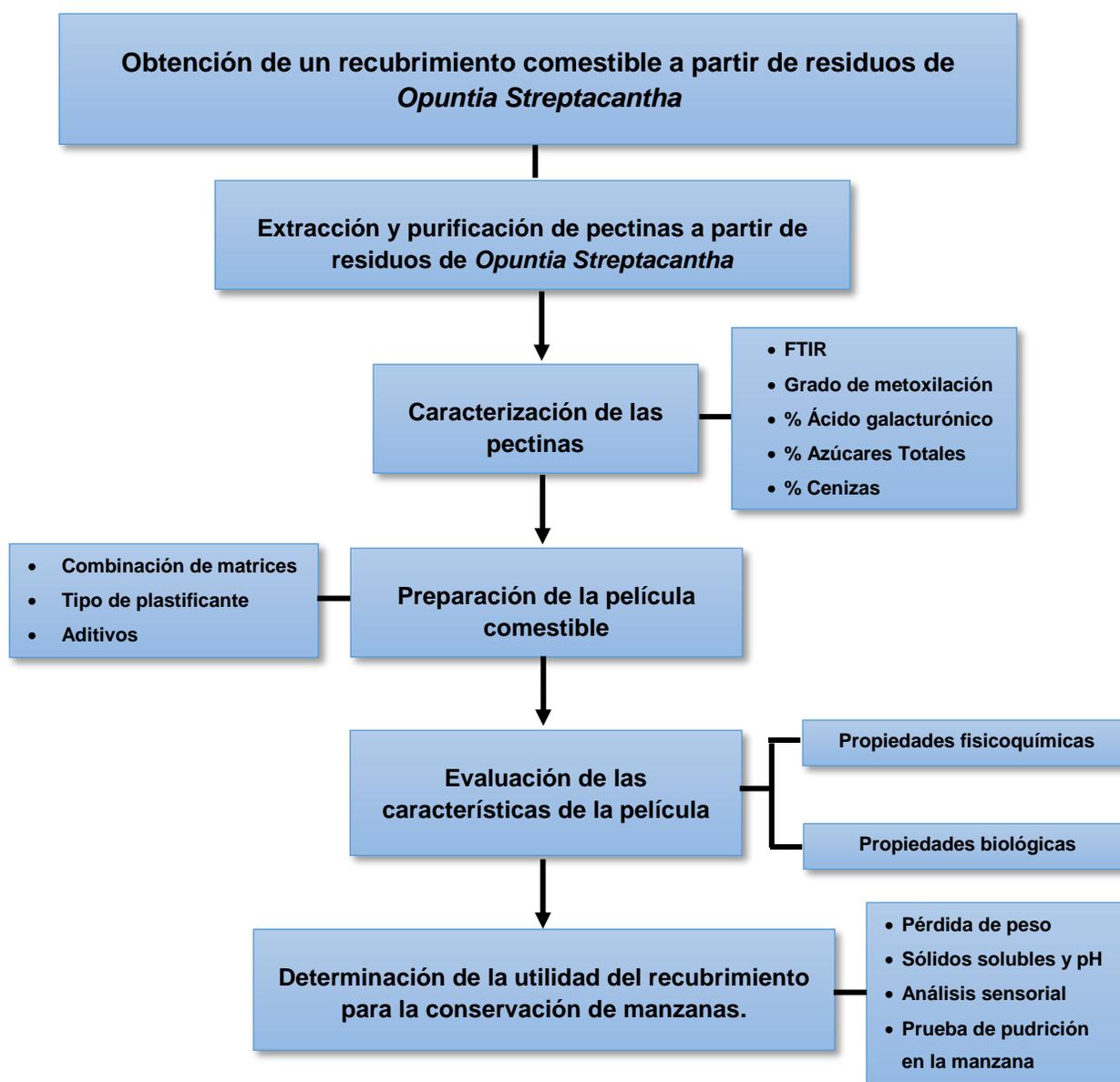


Figura 2.1. Etapas que comprenden el método utilizado en la investigación.

2.1 Extracción y purificación de pectina a partir de residuos de *Opuntia Streptacantha*

Los residuos de *Opuntia Streptacantha* fueron recolectados directamente del campo, de una parcela del Estado de México, en 2 periodos: uno en el mes de julio cuando aún estaba verde y otra fue en el mes de septiembre cuando ya estaba madura. Se tomó un solo lote de 5 kg separando a su vez esta cantidad en lotes pequeños de medio kg colocados en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas para pruebas subsecuentes. Los lotes se conservaron en refrigeración a -15 °C hasta su uso.

Para llevar a cabo la extracción de pectinas se utilizaron dos tipos de muestras referidas a la tuna, 1) uso de todo el fruto, 2) uso únicamente de la cáscara. A su vez, para cada caso se probó la extracción con fruto verde y fruto maduro.

En todos los casos, el procedimiento de extracción inició con el lavado de los residuos con agua de la llave, y a las tunas se les quitaron las espinas con un cuchillo, después se cortaron en trozos pequeños y se trituraron perfectamente en una licuadora Osterizer BLENDER.

Posteriormente, los residuos triturados se pesaron (30 gramos) y se colocaron en un matraz de 250 mL al que se le adicionaron 100 mL de agua destilada como disolvente. La mezcla se hirvió por 20 minutos a 85 °C, con el propósito de inactivar las enzimas pectinesterasas que hidrolizan los grupos éster metílicos, formando metanol y por ende, pectinas de menor metoxilo. Con este procedimiento también se inactivó la poligalacturonasa, que rompe los enlaces glucosídicos entre moléculas galacturónicas, despolimerizando la cadena en oligómeros más cortos y, finalmente, llegando al monómero del ácido galacturónico (Carbonell *et al.*, 1990). Después de la inactivación enzimática, las muestras se enfriaron y filtraron, el filtrado se desechó y los sólidos se guardaron para la correspondiente extracción, haciendo uso de los

siguientes métodos con el fin de comparar los rendimientos y la calidad del producto obtenido en cada caso:

Método I. El establecido por Lira-Ortiz *et al.*, (2014), el cual consistió en someter los sólidos obtenidos de la etapa anterior, a una extracción secuencial de 3 etapas. En la primera etapa, la extracción se realizó con agua destilada (100 mL) a temperatura ambiente, durante 2 horas. En la segunda etapa el extracto en solución fue eliminado y los sólidos se suspendieron en agua destilada (100 mL) durante 2 horas a 60 °C. En la tercera etapa, el extracto en solución se eliminó y los sólidos se resuspendieron en una solución acuosa de ácido acetilendiamino tetracético (EDTA) 1.0% (100 mL) durante 2 horas a 70 °C (pH 4.0).

Método II. Se basó en el anterior modificando la concentración de EDTA al 1.5%, la temperatura de 80 a 85 °C, el tiempo de suspensión de 1 hora y el pH a 2,5 (para ajustar el pH se empleó una solución de ácido clorhídrico 37.1%).

Método III. Se siguió el procedimiento anterior, con la excepción, de que el ácido clorhídrico fue sustituido por ácido cítrico 1 M.

Método IV. Se llevó a cabo mediante extracción enzimática. Para este caso se liofilizó la muestra triturada de la tuna y ésta se puso en contacto con la enzima comercial pectinasa (Sigma Aldrich) proveniente de *Aspergillus niger*. La degradación enzimática de la tuna se realizó bajo las siguientes condiciones: se pusieron 80 mL de solución amortiguadora ácido cítrico-citrato de sodio 50 mM, pH 4.0 en un reactor enchaquetado de mezclado ideal a 50 °C. Luego se agregaron 8 µg de enzima altamente purificada y posteriormente se agregaron 2 g de muestra liofilizada. La reacción se mantuvo bajo agitación constante durante 24 h. Al término de la reacción la suspensión fue filtrada. Los residuos despectinizados fueron lavados con agua y secados.

Una vez que se enfrió la mezcla proveniente de cada método se filtró y el recuperado de la filtración se mezcló con alcohol etílico absoluto en la misma proporción, acidulando la solución de un pH 2 a 2.5 con el mismo ácido utilizado en la extracción para cada caso, y dejando reposar por una noche para precipitar las pectinas a una temperatura de -5 °C.

Una vez que se obtuvo la precipitación, las muestras se decantaron y, el sólido obtenido fueron las pectinas. Para recuperar una mayor cantidad de pectinas, el sobrenadante se sometió nuevamente al mismo proceso de forma secuencial hasta agotar el producto, alcanzando de 4 a 5 extracciones de pectina.

Posteriormente todos los extractos se mezclaron para obtener un producto de cada método de extracción. El producto se secó a dos temperaturas de prueba, 30 y 45 °C. Una vez seco, se trituró en un mortero, se pesó y se guardó en un recipiente cerrado para su posterior análisis.

Los residuos obtenidos de la precipitación (sobrenadante), se mezclaron para obtener un solo residuo, el cual fue sometido a una destilación simple a 78 °C, que es la temperatura de ebullición del etanol, para recuperar el alcohol y usarlo nuevamente.

Finalmente, de cada muestra se obtuvo el rendimiento de pectina obtenido de acuerdo a la Ecuación 1.

$$\text{Rendimiento} = \frac{MPE}{MR} \times 100 \quad (1)$$

Donde:

MPE=masa de la pectina extraída (g)

MR=masa de los residuos (g)

2.2 Caracterización de las pectinas

Las pectinas obtenidas se analizaron bajo los siguientes parámetros y técnicas. 1) Análisis de grupos funcionales mediante FTIR, 2) grado de metoxilación, 3) porcentaje de ácido galacturónico, 4) porcentaje de azúcares totales y 5) porcentaje cenizas.

1) Análisis de grupos funcionales mediante FTIR. Se utilizó el espectrofotómetro FT-IR Varian 640-IR equipado con un ATR. Las regiones espectrales utilizadas fueron 4000 a 500 cm^{-1} , con 20 exploraciones y una resolución de 4 cm^{-1} . Se usó el software "Resolutions Pro". Los datos fueron procesados en Origin Pro 8, para su presentación.

2) Grado de metoxilación. Se empleó el método Owens *et al.*, (1952). Para lo que se realizaron los siguientes pasos:

1. Peso equivalente (Titulación A). Se pesaron 0.5 g de muestra de pectina en un matraz de 250 mL, se humedeció con 5 mL de etanol. Se le agregó 1.0 g de NaCl y 100 mL de agua destilada, se mezclaron perfectamente sin dejar grumos y se agregaron unas gotas de rojo fenol. Se tituló con NaOH 0.1 N hasta obtener un cambio permanente de color rosa. El peso equivalente fue calculado con la Ecuación 2:

$$PE = \frac{PMP * 1000}{V_{NaOH} * C_{de NaOH}} \quad (2)$$

Donde:

PE = Peso Equivalente

PMP = Peso de la Muestra de Pectina (g)

C = Concentración (meq/L)

V = Volumen gastado (mL)

2. Contenido de Metoxilo (MeO) (Titulación B). Se utilizó la solución neutralizada obtenida del peso equivalente y se le agregó 25 mL de NaOH 0.25 N, se dejó reposar por 30 minutos. Se le adiciono 25 mL de HCl 0.25 N y se tituló nuevamente con NaOH 0.1 N hasta un vire de color rosa permanente. El porcentaje de metoxilo fue calculado usando la Ecuación 3:

$$\%CM = \frac{meq\ del\ NaOH * 31}{PMP} * 100 \quad (3)$$

Donde:

CM = Contenido de Metoxilo

31 es el peso molecular del grupo metoxilo

PMP =Peso de la muestra de pectina (mg)

3. Contenido de ácido anhidrouronico (AUG). Fue calculado usando el valor del peso equivalente y el contenido de metoxilo (Ecuación 4).

$$AUG\% = \frac{176 * 100z}{z} \quad (4)$$

Donde 176 es el peso molecular del AUG y Z es el factor que se calcula con la Ecuación 5:

$$Z = \frac{PMP}{A + B} \quad (5)$$

Donde:

PMP = Peso de la muestra de pectina (mg)

A = meq de la titulación A (mL)

B = meq de la titulación B (mL)

4. Para el cálculo del grado de esterificación se utilizó la Ecuación 6.

$$DE(\%) = \frac{176 * MeO\% * 100}{31 * AUG\%} \quad (6)$$

3) Porcentaje de Ácido Galacturónico (AGU). Se determinó en diferentes fracciones pécticas mediante el método espectrofotométrico de determinación cuantitativa de ácidos urónicos propuesto por Kintner y Van Buren (1982), el cual se basa en la reacción de AGU con el reactivo cromóforo m-hidroxidifenil para dar un compuesto coloreado, que tiene un máximo de absorbancia en la longitud de onda correspondiente a 476 nm. Para su determinación se elaboró una curva de calibración de 0 a 100 mg/mL. Se empleó el espectrofotómetro UV-Vis Lambda PerkinElmer.

Para llevar acabo la separación de fracciones pécticas contenidas en la mezcla extraída, se consideró su solubilidad en agua, en solución de oxalato y solución ácida mediante el método de Yu *et al.*, (1996).

Pectinas solubles en agua. Se adicionaron 20 mL de agua destilada a 80 mg de pectina seca para obtener las pectinas solubles en agua, agitando por un minuto y centrifugando a 4000 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante se recolectó en un matraz aforado de 100 mL. El proceso se repitió otra vez y se aforó con agua destilada.

Pectinas solubles en oxalato, el residuo anterior se dispersó con 20 mL de solución acuosa que contiene 0.25% de oxalato de amonio y 0.25% de ácido oxálico. Se mantuvo en ebullición a reflujo durante una hora. Posteriormente, se enfrió y se centrifugó en las mismas condiciones anteriores. El sobrenadante se recolectó en un matraz aforado de 100 mL. Se repitió el procedimiento y se utilizó agua destilada para aforar.

Pectinas totales, se añadieron 2 mL de ácido sulfúrico concentrado a 5 mg de pectina seca con agitación suave y se adicionaron cuidadosamente 0.5 mL de agua destilada cuidadosamente. Se agitó durante 10 minutos, y se colocó en un matraz aforado de 25 mL, utilizando agua destilada para el aforo. Por último, se dejó reposar 24 horas para su lectura y se filtró.

Pectinas no extraíbles, se obtuvieron por diferencia entre las pectinas totales menos las pectinas solubles en agua y menos las pectinas solubles en oxalato.

4) Porcentaje de Azúcares Totales. Se determinaron a través de una curva de calibración de la absorbancia en función de la concentración para la cual se prepararon soluciones de 10-70 mg/L de manosa como estándar. Como blanco para las lecturas se utilizó agua destilada aplicándole el mismo tratamiento. Para la aplicación del método Dubois *et al.*, (1956) (Método Fenol-Sulfúrico), se mezclaron 2 mL de muestra con 2 mL de fenol al 5% en tubos digestores y se colocaron en una gradilla sumergida en un baño de agua fría. A los tubos se les añadieron 5 mL de H₂SO₄, se dejaron reposar por 15 min y se analizaron en un espectrofotómetro UV-Vis Lambda 35 PerkinElmer a una longitud de onda de 492 nm (se hizo un barrido previo para determinar la longitud de onda de máxima absorción).

5) Porcentaje Cenizas. Para determinarlas se utilizó una mufla Felisa. Se pusieron a peso constante las cápsulas que se utilizaron poniéndolas a calcinar en un ciclo de 12 horas a 550 °C. Se dejaron enfriar en un desecador durante 30 minutos, se pesaron las cápsulas y la muestra y se pusieron a calcinar en un ciclo de 12 horas a 500 °C. Se enfriaron por 30 minutos en el desecador y se pesaron. Para obtener el porcentaje de cenizas se utilizó la Ecuación 7.

$$\%Cenizas = \frac{(C_c - C)}{m} \times 100 \quad (7)$$

Donde:

C_c =masa de la cápsula con cenizas (g)

C =masa de la cápsula (g)

m =masa de la muestra (g)

2.3 Obtención y caracterización de las películas de pectina

Para preparar la película se utilizaron dos matrices, una a base de pectina con alginato de sodio y otra de pectina con PVA, cada componente se adicionó al 3% en peso, y después se le adicionó un plastificante como sorbitol o glicerol en un 5% en peso, y un aditivo como cera de abeja o aceite de orégano en un 0.2% en peso. En todos los casos se consideraron mezclas sin aditivo y/plastificantes.

En la Tabla 2.1 se presentan las combinaciones de polímeros utilizadas para la preparación de las matrices estudiadas.

Tabla 2.1. Componentes utilizados para elaborar las películas.

Matriz	Plastificante	Aditivo
Pectina-Alginato	Glicerol	Ninguno
Pectina-Alginato	Glicerol	Aceite de orégano
Pectina-Alginato	Glicerol	Cera de Abeja
Pectina-Alginato	Sorbitol	Ninguno
Pectina-Alginato	Sorbitol	Aceite de orégano
Pectina-Alginato	Sorbitol	Cera de Abeja
Pectina-PVA	Glicerol	Ninguno
Pectina-PVA	Glicerol	Aceite de orégano
Pectina-PVA	Glicerol	Cera de Abeja
Pectina-PVA	Sorbitol	Ninguno
Pectina-PVA	Sorbitol	Aceite de orégano
Pectina-PVA	Sorbitol	Cera de Abeja

Para realizar la mezcla se utilizó el agua destilada como disolvente, se mantuvo el pH de la solución entre 3.4 y 3.5, y se adicionó sacarosa.

Para homogeneizar los componentes en la dilución, primero se utilizó un agitador magnético a 200 rpm a temperatura ambiente durante 15 min, y después ésta se puso en un baño ultrasónico BRANSONIC 1800 en un ciclo de 30 minutos. Para las mezclas con aceite o sin aceite, la dilución se llevó a 25 °C, mientras que las mezclas con cera se realizaron a 60 °C.

Una vez homogéneas las mezclas de pectina-alginato, cada una se vació en una caja Petri y se le agregó una solución de cloruro de calcio al 30%. Para su reticulación, se dejaron en el refrigerador a una temperatura de 4 °C durante 24 horas, se lavaron con agua destilada y se secaron a temperatura ambiente por 12 horas.

Para el caso de las mezclas de pectina- PVA, éstas se colocaron sobre una superficie plana nivelada a temperatura ambiente y se dejaron secar durante 24 horas.

Una vez que las todas las películas se secaron, se separaron de las cajas y se guardaron en bolsas de polietileno para la determinación de sus características.

2.3.1 Determinación de las características fisicoquímicas de las películas

Las películas fueron analizadas de acuerdo a las propiedades fisicoquímicas humedad, cenizas, espesor de la película, color, apariencia, porcentaje de solubilidad, permeabilidad del vapor de agua y estructura química. Siguiendo estos resultados, se seleccionaron las películas con mejores propiedades para realizar el recubrimiento sobre manzanas. A continuación, se describe el procedimiento utilizado para determinar cada propiedad.

1. Humedad

Se determinó por el método gravimétrico; primero se tomó una muestra de 0.4 g y después se colocó en una cápsula de porcelana (puesta previamente a peso constante), se metió a una estufa de secado a 60 °C durante 2 horas, hasta obtener un peso constante. Para llevar a cabo el cálculo del porcentaje de humedad se utilizó la Ecuación 8.

$$\%Humedad = \frac{C_m - C_{ms}}{m} * 100 \quad (8)$$

Donde:

C_m =masa de la charola con la muestra húmeda (g)

C_{ms} = masa de la charola con la muestra seca (g)

m =masa de la muestra (g)

2. Cenizas

Se utilizó el método descrito para pectinas, por calcinación utilizando una mufla Felisa. Se pusieron a peso constante las cápsulas que se utilizaron poniéndolas a calcinar en un ciclo de 12 horas a 550 °C. Se dejaron enfriar en un desecador durante 30 minutos, se pesaron las cápsulas y la muestra y se pusieron a calcinar en un ciclo de 12 horas a 500 °C. Se enfriaron por 30 minutos en el desecador y se pesaron. Para obtener el porcentaje de cenizas se utilizó la Ecuación 7.

$$\%Cenizas = \frac{(C_c - C)}{m} x 100 \quad (7)$$

Donde:

C_c =masa de la cápsula con cenizas (g)

C =masa de la cápsula (g)

m =masa de la muestra (g)

3. Espesor de la película

Se evaluó mediante el uso de un vernier TRUPER, realizando cinco mediciones en cinco lugares diferentes (4 orillas y centro) de la película y se calculó el valor promedio.

4. Apariencia

Las películas se examinaron por observación visual, con un microscopio óptico A KRÜSS OPTRONIC a 10x, 40x y 100x de aumento y por SEM mediante un microscopio electrónico de barrido JOEL modelo JMS-6610LV. Para este último, las muestras se secaron previamente a 45 °C por 1 día. Las piezas de película se montaron en un porta muestras propio del equipo y se adhirieron con una cinta doble cara de cobre, permitiendo la visualización de la superficie. Todas las muestras se analizaron con un voltaje de aceleración de 5 kV. Las micrografías de la superficie de las muestras se obtuvieron con un aumento de 100x.

5. Porcentaje de solubilidad

Se evaluó, usando piezas de las películas de 2x3 cm previamente secas a 60 °C. y puestas a peso constante. Las muestras ya pesadas se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL con 80 mL de agua desionizada, bajo agitación constante de 200 rpm, durante 1 hora a 25 °C. Las piezas de las películas fueron filtradas y secadas nuevamente a 60 °C hasta peso constante. El porcentaje de solubilidad se calculó con la Ecuación 9.

$$\%Solubilidad = \frac{(P_{si} - P_{sf})}{P_{si}} \times 100 \quad (9)$$

Donde:

P_{si} = Peso seco inicial (g)

P_{sf} = Peso seco final (g)

6. Permeabilidad al vapor de agua

Se determinó usando una modificación del método ASTM E96-95 (ASTM, 1995). Se cortaron las películas en círculos y se colocarán como tapa o cierre de unas tazas de vidrio (5.5 cm de diámetro y 1.5 cm de profundidad), que contenían 4 g de silica gel deshidratada como desecante. Éstas se colocaron en un desecador que contenía agua, equipado con un ventilador para asegurar una humedad relativa homogénea. La temperatura dentro del desecador fue de 25 °C. La unidad de prueba se pesó periódicamente (intervalo de 1 hora), en un lapso de 7 horas; el peso se representó gráficamente como una función del tiempo.

La velocidad de transmisión de vapor de agua se tomó como la pendiente de la curva (en la región lineal) dividida por el área de apertura. Los resultados fueron obtenidos mediante la Ecuación 10:

$$PVA = \frac{m \cdot e}{t \cdot A \cdot P_0 (UR_1 - UR_2)} \quad (10)$$

Donde:

$\frac{m}{t}$ = la tasa de alteración de masa (g.h⁻¹)

e = espesor de la película (mm)

A = Área de la película expuesta a la permeabilidad (m²)

P_0 = Presión de vapor de agua a 25 °C es igual a 3,159 KPa 50:0 (humedad relativa fuera de la celda: humedad relativa en el interior de la celda).

7. Grupos funcionales

Se utilizó un espectrofotómetro FTIR Varian 640-IR equipado con un ATR. Se colocó una muestra de la película en el módulo ATR y se realizó un barrido entre los 4000 a 500 cm⁻¹, con 20 exploraciones y una resolución de 4 cm⁻¹. Se compararon los espectros obtenidos, con los espectros de estándares de pectina, alginato y PVA con

el uso del software “Resolutions Pro”. Los datos fueron procesados en Origin Pro 8, para su presentación.

2.3.2 Propiedades biológicas

Las propiedades biológicas que se consideraron para evaluar en la película fueron la actividad antimicrobiana y antioxidante.

1. Actividad antimicrobiana

Se realizó utilizando *E. coli* como testigo. En cajas Petri con agar-TSA solidificado se adicionó *E. coli* y un cuadro de 1 cm², con ayuda de pinzas estériles. Las placas se incubaron por 24 h a 37 °C y se determinó el halo de inhibición. Se empleó como control positivo el antibiótico cefalexina. Para el cálculo del porcentaje de inhibición se utilizó la Ecuación 11.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{A}{B} 100 \quad (11)$$

Donde:

A= diámetro del halo de inhibición de las películas (cm)

B= diámetro del halo de inhibición de la cefalexina (cm)

2. Actividad antioxidante

Se determinó mediante el método ABTS (2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico). Debido a que la solución del radical catión ABTS^{•+} solo es estable durante máximo dos días, ésta se preparó con suma precaución un día antes de su uso. Para ello, se pesaron 77.6 mg del reactivo ABTS y se adicionaron 20 mL de agua destilada, obteniendo una concentración 7 mM en solución acuosa. Posteriormente,

se pesaron 13.2 mg de persulfato de potasio (2.45 mM) y se hicieron reaccionar en un frasco ámbar con la solución de ABTS^{•+}. Se homogenizó y cubrió con papel aluminio. La solución se incubó entre 12 y 16 horas a temperatura ambiente antes de su uso y se almacenó a temperatura ambiente. Una muestra de esta disolución, se diluyó en etanol absoluto hasta obtener una absorbancia inicial de $1.6 \pm (0.1)$ a 750 nm (longitud de onda de máxima absorción).

Se hizo una curva de calibración del antioxidante sintético de referencia (ácido ascórbico de 0-50 mg/100 mL). Los resultados se expresaron en VCEAC (actividad antioxidante equivalente a ácido ascórbico).

Se tomaron 60 μ L de las muestras y se les añadieron 2940 μ L de la dilución del radical ABTS, se colocaron en un baño a 37 °C durante 5 minutos. Después del tiempo transcurrido se les midió la absorbancia en la longitud de onda donde se encontró la máxima absorbancia de la dilución del radical ABTS. Como blanco se utilizaron 60 μ L de etanol al 50% y 2940 μ L de la dilución del radical ABTS.

2.4 Determinación de la utilidad del recubrimiento para la conservación de manzanas

Inicialmente se llevó a cabo un estudio de la adherencia de las películas ya seleccionadas en manzanas Golden, se hizo un seguimiento de las mismas en un periodo de 15 días. Cabe mencionar que las manzanas no contaron con un proceso de almacenamiento en refrigeración.

Posteriormente se llevó a cabo el análisis para determinar la conservación de las manzanas.

Las manzanas que se emplearon para este estudio, fueron recolectadas en un poblado del Estado de México. Se utilizaron manzanas criollas amarillas, con la

finalidad de que no contaran con algún recubrimiento o pretratamiento para su conservación.

Las manzanas se lavaron con agua de la llave y un poco de jabón, se secaron y se seleccionaron las mejores.

Para colocar la película en las manzanas, se utilizó la técnica de inmersión de alimentos, sumergiendo las manzanas en la solución de revestimiento durante 30 s a temperatura ambiente a 22 °C. El exceso de recubrimiento se drenó y se escurrió, las manzanas recubiertas se secaron a temperatura ambiente durante 30 min. Como blanco, se utilizaron manzanas sumergidas en agua destilada. Los recubrimientos utilizados fueron los seleccionados en la etapa anterior.

Después del proceso de recubrimiento, las manzanas se colocaron en recipientes de vidrio individuales y se identificaron por recubrimiento y fecha, una serie de esas manzanas se almacenaron en refrigeración entre temperaturas de 2 y 4 °C y 85 a 90% de humedad relativa durante 2 semanas. Como blanco se utilizó otra serie de manzanas almacenadas a una temperatura entre 20 y 25 °C.

Diariamente se monitoreo a cada una de las manzanas con los diferentes recubrimientos y se tomaron fotografías a los 8 y 15 días para tener referencia de los cambios sufridos durante ese período. Al final del periodo, se realizaron los siguientes análisis y se compararon con el estado inicial.

2.4.1 Pérdida de peso de la manzana

La pérdida de peso de las manzanas se determinó por diferencia de peso. Para esto, se pesaron las manzanas individualmente en una balanza granataría Scout Pro, y se recubrieron con la película (peso inicial) y después de 15 días se volvieron a pesar

(Peso final) para determinar la pérdida de peso. Se tomaron precauciones necesarias para que no hubiera alguna contaminación cruzada, limpiando la balanza entre cada pesada. Se calculó el porcentaje de pérdida de peso con la Ecuación 12. Esto se hizo por triplicado y se tomó el promedio de los valores.

$$\%Perdida\ de\ peso = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100 \quad (12)$$

Donde:

P_i = Peso inicial (g)

P_f = Peso final (g)

2.4.2 Sólidos solubles y pH

Los sólidos solubles son referidos a los azúcares presentes en la manzana. Los sólidos solubles se evaluaron utilizando un refractómetro Abbe K. Fuji, midiendo la cantidad de azúcares en la muestra, en grados Brix (°Br) de acuerdo a la NMX-103-1982. Después de los 15 días de almacenamiento, se tomó una pequeña muestra de cada manzana, se trituró en un mortero y se tomó una gota para determinar el índice de refracción.

El pH del jugo se determinó del jugo de una muestra molida y filtrada de las manzanas, con el potenciómetro HI 9126 HANNA.

2.4.3 Análisis sensorial

Para realizar la prueba sensorial se recurrió a un grupo de consumidores de diez personas, con edades comprendidas entre 24 y 43 años los de edad. A cada

consumidor se le proporcionó un plato con trozos de manzanas que fueron recubiertas con las películas seleccionadas de la etapa anterior y después de 15 días de almacenamiento en refrigeración. En cada plato se incluyó un trozo de una manzana recién cortada, utilizada como control.

El análisis consistió en una prueba afectiva con una escala hedónica de 9 puntos (Tabla 2.2).

Cada trozo se identificó con un número de 4 dígitos seleccionados al azar. Los atributos evaluados fueron: apariencia, sabor, crocante y textura en la boca.

Tabla 2.2. Escala de Puntuación.

1= Me disgusta muchísimo
2=Me disgusta mucho
3=Me disgusta moderadamente
4=Me disgusta un poco
5=Ni me gusta Ni me disgusta
6=Me gusta
7=Me gusta moderadamente
8=Me gusta mucho
9=Me gusta muchísimo

2.4.4 Prueba de pudrición en la manzana

Se llevó un seguimiento de pudrición de las manzanas identificando los microorganismos presentes en la corteza y en el interior de la misma. Se tomó una muestra de los microorganismos presentes en las manzanas recubiertas y del control (manzana sin recubrimiento), y se colocó sobre un portaobjeto con una gota de agua destilada. Y se observó en un microscopio óptico A KRÜSS OPTRONIC a 10x, 40x y 100x de aumento.

3 RESULTADOS

3.1 Extracción y purificación de pectina a partir de residuos de *Opuntia Streptacantha*

En la Figura 3.1 se muestra (A) la *Opuntia Streptacantha* ya madura en el campo, (B) la pectina obtenida después de la extracción y (C) la pectina ya seca y molida.

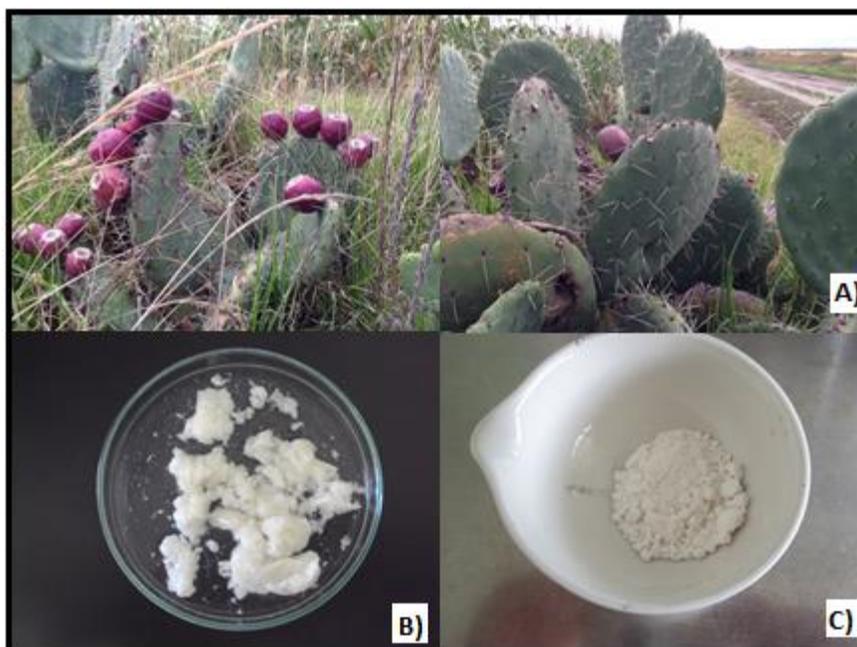


Figura 3.1. A) *Opuntia Streptacantha* ya madura en el campo, B) Pectina extraída y C) Pectina seca y molida.

Como se observa en la Figura 3.1 no se conserva el color de la tuna en la pectina obtenida.

Los resultados de rendimiento en la obtención de pectinas son presentados en la Figura 3.2, considerando los 4 métodos de extracción.

Los datos de rendimiento, corresponden a todo el fruto de *Opuntia Streptacantha*, incluyendo la pulpa y cáscara, así como el fruto verde, debido a que bajo estas condiciones se obtuvo mayor rendimiento. Lo anterior se explica, ya que durante la maduración normal de los frutos las pectinas son degradadas, lo cual contribuye a cambios de textura como el ablandamiento y la liberación de jugo. Esta degradación ocurre por la acción de dos enzimas: la pectinmetil-esterasa (PME) que cataliza la “demetilación” de las pectinas y la poli-galacturonasa (PG) que reduce a menor tamaño las pectinas demetiladas en una reacción de “depolimerización” (Ashraf *et al.*, 1981; Roe y Brummer, 1981).

Considerando el rendimiento obtenido en los métodos de una sola extracción, se observó un porcentaje de rendimiento similar con los métodos I, II y III, por lo que no hubo diferencia en entre estos tres métodos de extracción. Sin embargo, se obtuvo un mayor rendimiento utilizando el método IV, donde la extracción fue por medio enzimático.

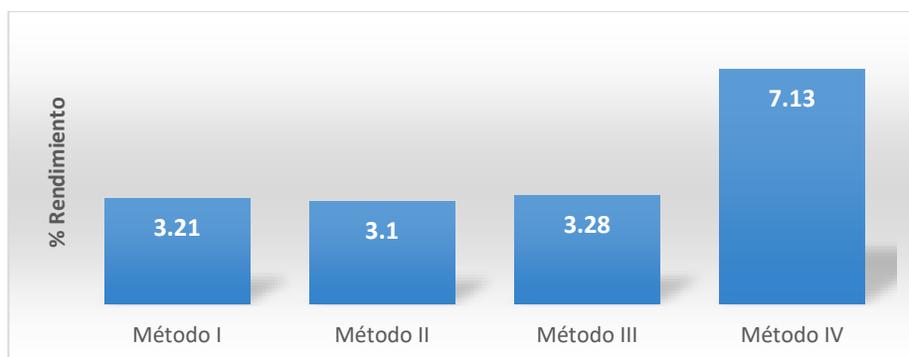


Figura 3.2. Porcentaje de extracción de pectinas de los métodos utilizados.

Comparando los porcentajes de rendimiento con el trabajo realizado por Yuliarti *et al.*, (2015), se encontró que el rendimiento de obtención de pectina fue semejante al encontrado en este trabajo. Yuliarti *et al.*, (2015) utilizaron el fruto de Kiwi (*Actinidia chinensis*) para la obtención de la pectina mediante un método similar al II y III descritos en este trabajo, y un método enzimático propuesta por estos autores. El

porcentaje obtenido por estos métodos fue del 3.3 y 4.48% respectivamente. Sin embargo, Lira-Ortiz *et al.*, (2014) obtuvieron 9.8 % de rendimiento utilizando en método I que se reprodujo en este trabajo. Lo anterior se atribuye a que se obtuvo a partir de la cáscara de tuna *Ficus indica* cuyo fruto tiene mayor peso que los anteriores.

3.2 Caracterización de las pectinas

1) Análisis de grupos funcionales mediante FTIR. El espectro del ácido galacturónico se muestra en la Figura 3.3, indicando los picos representativos de este compuesto, el cual fue utilizado como referente de las pectinas.

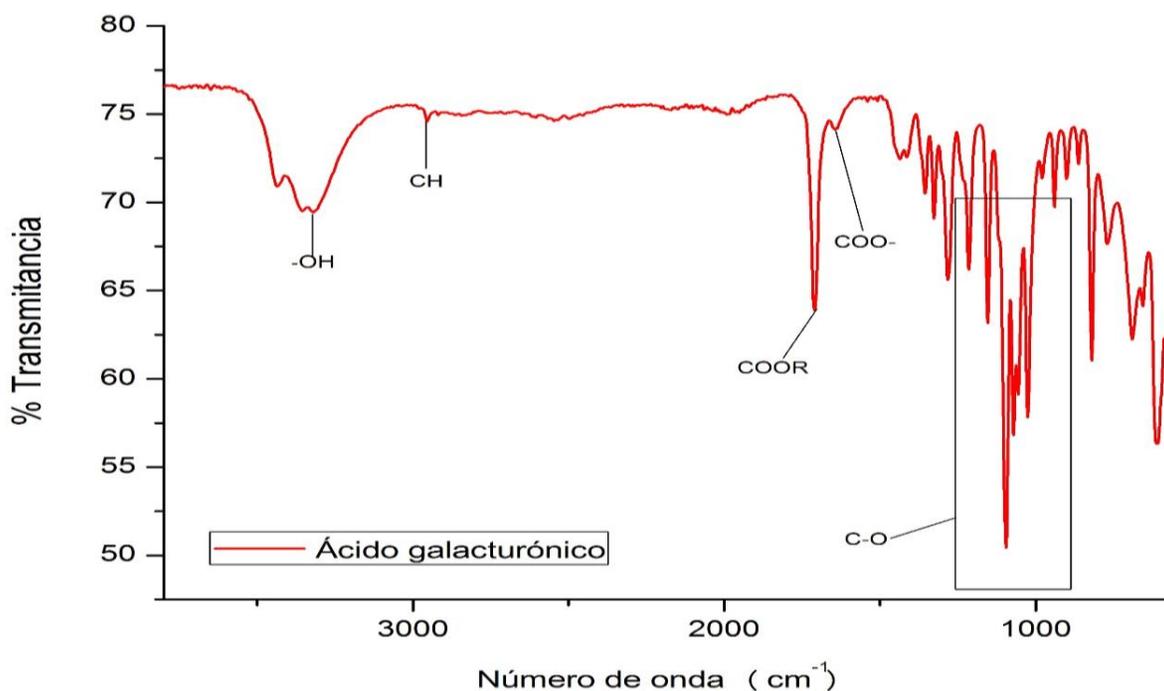


Figura 3.3. Espectro FTIR del ácido galacturónico.

Entre las bandas se encuentran, la localizada entre 3300 y 3400 cm⁻¹ característica del grupo OH; la banda que se encuentra en 2940 cm⁻¹, característica del grupo metil

(-CH₃). La región que corresponde a los grupos carboxilos libres (COO⁻) y esterificados (COOR), se ubica de 1650 y 1750 cm⁻¹, respectivamente. Las vibraciones características de los monosacáridos y polisacáridos generalmente se presentan en la región entre los 1200 y 900 cm⁻¹ debido a los fuertes enlaces C-O que se relaciona con los azúcares (Cardenas *et al.*, 2008; Jiang *et al.*, 2012; Kanmani *et al.*, 2014; Lira-Ortiz *et al.*, 2014).

En la Figura 3.4-3.7 se muestran los espectros IR de la pectina extraídas con los métodos I, II, III y IV, cada uno conjuntamente con el del Ácido Galacturónico.

En la Figura 3.4 se observa que el espectro de la pectina obtenida con el método I, exhibe las mismas bandas del ácido galacturónico; sin embargo, la intensidad de alguna de ellas, se encuentra reducidas, lo cual se debe probablemente a la degradación de la pectina sufrida en el proceso de extracción o a la impureza de la pectina obtenida.

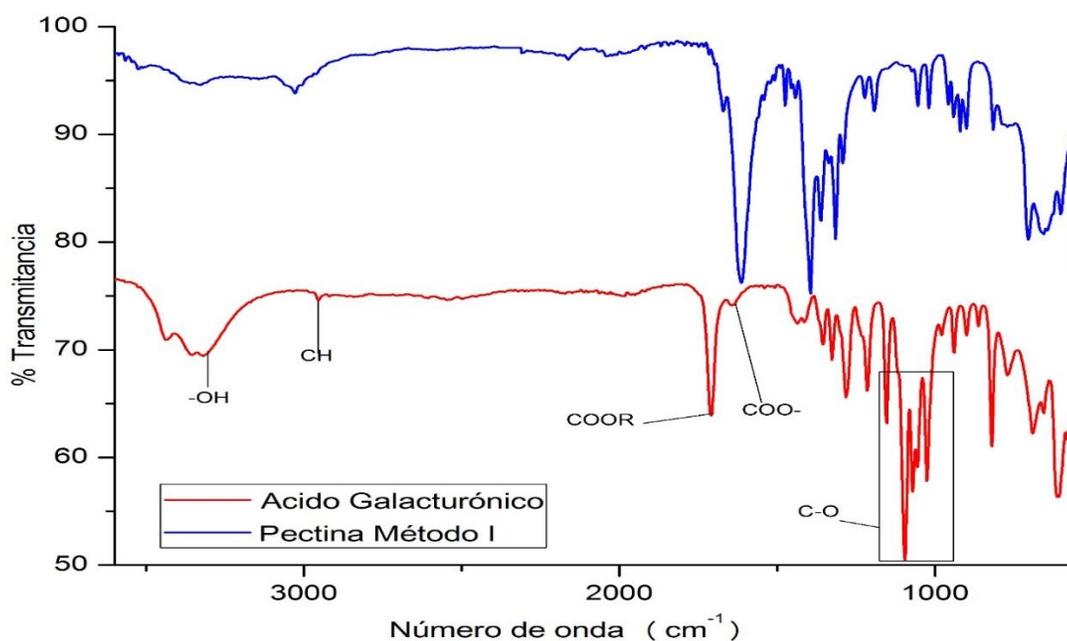


Figura 3.4. Comparación del espectro FTIR del ácido galacturónico contra la pectina extraída por el método I.

En la Figura 3.5 el espectro correspondiente a la pectina obtenida por el método II, presenta el mismo comportamiento que la pectina obtenida por el método I, no obstante, se pierde aún más la intensidad de las bandas. Por ejemplo, la banda del OH apenas se percibe, lo cual se atribuye a la impureza de la pectina en comparación a la pureza del Ácido Galacturónico, y probablemente aún más por la degradación del producto debido al ácido utilizado en la extracción.

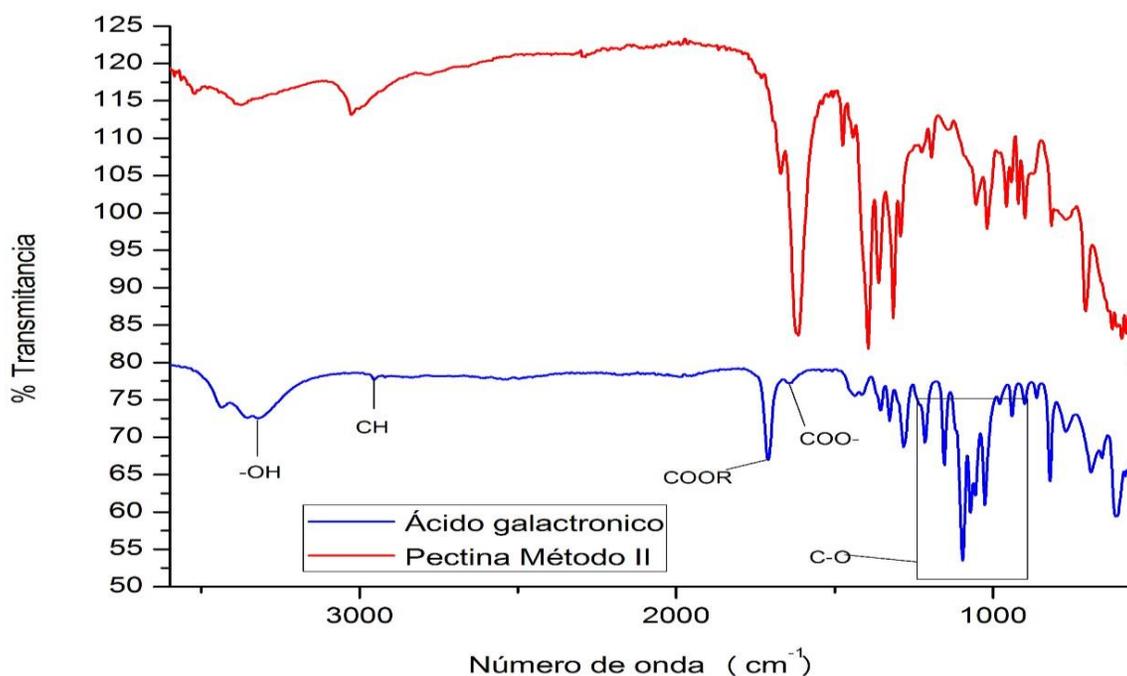


Figura 3.5. Comparación del espectro del ácido galacturónico y la pectina extraída por el método II.

La Figura 3.6, muestra el espectro de la pectina extraída por el método III y la del Ácido Galacturónico, donde se puede notar que varias bandas se ven muy tenues y poco definidas y otras son notorias como las de 2900 y 1650, comparando con las del referente, lo cual es atribuido a la impureza y/o degradación de la pectina.

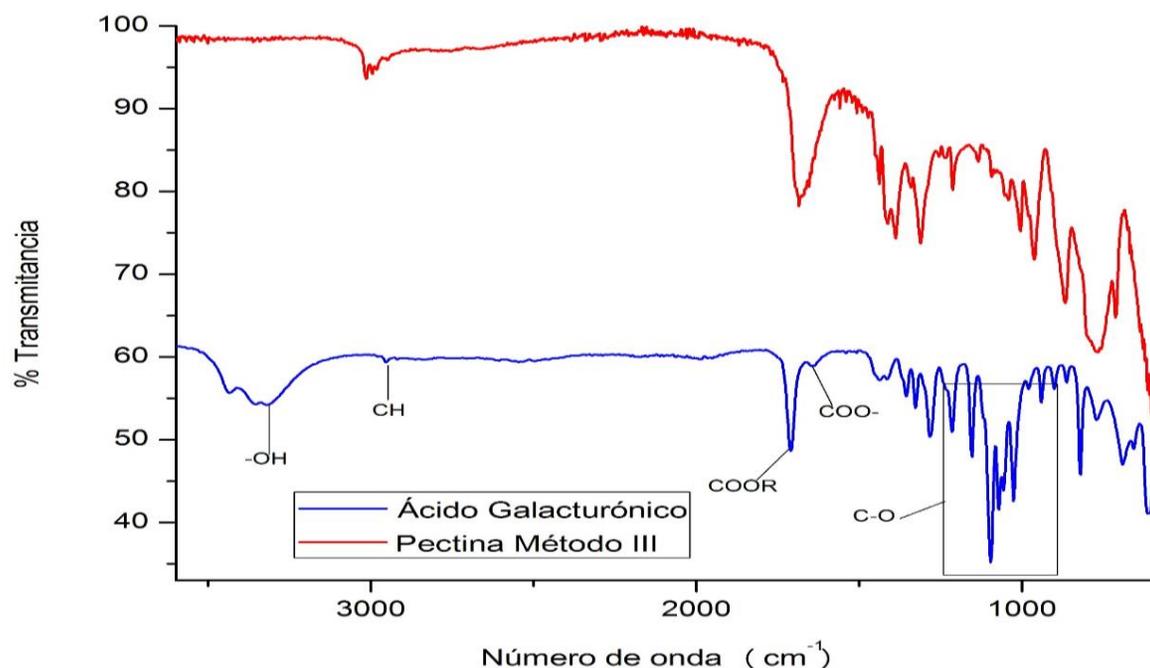


Figura 3.6. Comparación del espectro del ácido galacturónico y la pectina extraída con el método III.

Con respecto al espectro de la pectina obtenida mediante el método IV (proceso enzimático), dado en la Figura 3.7, se observa una mejor definición de bandas y es comparable al referente, desde la banda de los OH, grupos CH₃, COOR y COO⁻, y C-O; en diferentes intensidades. Este resultado podría confirmar que la pectina obtenida bajo este proceso no degrada al producto, por lo que los resultados anteriores podrían indicar que los métodos I-III, degradan parcialmente a la pectina.

Bajo éstos resultados, se seleccionaron pectinas obtenidas por el método I y método IV, realizando una mezcla de ambas para su posterior análisis.

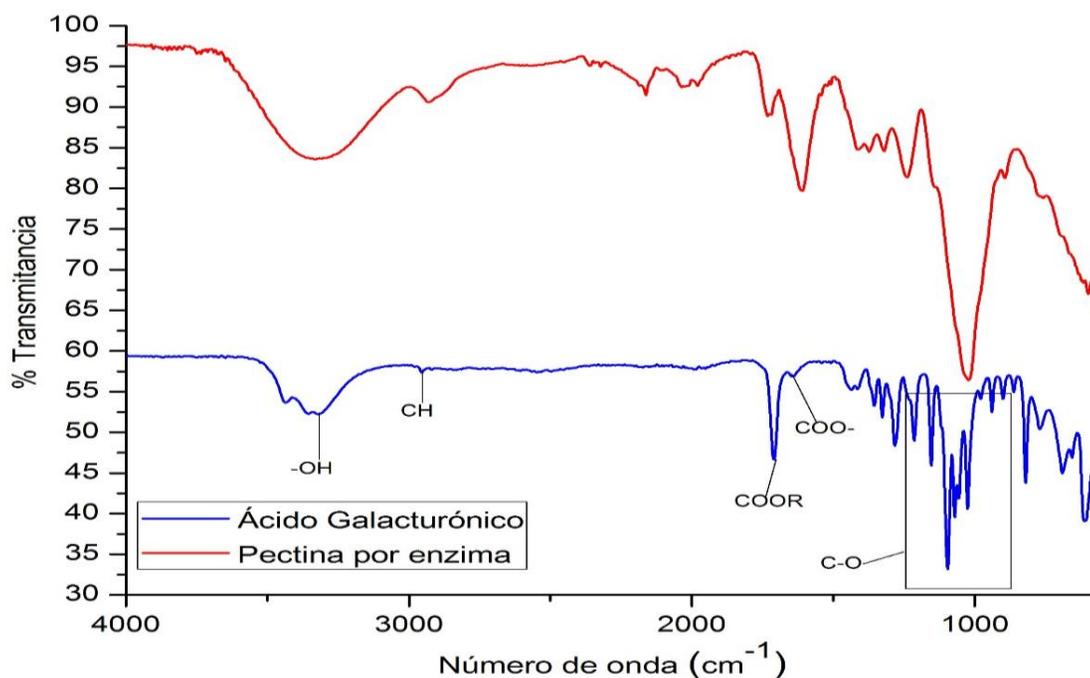


Figura 3.7. Espectro FTIR de pectina extraída con la enzima *Aspergillus niger*, comparada con el ácido galacturónico.

2) Grado de metoxilación. Los resultados obtenidos fueron de 55.60% de metoxilación que corresponde a una pectina de alto metoxilo lo cual indica que estas pectinas son capaces de formar geles en condiciones de pH bajos (entre 2.8 y 3.5) y con altas concentraciones de azúcar (Ferreira, 2007).

3) Porcentaje de ácido galacturónico. En la Figura 3.8 se presenta la banda característica del ácido galacturónico y la longitud de onda correspondiente en 476 nm. En la Figura 3.9 se presenta la curva de calibración para el ácido galacturónico, para la que se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.9941.

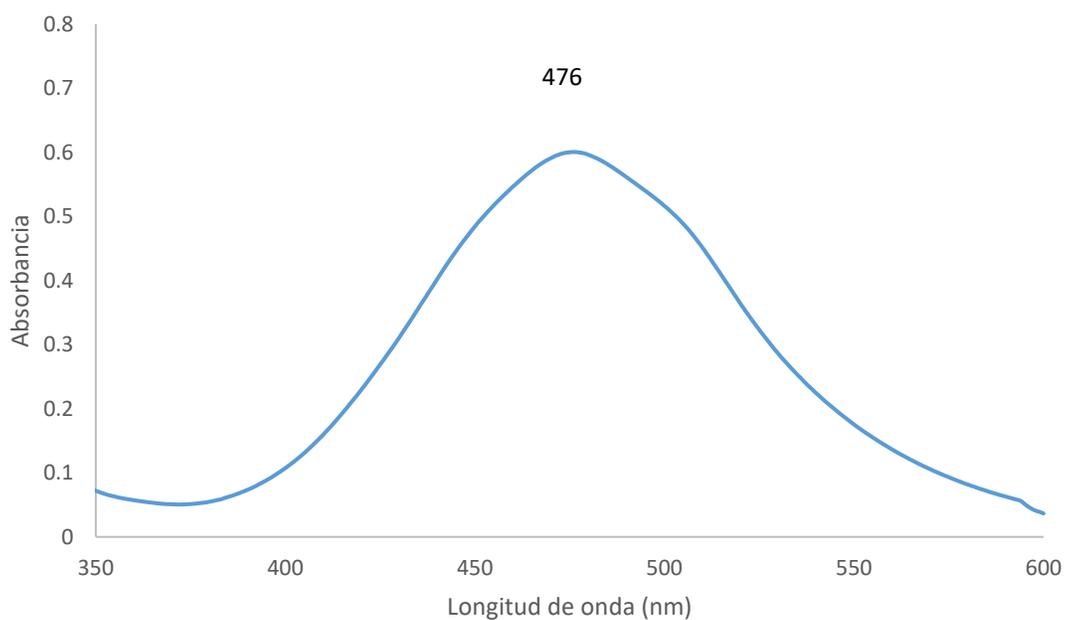


Figura 3.8. Espectro de absorción UV-vis del ácido galacturónico con el cromóforo m-hidroxidifenil.

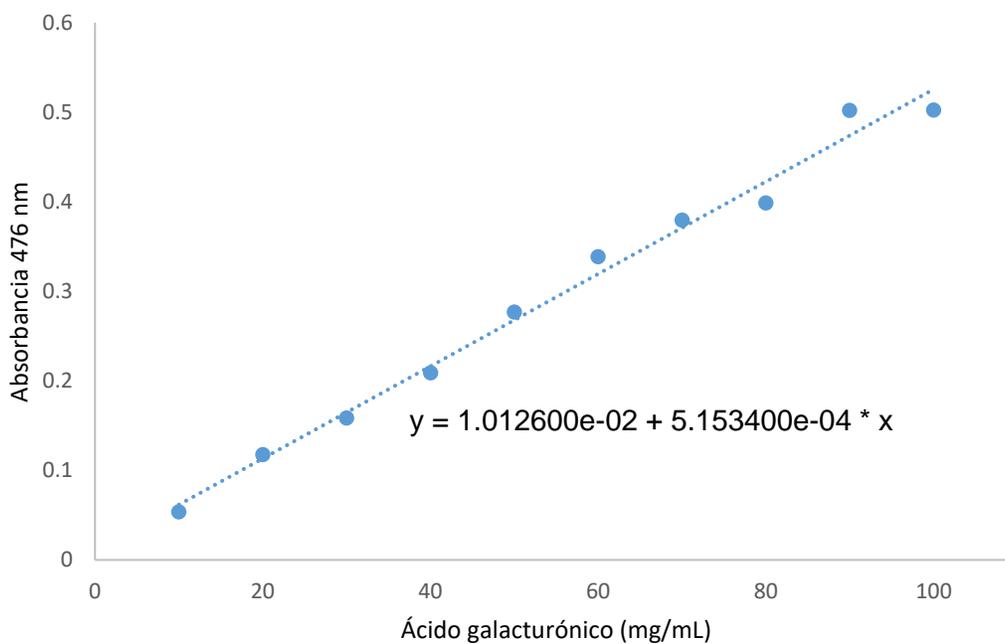


Figura 3.9. Curva de calibración de ácido galacturónico.

Con base a esta curva, los resultados de la cantidad de ácido galacturónico en la pectina se presentan en la Tabla 3.1, registradas de acuerdo a la solubilidad de la pectina en agua y oxalato, También se presentan las pectinas totales y las pectinas no solubles, identificadas como PSA, PSO, PT y PNS respectivamente, según lo establecido en el método.

Tabla 3.1. Cantidad de ácido galacturónico en la pectina extraída de la *Opuntia Streptacantha*.

PT (g/g)	PSA (g/g)	PSO (g/g)	PNS (g/g)
0.489	0.319	0.133	0.035

Lo anterior indica que la pectina tiene un alto contenido de ácido galacturónico, dado a través de las PT (aproximadamente 50%), revelando el grado de pureza (Yu *et al.*, 1996).

Comparando la cantidad de ácido galacturónico de las pectinas obtenidas del nopal por Abrajam (2008), los valores encontrados son muy semejantes (PT= 0.458, PSA= 0.377, PSO=0.067 y PNS=0.066 todos en g/g), aun cuando la fuente de pectina fue diferente.

Sin embargo, los resultados obtenidos por Lira-Ortiz *et al.*, (2014) en pectina obtenida a partir de cáscara de tuna *Opuntia albicarpa* Sheinvar "Reyna", superan ligeramente esta cantidad, obteniendo 0.654 g/ g de ácido galacturónico en PT. Lo anterior se puede asociar a la precisión del método utilizado por estos autores (HPLC).

De acuerdo a Ibarz *et al.*, (2006), la determinación del contenido péctico (ácido galacturónico) en alimentos presenta dificultades en su medición, derivadas de la estructura de la molécula de la pectina. Por su parte, Kitner y Van Buren, 1982, mencionan que la matriz vegetal suele contener grandes cantidades de almidón,

azúcares, celulosa y otros carbohidratos asociados a la pectina que interfieren en la determinación analítica.

Lo anterior explica también los espectros IR, obtenidos de las pectinas analizadas en este trabajo, en comparación con el ácido galacturónico.

4) Porcentaje de Azúcares Totales. En la Figura 3.10 se presenta el barrido de la solución de manosa donde se obtuvo una máxima absorbancia en 492 nm. La curva de calibración de la manosa se obtuvo con un coeficiente de correlación de 0.9939, la cual se presenta en la Figura 3.11.

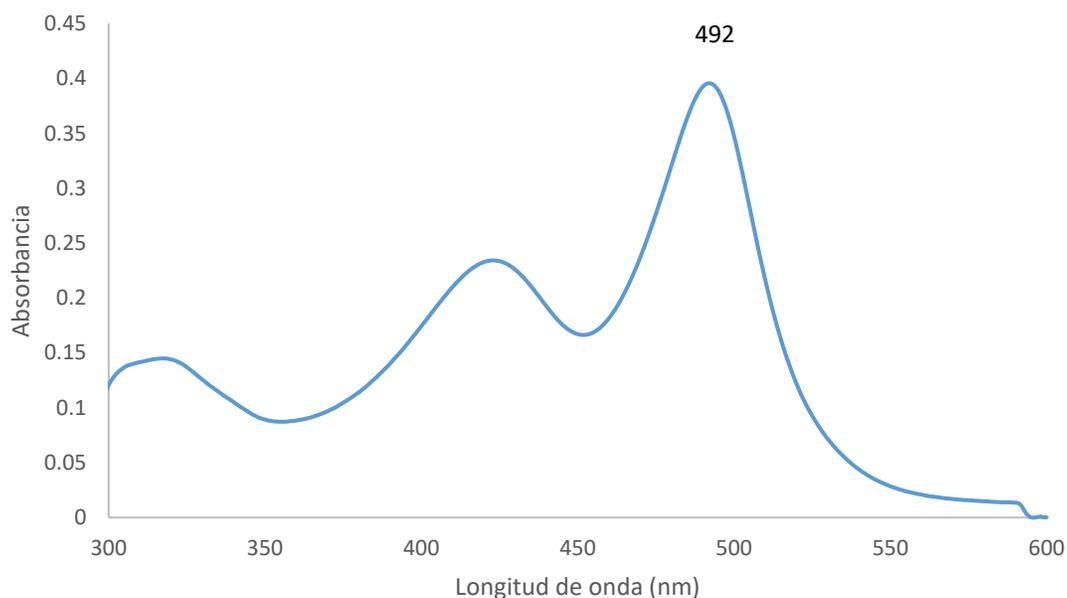


Figura 3.10. Espectro de absorción UV-vis de la solución de manosa.

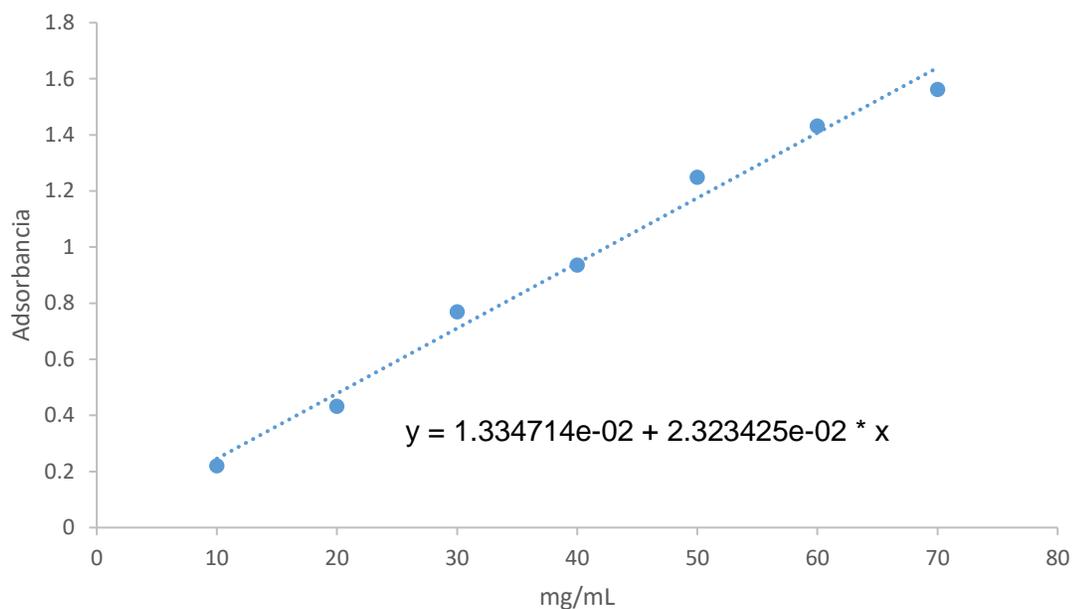


Figura 3.11. Curva de calibración de la manosa para determinar azúcares totales.

Bajo estas condiciones, se obtuvieron 0.750 g/g de azúcares totales, encontrando que el 65.2 % correspondieron al ácido galacturónico y el resto a otro tipo de carbohidratos. Este porcentaje es semejante al reportado por Abraján (2008) con un 63, 58 y 66% de pectinas obtenidas de nopal.

5) Porcentaje de Cenizas. La pectina dio como resultado un promedio de 8.91% de cenizas. Comparada con la pectina obtenida por Lozada (2007) a partir de cáscara de tuna, en el cual se obtuvo 12.89%, se considera que la pectina obtenida de *Opuntia Streptacantha* presenta menos minerales y por tanto, un producto con menor cantidad de impurezas.

3.3 Obtención y caracterización de películas de pectina

Se obtuvieron películas con pectina obtenida de *Opuntia Streptacantha*, basadas en matrices de mezclas pectina-alginato y pectina-PVA, utilizando como plastificante,

glicerol o sorbitol y como aditivo aceite de orégano o cera de abeja, consiguiendo un total de 12 películas, por las combinaciones de estos componentes. A continuación, se presentan los resultados de las características de cada una de ellas.

3.3.1 Determinación de las características fisicoquímicas de las películas

Los resultados obtenidos en la determinación de la humedad, cenizas, espesor, porcentaje de solubilidad, permeabilidad del vapor de agua y color se presentan en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2 Características fisicoquímicas de las películas de pectina.

Matriz	Plastificante	Aditivo	%Humedad	%Cenizas	Espesor (mm)	% Solubilidad	Permeabilidad al vapor de agua $g/m^2 s Pa$	Color visual
Pectina-Alginato	Glicerol	-	16.45	41.99	0.078	85.01	7.58602E-10	Transparente
Pectina-Alginato		Aceite de orégano	16.33	40.76	0.096	84.00	1.15805E-9	Ligeramente amarilla
Pectina-Alginato		Cera de Abeja	16.26	52.59	0.114	89.23	1.41151E-9	Ligeramente blanquizca
Pectina-Alginato	Sorbitol	-	17.73	41.51	0.112	90.37	-	Blanquizca
Pectina-Alginato		Aceite de orégano	12.91	52.94	0.064	88.70	-	Blanquizca
Pectina-Alginato		Cera de Abeja	18.24	41.61	0.094	86.06	-	Blanquizca
Pectina-PVA	Glicerol	-	5.98	4.38	0.052	87.84	6.242878E-10	Transparente
Pectina-PVA		Aceite de orégano	5.68	4.72	0.064	86.91	6.95409E-10	Transparente
Pectina-PVA		Cera de Abeja	9.38	4.59	0.034	86.02	3.35392E-10	Ligeramente Blanquizca
Pectina-PVA	Sorbitol	-	6.69	4.50	0.082	86.01	-	Transparente
Pectina-PVA		Aceite de orégano	6.18	2.93	0.046	85.80	-	Ligeramente amarilla
Pectina-PVA		Cera de Abeja	7.16	4.14	0.056	86.69	-	Ligeramente blanquizca

Las observaciones que complementan los resultados mostrados en la tabla anterior, son las siguientes:

Los datos muestran que las películas de pectina-alginato tienen mayor porcentaje de humedad, por ende son más gruesas y son más permeables al agua, que las películas de pectina-PVA aunque no difiere en gran medida con respecto a la solubilidad en agua.

La adición de sorbitol en todas las mezclas propuestas de pectina, no fue favorable, ya que las películas tienden a quebrarse; en el desmoldamiento se rompen y tienden a hacerse blanquizas con el tiempo, particularmente las que contienen cera.

Por otro lado, también se encontró que las películas pectina-PVA tienden a cristalizar, por la presencia de azúcar en la mezcla. Estas películas también presentan menores porcentajes de Humedad y de cenizas.

Un menor porcentaje de humedad es mejor para el proceso de secado, ya que la velocidad de secado y las condiciones ambientales determinaran el espesor final y las características estructurales del recubrimiento (Campos *et al.*, 2011).

El menor porcentaje de cenizas se le atribuye a que las películas de pectina-PVA no contienen azúcar, mientras que el utilizado para las películas de pectina-alginato es azúcar comercial lo que probablemente pueda ocasionar que contenga más impurezas en su composición.

En cuanto al espesor de la película, éstas fueron más delgadas las películas preparadas con PVA. El espesor de la película es importante pues influye directamente en la tasa de transferencia de gases, como el vapor de agua, que afectaría la apariencia del producto. Además, al aplicarlas al alimento es deseable

que tengan un espesor mínimo a fin de que no modifiquen las propiedades de sabor y apariencia del producto original (Pavlath y Orts, 2009).

Las películas de pectina alginato y glicerol tienden a ser ligeramente amarillas con el tiempo y son más gruesas.

Las películas de pectina-alginato y glicerol, presentan una mayor permeabilidad de vapor de agua comparada con la películas de pectina-PVA y glicerol; esto se debe a la capacidad de retención de agua o adsorción de agua del alginato de sodio, ya que pueden formar retículos poliméricos tridimensionales que poseen grupos hidrofílicos capaces de adsorber grandes volúmenes de agua o fluidos biológicos, desde diez hasta miles de veces su propio peso, y son capaces de retenerlos bajo presión (Hernández *et al.*, 2005). Esto también explica porque la humedad es más alta en las películas de pectina-alginato de sodio, comparada con las películas de pectina-PVA. También se le atribuye una mayor permeabilidad a estas películas porque contienen sacarosa, que actúa como plastificante en la película; ya que los plastificantes tienen la capacidad para reducir los enlaces de hidrógeno internos entre cadenas poliméricas que hacen más permeable a la película (Al-Maiman y Ahmad, 2002).

Azeredo *et al.* en 2016 obtuvieron películas de pectina con jugo de granada y ácido cítrico, encontrando que la permeabilidad de vapor de agua fue menor que la encontrada en este trabajo.

Una menor permeabilidad de la película es deseable, debido a que ésta es una propiedad importante para las reacciones deteriorativas de los alimentos (Ayranci y Tunc, 2003). La permeabilidad al agua está relacionada a la difusividad y a la solubilidad del material en el agua; si el material es altamente soluble en agua, la permeabilidad será menor (Ayranci y Tunc, 2003; Rojas-Graü *et al.*, 2007b). En ocasiones, la alta solubilidad en agua de los materiales es deseada, cuando la

película o el recubrimiento será consumida con el alimento (Sánchez-Aldama *et al.*, 2015).

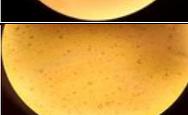
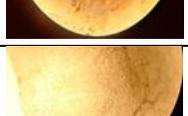
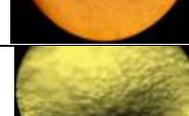
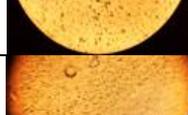
En cuanto a la solubilidad de las películas, las de pectina-alginato de sodio glicerol o sorbitol, contra las películas de Pectina-PVA con los mismos plastificantes no presentaron una diferencia notoria. Sin embargo, la solubilidad de películas de almidón de maíz y quitosano (30.3 y 24.2 %) mostradas por Ruiz-Cruz *et al.*, 2010 fue mucho menor.

Una mayor solubilidad indica que las películas pueden perder su integridad y su conservación; la película se va perdiendo si el alimento exuda agua a lo largo de su almacenamiento o se humedece exteriormente o se lava. Sin embargo, si el producto que se recubre se debe lavar antes de su consumo, como el caso de la manzana, se recomienda que la película sea altamente soluble pudiéndose retirar fácilmente, además de ser más susceptible a la biodegradación (Zamudio-Flores 2009). No es deseable un empaque altamente soluble, ya que este podría perder su integridad.

En la Tabla 3.3 se presentan las micrografías de las películas vistas en el microscopio óptico y en la figura 3.4 algunas de ellas obtenidas mediante SEM.

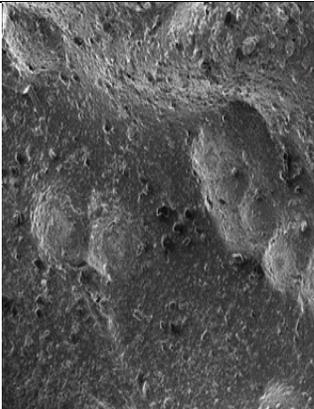
En lo que se refiere a las imágenes obtenidas con el microscopio óptico, la mayoría son semejantes, indicando homogeneidad de los componentes en la película, principalmente en películas de pectina-alginato-glicerol. Mientras que las que contienen cera y sorbitol en mezclas de pectina-PVA, se observan no homogéneas, por la falta de dispersión, con grumos y burbujas. Se destaca también, que las obtenidas con glicerol y las de la mezcla de pectina, tuvieron mayor rigidez.

Tabla 3.3. Micrografías de las películas en el microscopio óptico.

Matriz	Plastificante	Aditivo	10x	40x	100x
Pectina-Alginato	Glicerol	-			
Pectina-Alginato	Glicerol	Aceite de orégano			
Pectina-Alginato	Glicerol	Cera de Abeja			
Pectina-Alginato	Sorbitol	-			
Pectina-Alginato	Sorbitol	Aceite de orégano			
Pectina-Alginato	Sorbitol	Cera de Abeja			
Pectina-PVA	Glicerol	-			
Pectina-PVA	Glicerol	Aceite de orégano			
Pectina-PVA	Glicerol	Cera de Abeja			
Pectina-PVA	Sorbitol	-			
Pectina-PVA	Sorbitol	Aceite de orégano			
Pectina-PVA	Sorbitol	Cera de Abeja			

Las micrografías obtenidas mediante SEM, confirmaron lo observado en el microscopio óptico, el sorbitol, no se homogenizó completamente en las películas que contenían PVA. Este comportamiento puede ser explicado, por las interacciones establecidas entre el PVA y la pectina que posiblemente se deba a la formación de puentes de hidrógeno y la presencia de los grupos COO⁻ y OH y no permita la interacción de otro componente (Nor y Mohd., 2011): además, éste último, provocó la formación de algunas burbujas de aire, mientras que en el caso de las películas que contienen el aceite de orégano, se observó la formación de micelas en la superficie.

Tabla 3.4. Micrografías de algunas películas vistas mediante SEM

Matriz	Pectina-Alginato	Pectina-PVA	Pectina-PVA
Plastificante	Glicerol	Glicerol	Glicerol
Aditivo	-	-	Aceite de orégano
Micrografía			

Para determinar si hubo cambios en la estructura química de las películas, en las Figura 3.12 a la Figura 3.14 se presentan los resultados del análisis FTIR de los componentes de cada película, así como el de la película.

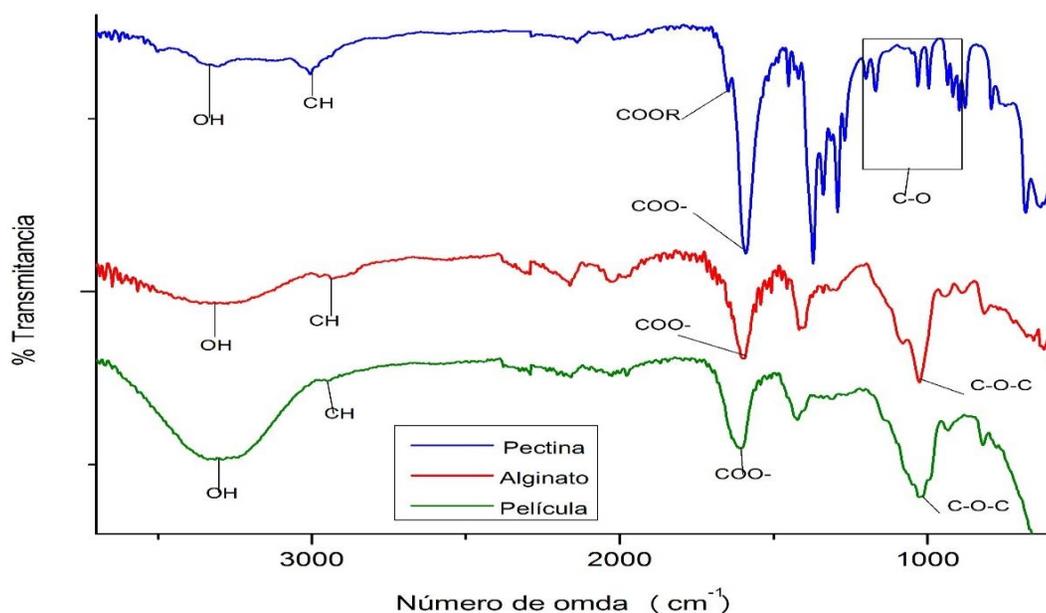


Figura 3.12. Espectro IR de la película con pectina-alginato y glicerol como plastificante; y de sus principales componentes (pectina y alginato).

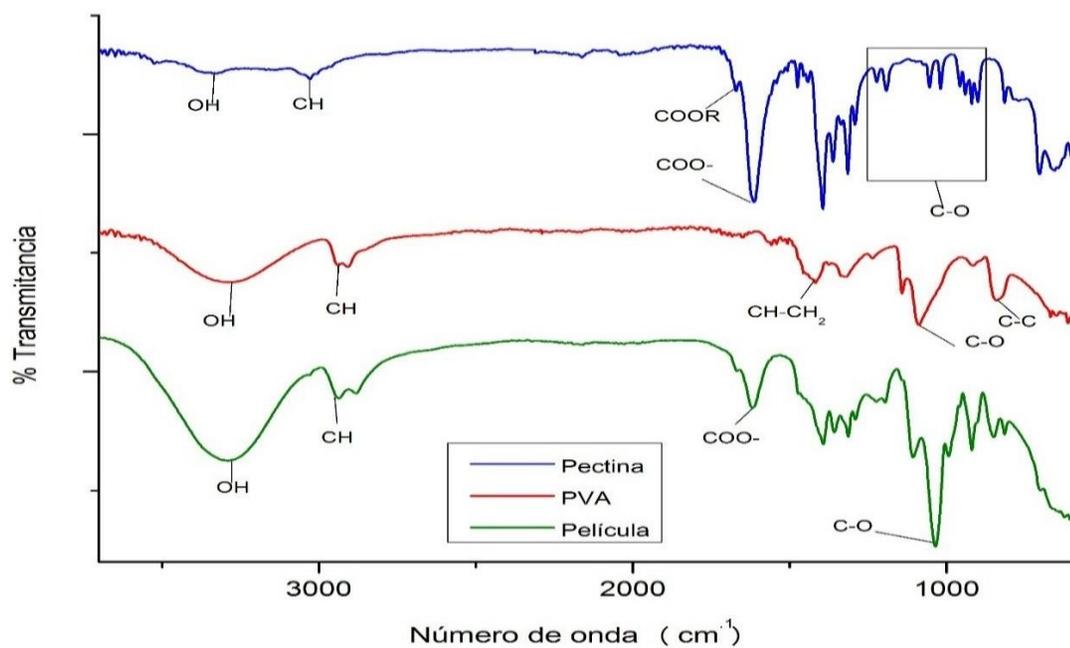


Figura 3.13. Espectro IR de la película de pectina-PVA y glicerol como plastificante; y sus componentes (Pectina y PVA).

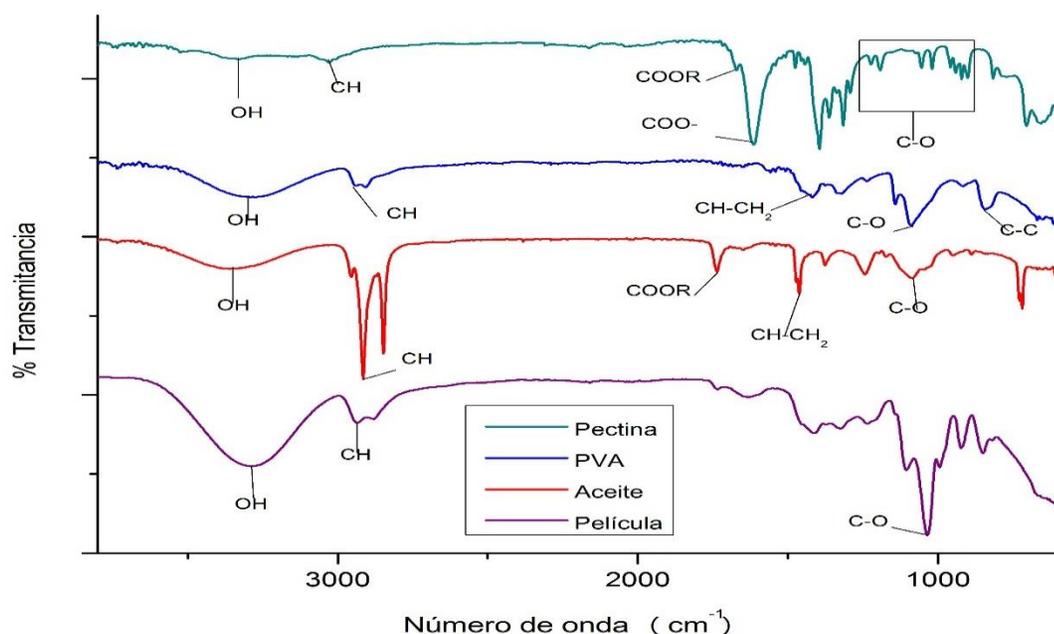


Figura 3.14. Espectro IR de la película de pectina-PVA, glicerol como plastificante y aceite de orégano como aditivo; y de sus componentes (pectina, PVA y aceite de orégano).

En las figuras anteriores, se puede observar que los espectros de FTIR de las películas, presentan patrones similares de transmitancia. La región encontrada entre los 900 y 1200 cm^{-1} se identifica como la región de los carbohidratos (Tripathi *et al.*, 2010). La región de 850 a 1200 cm^{-1} se identifica como la zona de la cadena principal de ácidos poligalacturónicos. En los espectros pueden observarse las señales típicas de las pectinas, como la zona en 1750 cm^{-1} referida como una banda sola aguda (C = O) (Černá *et al.*, 2003). Esta banda es un poco más notoria que la región de 1600–1650 cm^{-1} debida al estiramiento del grupo carbonilo del grupo carboxílico (no esterificado). Cuando en la película existe adición de glicerol es posible observar bandas más definidas entre 1020 y 1100 cm^{-1} , esto concuerda con Sánchez-Aldana *et al.*, (2013), quienes reportaron este mismo efecto en la Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano, debido a los enlaces C-OH y C-O-C. Las bandas

amplias y cortas 2945 cm^{-1} corresponden al estiramiento del grupo OH en los grupos carboxilo (Tripathi *et al.*, 2010). Estas bandas se muestran más definidas en el espectro de la película que en el del extracto péctico. De igual manera, la banda encontrada entre 3300 y 3600 cm^{-1} es más intensa y definida en el espectro de la película, esto se debe a la incorporación de glicerol en la película (Thygesen *et al.*, 2003).

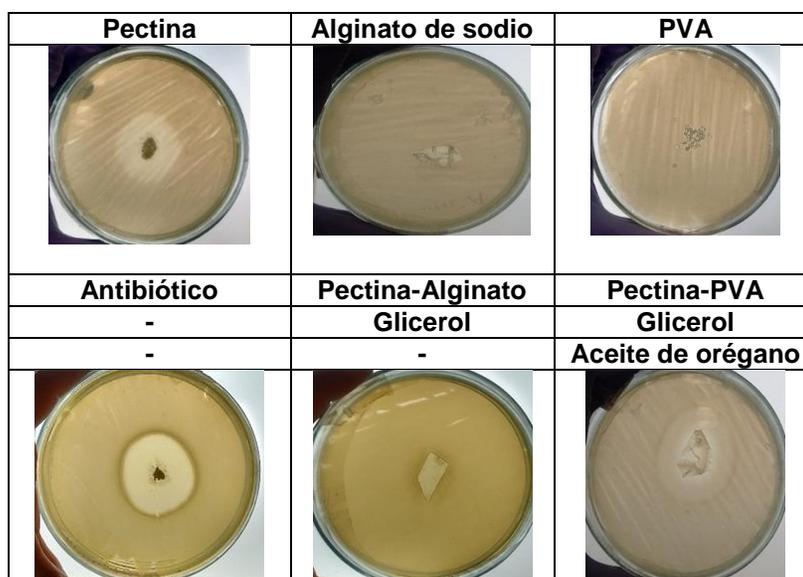
3.3.2 Propiedades biológicas

1. Actividad antimicrobiana. Con respecto a la actividad antimicrobiana, la Tabla 3.5 muestra únicamente las películas de pectina que resultaron con esta propiedad, específicamente, contra *E. Coli*, indicando los porcentajes de inhibición correspondientes. Mientras que en la Tabla 3.6 se presentan las imágenes del halo de inhibición que presentaron estas películas.

Tabla 3.5. Relación del % de inhibición de las películas de pectina-PVA.

Matriz	Pectina-PVA	Pectina-PVA	Pectina-PVA
Plastificante	Glicerol	Glicerol	Glicerol
Aditivo	-	Aceite de orégano	Cera de Abeja
% de inhibición	45.45	72.72	18.18

Tabla 3.6. Imagen de los halos de inhibición generados por las películas y por las matrices comparadas contra el generado por el antibiótico.



De acuerdo a los resultados presentados en las tablas anteriores, se observa que el mayor porcentaje de inhibición lo obtuvo la película de pectina con PVA con aceite de orégano, lo cual puede atribuirse a esa combinación de pectina, ya que se puede observar que la pectina por si sola creó un halo de inhibición (20%), mientras que el aceite de orégano, es considerado antimicrobiano de acuerdo a Gómez-Sánchez y López Malo, (2009).

Los resultados anteriores son muy semejantes a los obtenidos en la elaboración de películas con quitosano adicionadas con aceites esenciales como agente antimicrobiano (Hernández-Ochoa *et al.*, 2011), en donde se encontró que estas películas reflejan una actividad antimicrobiana, siendo el causante de esta propiedad, el quitosano.

2. Actividad antioxidante

En la Figura 3.15 se presenta el barrido de la solución de ABTS, donde se obtuvo una máxima absorbancia de 750 nm y en la Figura 3.16 se presenta la curva de calibración del ácido ascórbico elaborada a 750 nm.

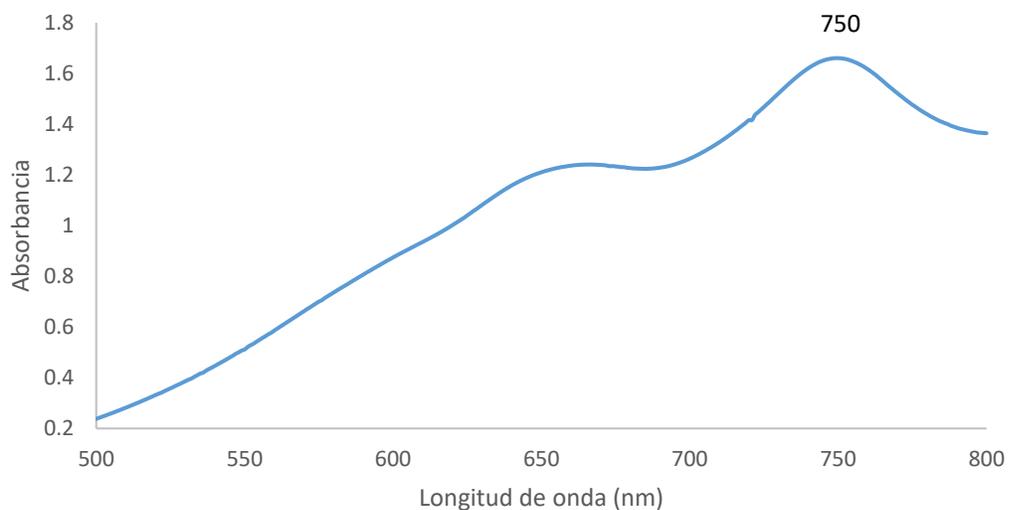


Figura 3.15. Espectro de absorción UV-vis de la solución de ABTS.

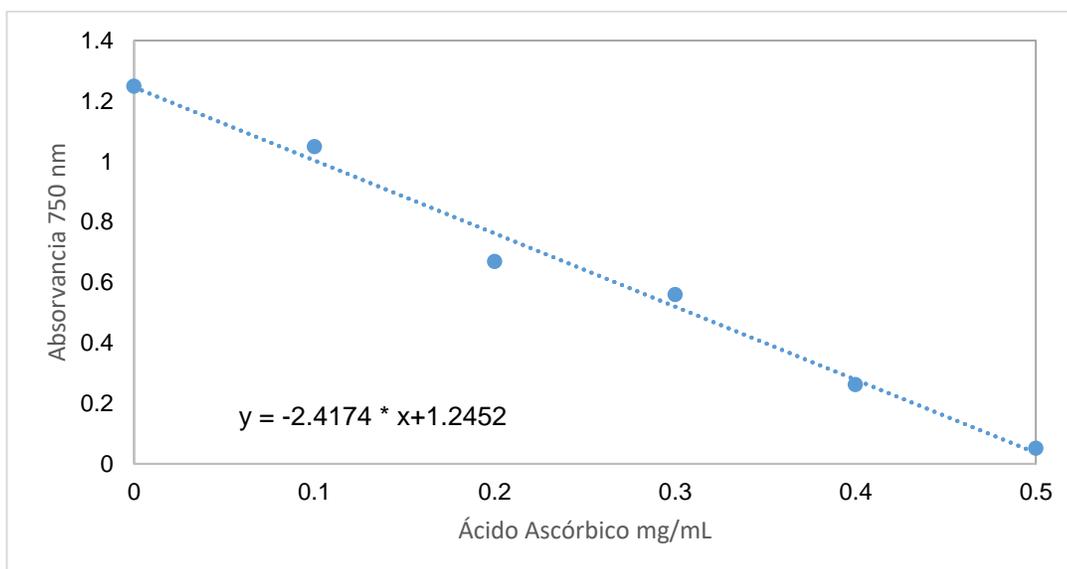


Figura 3.16. Curva de calibración de Ácido Ascórbico para determinar actividad antioxidante.

Los resultados de la prueba de actividad antioxidante equivalente a ácido ascórbico de las diferentes mezclas utilizadas en los recubrimientos se presentan la Tabla 3.7.

Tabla 3.7. Actividad antioxidante de las diferentes mezclas utilizadas como recubrimientos expresados en VCEAC (Actividad antioxidante equivalente a ácido ascórbico).

Matriz	Aditivo	Actividad antioxidante (VCEAC)
Pectina	-	2.47
Alginato	-	0.00
PVA	-	0.00
-	Aceite esencial de orégano	3.15
-	Cera de abeja	2.18
Pectina-Alginato	-	2.38
Pectina-Alginato	Aceite esencial de orégano	3.97
Pectina-Alginato	Cera de Abeja	2.29
Pectina-PVA	-	2.84
Pectina-PVA	Aceite esencial de orégano	3.78
Pectina-PVA	Cera de Abeja	3.56

Como se puede observar, en las matrices de alginato y PVA no hubo presencia de actividad antioxidante; en cambio, la pectina si presentó esa propiedad con un valor de 2.47. Esta propiedad se atribuye a que la pectina contiene grupos hidroxilo y, por tanto, puede donar hidrógeno o electrones a los radicales libres (Whang *et al.*, 2016). Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Ro *et al.*, (2013). Los autores realizaron un estudio de actividad antioxidante de varios polisacáridos (xantano, alginato de sodio, quitosano e hidroxipropil metilcelulosa), obteniendo que la pectina contiene mayor actividad antioxidante, por lo menos 5 veces mayor que la de los demás polisacáridos, lo cual fue atribuido a la baja viscosidad de la pectina en comparación con los otros polímeros.

Otros resultados importantes a resaltar son la actividad antioxidante de cera de abeja y el aceite de orégano, cuyos datos coinciden con los estudios hechos por Sammataro *et al.*, (2010); Aragón *et al.*, (2012); Torrenegra, (2014). Por tanto, la

actividad antioxidante de las películas que contienen estos aditivos, puede atribuirse también a estos componentes.

3.4 Determinación de la utilidad del recubrimiento para la conservación de manzanas

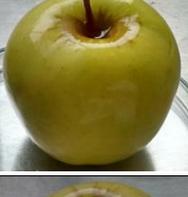
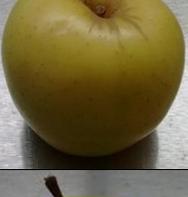
En relación al estudio de la adherencia de la película de pectina como recubrimiento de manzanas, en la Tabla 3.8 se presenta un seguimiento visual de la fruta, una vez que se recubrió y hasta el día 15. Los resultados corresponden a manzanas Golden, sin refrigeración y expuestas al medio ambiente. Las películas con sorbitol fueron descartadas, debido a que presentaron problemas de adherencia en la manzana.

Se puede observar que la mayor adherencia se obtuvo con películas que contenían PVA. Por otro lado, se observó que la apariencia de la manzana que tiene la formulación de pectina-PVA-glicerol y aceite de orégano, conservó su apariencia, a los 15 días. La manzana que presentó deterioro en apariencia fue a la que se le aplicó la película de pectina-alginato-glicerol y aceite de orégano.

Saucedo-Pompa *et al.*, (2008) llevaron a cabo un estudio sobre el efecto de cubiertas comestibles con actividad biológica portadoras de ácido elálgico formuladas con cera de candelilla, sobre la calidad en la vida de anaquel de manzanas, y encontraron que los frutos con tratamiento tuvieron un menor deterioro y por lo tanto tuvieron una mayor vida de anaquel; además concluyeron que el uso de cubiertas de cera de candelilla con aditivos antioxidantes representa una alternativa viable y atractiva para mantener la calidad y aumentar la vida de anaquel de los frutos. El inconveniente con este tipo de recubrimientos tiene que ver con la forma de aplicarlos, ya que una mala aplicación tendría como resultado lo que ocurre con la goma laca, que forma una película insoluble sobre la superficie de las frutas de manera que si ésta es sometida a cambios bruscos de temperatura se pueden producir condensaciones de agua que

hacen que el recubrimiento hidrófobo se insolubilice y se produzca así el fenómeno conocido como “blanqueado” o “white spot”, en el que la resina insolubilizada forma deposiciones blancas sobre la piel, como la que se muestra en la Figura 3.17.

Tabla 3.8. Manzanas recubiertas con películas usando glicerol como plastificante.

Matriz	Sin recubrimiento	Con recubrimiento Día 1	Con recubrimiento Día 8	Con recubrimiento Día 15
Pectina-Alginato				
Pectina-Alginato-Aceite de orégano				
Pectina-Alginato-Cera de Abeja				
Pectina-PVA				
Pectina-PVA-Aceite de orégano				
Pectina-PVA-Cera de Abeja				

Este tipo de problemas no se presentaron con las películas utilizadas en este trabajo; aun cuando las manzanas cubiertas con las películas de pectina fueron expuestas al ambiente. Otro dato observado en las películas obtenidas en este trabajo es que no presentaron daños por ataque microbiológico.



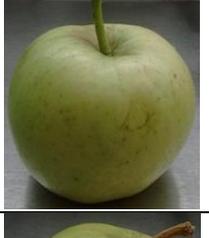
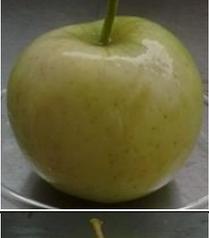
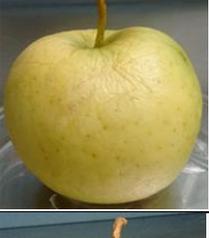
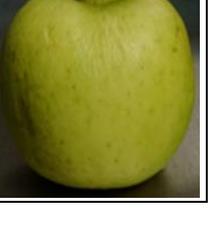
Figura 3.17. Manzanas con problema de blanqueado.

Con respecto al estudio posterior utilizando manzanas criollas, en la tabla 3.9 se presentan los resultados sin recubrimiento y con recubrimiento en 1, 8, 15 y 38 días transcurridos. Se puede observar que la manzana utilizada como el blanco y las recubiertas con pectina-PVA aceite de orégano, pectina y pectina-azúcar a los 15 días de almacenamiento presentaron deshidratación y pérdida de firmeza. También se aprecia que la manzana con la película de pectina-PVA y cera de abeja se conservó firme después de los 38 días de almacenamiento.

Las manzanas con recubrimiento que tenían aceite de orégano presentaron una mancha café en la parte inferior; esto ocurre principalmente en aquellas que contiene alginato.

En cuanto a las manzanas recubiertas con matrices simples como pectina, alginato y PVA, se puede observar que la menos deshidratada es la que contenía PVA después de los 38 días de almacenamiento.

Tabla 3.9. Manzanas recubiertas con películas dentro del refrigerador.

Matriz	Sin recubrimiento	Con recubrimiento Día 1	Con recubrimiento Día 8	Con recubrimiento Día 15	Con recubrimiento Día 38
Pectina-Alginato					
Pectina-Alginato-Aceite de orégano					
Pectina-Alginato-Cera de Abeja					
Pectina-PVA					
Pectina-PVA-Aceite de orégano					
Pectina-PVA-Cera de Abeja					



Más aún, en el transcurso de 15 días se observó que las manzanas con mejor aspecto son las que están recubiertas con pectina-alginato, pectina-PVA, pectina-PVA-aceite esencial de orégano, pectina-PVA-cera de abeja, por lo que éstas se eligieron para las pruebas sensoriales. Es importante mencionar que existe una diferencia que es muy notable entre el blanco y las manzanas recubiertas con las mezclas antes mencionadas.

En la tabla 3.10 se presentan las manzanas que se usaron como control (sin refrigeración), la diferencia es muy marcada entre éstas y las manzanas dentro del refrigerador. En los 15 días de almacenamiento, a la manzana recubierta con la mezcla de pectina-alginato-aceite esencial de orégano se le formó una burbuja de aire (Figura3.18) probablemente hecha por los gases generados dentro de la manzana. Por otra parte, las manzanas que se conservaron en mejor estado fueron las que estuvieron recubiertas con pectina-alginato, pectina-alginato-cera de abeja.



Figura 3.18. Formación de una burbuja en la película de pectina-alginato-aceite de orégano.

Tabla 3.10. Manzanas Fuera del refrigerador

Matriz	Sin recubrimiento	Con recubrimiento Día 1	Con recubrimiento Día 8	Con recubrimiento Día 15
Pectina-Alginato				
Pectina-Alginato-Aceite de orégano				
Pectina-Alginato-Cera de Abeja				
Pectina-PVA				
Pectina-PVA-Aceite de orégano				
Pectina-PVA-Cera de Abeja				
Blanco				

3.4.1 Pérdida de peso de la manzana

Durante el período de almacenamiento, las frutas y hortalizas frescas pierden peso normalmente, debido al proceso respiratorio y a la transpiración (Maftoonazad *et al.*, 2008). En la Tabla 3.11 se presenta el porcentaje de pérdida de peso de las manzanas recubiertas, a las dos semanas de almacenamiento en refrigeración y la pérdida de peso de las manzanas recubiertas que se usaron como blanco (sin refrigeración), comparada con una manzana que no fue recubierta (control).

Tabla 3.11. Porcentaje de pérdida de peso de las manzanas recubiertas.

Muestra	% peso perdido (con refrigeración)	% peso perdido (sin refrigeración)
Pectina-PVA	5.67	16.98
Pectina-PVA-Aceite esencial de orégano	5.43	18.66
Pectina-PVA-Cera de abeja	6.99	20.26
Pectina-Alginato	3.54	14.59
Pectina-Alginato-Aceite esencial de orégano	3.99	17.76
Pectina-Alginato-Cera de abeja	4.03	12.59
Control 1	7.64	21.95

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede observar que es necesario el almacenamiento en refrigeración para la conservación de las manzanas, y en cuanto a la pérdida de peso, las manzanas recubiertas con pectina-alginato tuvieron menor pérdida de peso en comparación con las manzanas recubiertas con pectina- PVA, esto debido a que las películas de pectina-alginato presentaron mayor permeabilidad de vapor de agua y mayor humedad por lo que el recubrimiento de pectina-alginato ayuda a mantener a la manzana hidratada debido a la capacidad del alginato de retener agua.

Comparado estos datos con otros reportes, las pérdidas de peso obtenida con las películas estudiadas fueron altas. Los estudios realizados por Sahraei Khosh Gardesh *et al.* (2016), usando quitosano en manzanas, reportaron una pérdida del 1% en los primeros 14 días de almacenamiento. Mientras De león-Zapata *et al.* en

2015., utilizaron cera de candelilla en manzanas y su pérdida de peso fue del 10% a las dos semanas de almacenamiento, aunque las almacenaron a 27 °C.

3.4.2 Sólidos solubles y pH

En la Tabla 3.12 se presentan los resultados obtenidos de la medición de los azúcares expresados en °Brix contenido en la manzanas recubiertas y almacenadas en un periodo de dos semanas en refrigeración.

Tabla 3.12. Sólidos solubles y pH de las manzanas recubiertas.

Muestra	Sólidos solubles (° Brix)	pH
Pectina-PVA	12	3.91
Pectina-PVA-Aceite esencial de orégano	12	4.04
Pectina-PVA-Cera de abeja	13	3.79
Pectina-Alginato	12	3.64
Pectina-Alginato-Aceite esencial de orégano	14	3.77
Pectina-Alginato-Cera de abeja	12.5	3.71
Blanco agosto (pudriéndose)	11	-
Blanco reciente	14	4.14
Blanco 1	12.5	-
Blanco 2	12.5	-
PVA	11	-
Alginato	11	-

El contenido de azúcares estuvo entre 11 y 14 ° al final del almacenamiento lo que coincide con los resultados de Zambrano-Zaragoza *et al.* en 2014 (11.90 y 13.56°) quienes usaron una emulsión de mucílago con tocoferol para recubrir trozos de manzanas Red-Delicious.

El pH de las manzanas estuvo entre 3.64 y 4.14 y comparados con los resultados obtenidos por Zambrano-Zaragoza *et al.*, (2014) (3.5 a 3.8 pH) no hubo gran diferencia.

Además, no hubo cambios significativos en los sólidos solubles y en el pH, lo que coincide con los resultados de Sahraei Khosh Gardesh *et al.* del 2016 en manzanas recubiertas por quitosano y Guillén *et al.* del 2013 en frutos de melocotón y ciruela recubiertos con geles de aloe vera.

3.4.3 Análisis sensorial

Se obtuvieron los siguientes resultados en la prueba afectiva con escala hedónica dividido por parámetro evaluado.

Resumen estadístico de los datos del análisis sensorial de manzanas. A partir de las valoraciones otorgadas para los 10 consumidores consultados de las cinco muestras analizadas se presenta un resumen de su análisis estadístico.

Parámetro a estudiar: **apariencia.**

Se ha estudiado la apariencia para los cuatro tratamientos y un blanco. En la Tabla 3.13 se muestran varios estadísticos para la apariencia, datos importantes que hacen ver sus principales características:

Tabla 3.13. Datos de apariencia.

Tratamiento	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Mínimo	Máximo
Pectina-PVA (A)	6.7	1.6	25.41%	3	9
Pectina-PVA-Aceite de orégano (B)	6.9	1.9	26.85%	3	9
Pectina-PVA-Cera de abeja (C)	5.2	2	39.31%	3	9
Pectina -Alginato (D)	6	1.8	30.43%	3	9
Blanco (E)	6.7	1.6	23.39%	5	9

En la Tabla 3.13 cabe señalar que para la apariencia el mejor promedio lo ha obtenido el blanco, ya que la diferencia entre su máximo y mínima es menor a la de los otros tratamientos y su coeficiente de variación es el menor, y la más baja

puntuación la obtuvo el tratamiento de pectina-PVA-cera de abeja, aunque esto no significa que sea mala puntuación, ya que en la escala que se utilizó significa que ni gustó ni disgustó, aunada a que el coeficiente de variación obtenido es el más alto de los tratamientos, lo que significa que no es tan precisa la calificación. Esta diferencia se ve más a detallan en la Figura 3.19

En la Tabla 3.14 se presenta el análisis de varianza usando una distribución de F para un nivel de confianza de 0.05%, y el resultado indica que no existe diferencia significativa de la apariencia entre cada tratamiento aplicado a las manzanas ya que el valor de $F_{\alpha,v1,v2}$ es mayor que el calculado.

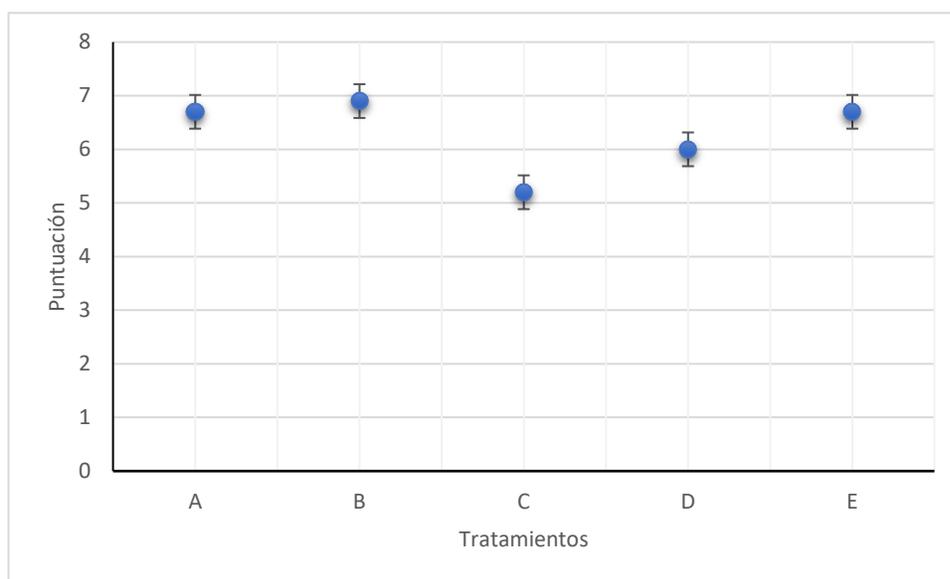


Figura 3.19. Gráfico de medias de apariencia.

Tabla 3.14. Análisis de varianza para la apariencia.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo Calculado	$F_{\alpha,v1,v2}$
Tratamientos	20	4	4.95	1.52	2.59
Error	147	45	3.26		
Total	167	49	-		

Parámetro a estudiar: **aroma**.

El aroma es un parámetro que se también se estudió para los cuatro tratamientos y el blanco. En la Tabla 3.15 se muestran varios estadísticos para el aroma, datos importantes que hacen ver sus principales características:

Tabla 3.15. Datos de aroma.

Tratamiento	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Mínimo	Máximo
Pectina-PVA (A)	5.4	1.9	36.20%	1	8
Pectina-PVA-Aceite de orégano (B)	5.2	2.3	45.15%	2	9
Pectina-PVA-Cera de abeja (C)	7.2	2.9	25.70%	3	9
Pectina -Alginato (D)	5.4	1.3	25.00%	3	8
Blanco (E)	5.3	1.8	34.51%	2	8

En cuanto al parámetro del aroma, las medias son más bajas respecto a la apariencia. El tratamiento que recibió una mejor puntuación es el correspondiente a pectina-PVA-cera de abeja (tiene el menor coeficiente de variación comparado con los demás tratamientos, dándonos un valor más preciso), probablemente porque no se alteró su aroma característico. Las puntuaciones para los otros tratamientos son en promedio 5, éste último es un valor intermedio en la escala de 9 puntos lo que significa que ni gustó ni disgustó. Esto se puede ver gráficamente en la Figura 3.20.

Para el atributo del aroma (Tabla 3.16) se ha obtenido un valor de F_o menor al de $F_{\alpha, v1, v2}$, por lo que indica que no existe diferencia significativa del aroma entre los tratamientos para un nivel de confianza del 95%.

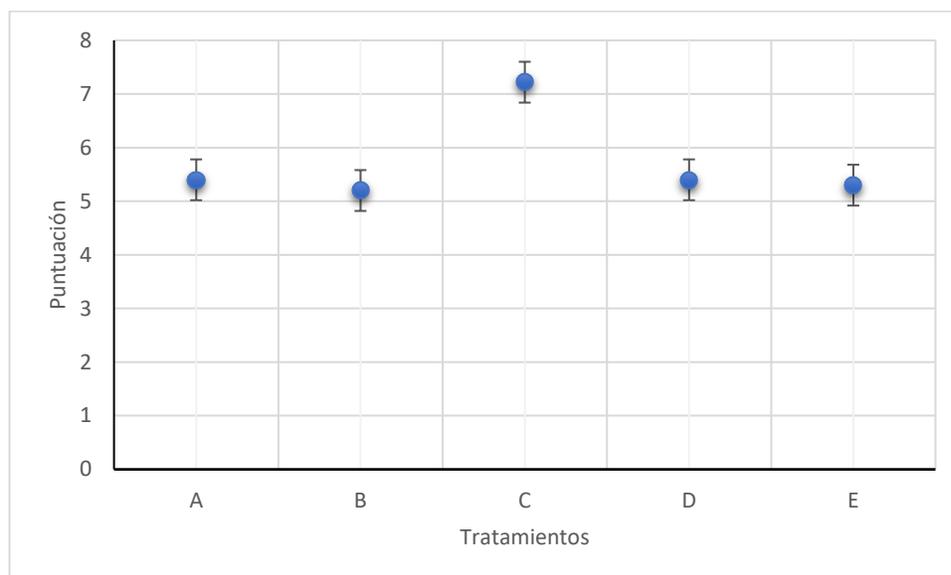


Figura 3.20. Gráfico de medias del aroma.

Tabla 3.16. Análisis de varianza para el aroma.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo Calculado	$F_{\alpha, v1, v2}$
Tratamientos	11	4	2.83	0.62	2.59
Error	205	45	4.56		
Total	216	49	-		

Parámetro a estudiar: **sabor**.

También el sabor se ha estudiado para los cuatro tratamientos y el blanco. En la Tabla 3.17 y Figura 3.21 se muestran varios estadísticos para el sabor, que son datos importantes que hacen ver sus principales características. El tratamiento con mejor calificación es el blanco porque tiene menor coeficiente de variación que el tratamiento de pectina-PVA-cera de abeja (con mayor promedio). El tratamiento de pectina-PVA-aceite de orégano tuvo el menor promedio con poca variabilidad en el resultado, esto puede deberse a que el recubrimiento alteró su sabor y provocando que no sea tan agradable.

Tabla 3.17. Datos del sabor.

Tratamiento	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Mínimo	Máximo
Pectina-PVA (A)	4.6	2.5	58.15%	1	9
Pectina-PVA-Aceite de orégano (B)	4.5	1.5	33.54%	3	7
Pectina-PVA-Cera de abeja (C)	6.5	2.8	43.67%	1	9
Pectina-Alginato (D)	4.7	2.9	61.05%	1	9
Blanco (E)	6.1	2	33.19%	3	9

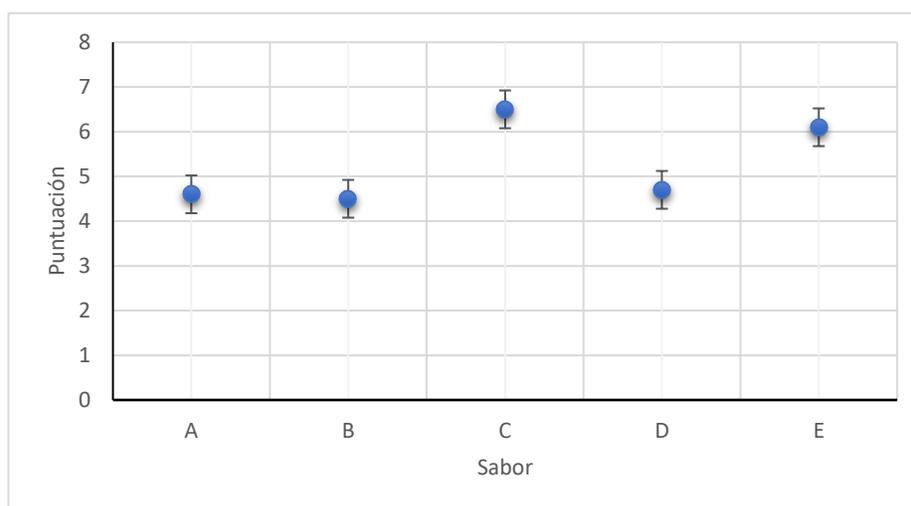


Figura 3.21. Gráfico de medias del sabor.

En la Tabla 3.18 se presenta el análisis de varianza para sabor donde se puede observar que el valor de F_o es menor al de $F_{\alpha, v1, v2}$, por lo que se determina que no existe diferencia significativa del sabor entre los tratamientos, para un nivel de significancia de 0.05%.

Tabla 3.18. Análisis de varianza para el sabor.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_o Calculado	$F_{\alpha, v1, v2}$
Tratamientos	35.68	4	8.92	1.495	2.59
Error	268.4	45	5.96		
Total	304.08	49			

Parámetro a estudiar: **crocante**.

Lo crocante es un parámetro más que se estudió para los cuatro tratamientos y el blanco. En la Tabla 3.19 y Figura 3.22 se muestran varios estadísticos para lo crocante, datos importantes que hacen ver sus principales características. Las más altas calificaciones fueron para el tratamiento que se utilizó como blanco y la que tiene el recubrimiento de pectina-PVA, probablemente fue la que conservó su firmeza. Las calificaciones para los demás tratamientos no estuvieron mal ya que tuvieron calificaciones aceptables, aun el tratamiento con la pectina-alginato tiene muy alto el coeficiente de variación, por lo que no es tan preciso el valor.

Tabla 3.19. Datos de crocante.

Tratamiento	Promedio	Desviación estándar	Coeficiente de variación	Mínimo	Máximo
Pectina-PVA (A)	7.1	1.4	20.41%	4	9
Pectina-PVA-Aceite de orégano (B)	6.2	1.8	28.25%	2	8
Pectina-PVA-Cera de abeja (C)	6.5	1.7	26.40%	3	9
Pectina-Alginato (D)	6.2	2.7	42.88%	1	9
Blanco (E)	7.4	1.5	20.35%	5	9

En el análisis de varianza para lo crocante se presenta en la tabla 3.20 donde el valor obtenido de F_o es menor al valor de $F_{\alpha, v1, v2}$, con un nivel de significancia de 0.05% lo que indica que no existe diferencia significativa de lo crocante entre cada tratamiento.

Tabla 3.20. Análisis de varianza para crocante.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_o Calculado	$F_{\alpha, v1, v2}$
Tratamientos	11.88	4	2.97	0.851	2.59
Error	157	45	3.488		
Total	168.88	49			

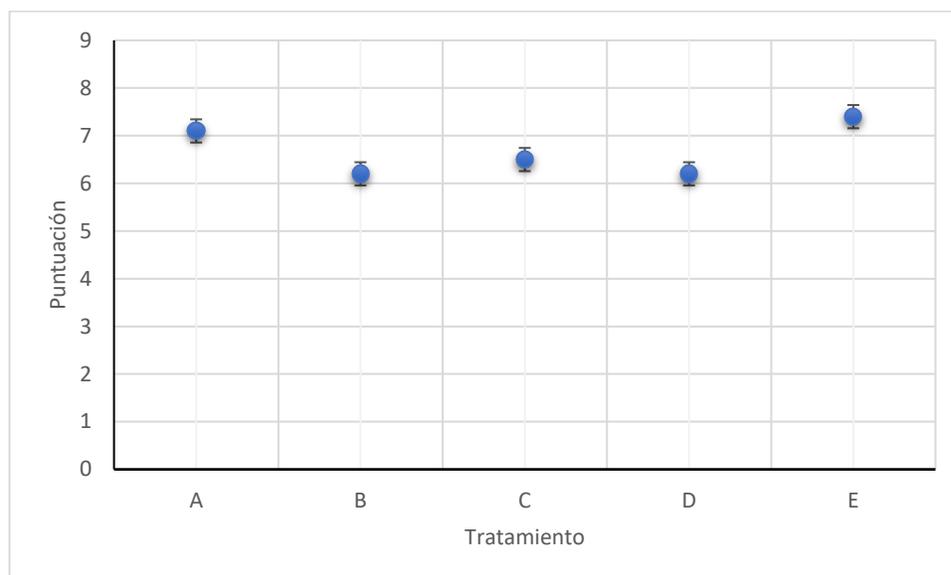


Figura 3.22. Gráfico de medias de crocante.

Parámetro a estudiar: **textura**.

El último parámetro que se estudió fue la textura para los cuatro tratamientos y el blanco. En la Tabla 3.21 y Figura 3.23 se muestran varios estadísticos para textura, datos importantes que hacen ver sus principales características. En cuanto a la mejor calificación la obtuvo el tratamiento de pectina-PVA-Cera de abeja con un buen coeficiente de variación, probablemente conservó su firmeza y humedad aunque los demás tratamientos obtuvieron calificaciones aceptables.

Tabla 3.21. Datos de la textura.

Tratamiento	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Mínimo	Máximo
Pectina-PVA (A)	6.9	1.4	22.09%	4	9
Pectina-PVA-Aceite de orégano (B)	5.7	2.1	37.03%	3	9
Pectina-PVA-Cera de abeja (C)	7	1.6	22.34%	4	9
Pectina -Alginato (D)	6.2	2.9	46.12%	1	9
Blanco (E)	6.5	1.7	26.39%	3	8

Para el análisis de varianza del parámetro de la textura, se puede observar en la Tabla 3.22 que no hay diferencia significativa en la textura entre cada tratamiento y blanco que se estudiaron.

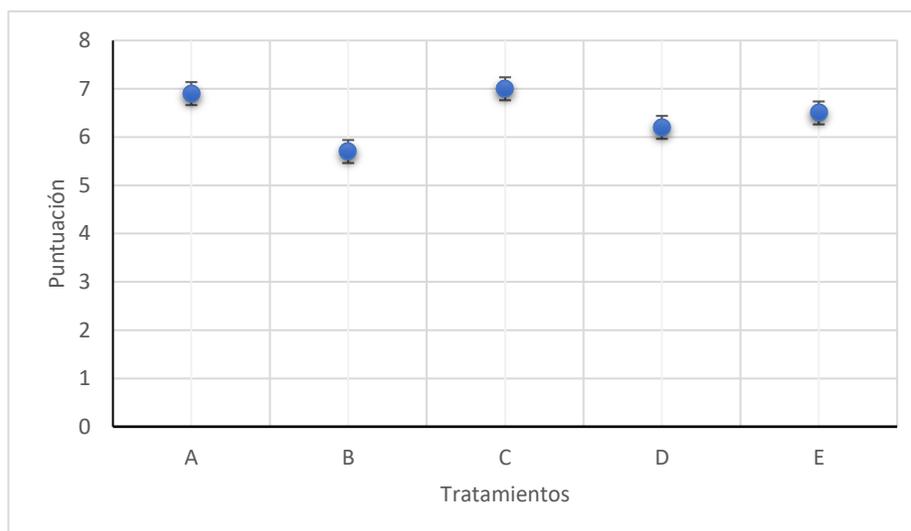


Figura 3.23. Gráfico de medias de textura.

Tabla 3.22. Análisis de varianza para la textura.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo Calculado	$F_{\alpha, v1, v2}$
Tratamientos	11.32	4	2.83	0.695	2.59
Error	183.1	45	4.068		
Total	194.42	49	-		

En la Tabla 3.23 se puede determinar que no existe diferencia significativa entre cada parámetro evaluado utilizando los diferentes tratamientos para recubrir las manzanas con un nivel de significancia del 95%.

Tabla 3.23. Análisis de varianza de los 5 parámetros.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Fo Calculado	$F_{\alpha, v1, v2}$
Tratamiento	1.7	4	0.4	0.06	3.26
Renglones	7.3	4	1.8	0.27	3.26
Columnas	2.3	4	0.6	0.09	3.26
Error	5	12	6.6		
Total	16				

Los resultados obtenidos en el análisis de varianza donde dieron como resultado que no hay diferencia significativa, son probablemente a que el análisis sensorial se hizo después de dos semanas de almacenamiento donde aún no sean tan representativos los cambios en cuanto apariencia, aroma, sabor, crocante y textura, para las manzanas recubiertas.

Por último, se expone una matriz de correlaciones en la que se puede apreciar la dependencia entre los atributos estudiados (Tabla 3.24). Cabe destacar que a partir de 0.7 se considera que la correlación es fuerte, por lo que existe una dependencia importante entre los atributos.

Tabla 3.24. Correlación entre atributos.

	Apariencia	Aroma	Sabor	Crocante	Textura en la boca
Apariencia	-	0.3380	0.3902	0.2969	0.2729
Aroma	0.3509	-	0.4178	0.1410	0.3126
Sabor	0.3902	0.4178	-	0.5228	0.5246
Crocante	0.2969	0.1410	0.5228	-	0.7966
Textura en la boca	0.2729	0.3126	0.5246	0.7966	-

En la Tabla 3.24 se puede destacar que lo crocante ha sido lo que más ha influido y la textura en boca también ha sido relevante a la hora de hacer una valoración global del producto, seguida del sabor con valores mayores de $R=0,5$. Por el contrario, el aroma fue el parámetro que menos importó a la hora de valorar el producto.

3.4.4 Prueba de pudrición en la manzana

Las manzanas recubiertas y el control que permanecieron en refrigeración no presentaron pudrición en el interior y exterior durante el período de almacenamiento.

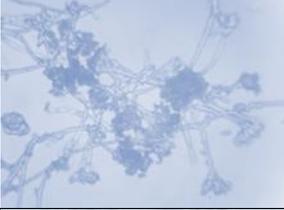
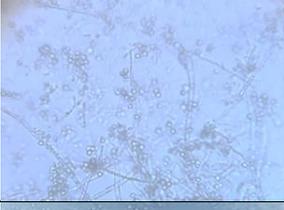
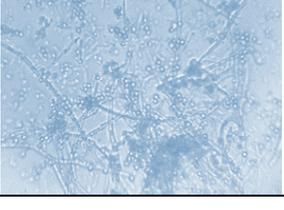
Sin embargo, las manzanas que no tuvieron refrigeración si presentaron pudrición. En la tabla 3.25 se presentan los microorganismos vistos en el microscopio presentes en las manzanas recubiertas y en el control que se usaron como blanco (sin refrigeración).

Los hongos encontrados en las manzanas probablemente sean *Aspergillus* ya que La pudrición de *Aspergillus* es una de las enfermedades poscosecha más importantes en las manzanas durante el almacenamiento a largo plazo (Gherbawy, 1998; Al-Bachir, 1999 y Hasan, 2000).

Por tanto, las películas estudiadas pueden ser efectivas únicamente en manzanas que se almacenan en refrigeración.

Se puede observar que las pudriciones variaron en cuanto a la ubicación, las manzanas recubiertas con pectina-alginato tiene un punto en la parte media, esto probablemente fue por un golpe que haya sufrido la manzana en su manipulación. Las manzanas que sufrieron pudrición en su base fue posiblemente porque no se recubrieron de forma correcta. Y las manzanas que sufrieron pudrición en el corazón del fruto como la manzana recubiertas con pectina-alginato-cera de abeja son provocadas por causas ajenas a las propiedades de las películas.

Tabla 3.25. Microorganismos vistos en el microscopio.

Matriz	Aditivo	Vista al microscopio 100x	Con recubrimiento Día 1
Pectina-Alginato	-		
Pectina-Alginato	Aceite de orégano		
Pectina-Alginato	Cera de Abeja		
Pectina-PVA	-		
Pectina-PVA	Aceite de orégano		
Pectina-PVA	Cera de Abeja		
Control			

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Para la extracción de la pectina de los residuos de *Opuntia Streptacantha*, se encontró que el mayor rendimiento se obtuvo usando todo el fruto y en estado inmaduro.

De los métodos utilizados en la obtención de pectina, el de mayor rendimiento fue el de extraído por una pectinasa (método IV) y la de mejor calidad revelado por el análisis FTIR, seguidas por las obtenidas por el método I, por lo se optó por realizar una mezcla de pectinas provenientes de ambos métodos, debido al costo de la enzima.

Dentro de la caracterización de la pectina se encontró que es de alto metoxilo, lo cual indica que son capaces de formar geles en condiciones de pH bajos (entre 2.8 y 3.5) y con altas concentraciones de azúcar. De acuerdo a la cantidad de ácido galacturónico se establece que la pureza de la pectina fue alta. Se obtuvo un bajo porcentaje de ceniza, lo que representa que la pectina obtenida tuvo una baja concentración de impurezas.

En la caracterización de las películas se encontró que las películas con PVA son más delgadas, presentan menor porcentaje de humedad, así como menor porcentaje de cenizas y son transparentes siempre que se emplee el glicerol como plastificante.

La adición de sorbitol a la mezcla para la obtención de películas, mostró poca afinidad, observándose materiales poco homogéneos.

Se encontró una mayor afinidad de las películas elaboradas con PVA para su uso como recubrimiento de manzanas, y se observó una mayor conservación del fruto con la película formulada con Pectina-PVA-Glicerol y aceite de orégano.

Se puede determinar que la pectina obtenida de *Opuntia Streptacantha* tiene actividad antimicrobiana y antioxidante. Aplicada en la película, la que mayor actividad antimicrobiana presentó fue la mezcla de pectina-PVA-glicerol-aceite de orégano. Y en cuanto a la actividad antioxidante las que mayor actividad presentaron fueron las de pectina-alginato-aceite de orégano, pectina-PVA-aceite de orégano y pectina-PVA-cera de abeja, todas incluyeron glicerol como plastificante.

Con respecto al análisis sensorial, éste arrojó que las manzanas con mejores atributos son las que fueron recubiertas con la película de pectina-PVA-cera de abeja, ya que se indicó que no tuvieron mal sabor, el recubrimiento no fue visible y, fueron las que conservaron su firmeza después de 15 días de almacenamiento.

Se recomienda un análisis sensorial con un mayor número de catadores y con un mayor tiempo de almacenamiento para observar mayores cambios en las manzanas recubiertas, además de mejorar la composición de la película para prolongar el tiempo de almacenamiento.

REFERENCIA

Abrajám-Villaseñor M. A. (2008). Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Depto. De Tecnología de Alimentos.

Adetunui, C. O., Fawole, O. B., Arowora K. A., Abiodum A. A., Adetunji J. B., Olatilewa M. O. (2012). Develop and Evaluation of Coatings from *Cactus Opuntia* in Prolonging the Shelf-life of Mangoes (*Mangifera indica*) Stored under Evaporative Coolant System (ECS). *Journal Home of Agricultural Research and Development*. 11, 31-42.

Al-Bachir A. (1999). Effect of gamma irradiation on storability of apples (*Malus domestica* L.) *Plant Foods Human Nutrition*. 54, 1–11

Al-Maiman S. A. y Ahmad D. (2002). Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruitmaturation. *Food Chemistry*. 76, 437–441.

Aragón O., Pantoja D., Santacruz L., Hurtado A. (2012). Actividad Antioxidante del Aceite esencial de orégano (*Lippia origanoides* H.B.K) del alto patia. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 10(2), 79-86.

Ashraf M., Khan N., Ahmad M., Elahi M. (1981). Studies on the pectinesterase activity and some chemical constituents of some pakistani mango varieties during storage ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 29, 526-528.

Assis O. B. y Pessoa J. D. (2004). Preparation of thin films of chitosan for use as edible coatings to inhibit fungal growth on sliced fruits. *Scientific Note, Brazilian Journal of Food Technology*. 7, 17-22.

ASTM E96-95. 1995. Standard Test Method for Water Vapor Transmission of Materials. 10, 1043-1054.

Avena-Bustillos R.J y Krochta J.M. (1993). Water Vapor Permeability of Caseinate-Based Edible Films as Affected by pH, Calcium Crosslinking and Lipid Content. *Journal Food Sciencie*. 58(4), 904-907.

Avena-Bustillos R. J., Krotcha J., Salveit M. E., Rojas-Villegas R., Saucedo-Pérez J. A. (1994). Optimization of edible coating formulations on zucchini to reduce water loss. *Journal Food Engineering*. 21, 197-214.

Ayranci E. y Tunc S. (1997). Cellulose-based edible films and their effects on fresh beans and strawberries. *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung A-Food Research and Technology*. 205, 470-473.

Ayranci E. y Tunc S. (2003). A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh food. *Food Chemistry*. 80, 423-431.

Azeredo H. M. C., Morrugares-crmona R., Wellner N., Cross K., Bajka B., Waldron K. W. (2016). Development of pectin films with pomegranate juice and citric acid. *Food Chemistry*. 198, 101-106.

Badui S. (2006). Química de los alimentos. Pearson. Addison Wesley. Cuarta edición. México. 92-96.

Baldwin E. A. (1999). Surface treatments and edible coatings in food preservation. Handbook of food preservation. M. Shafiur Rahman. pp. 615-648. New York: Marcel Dekker.

Baldwin E. A., Nispero-Carriedo M. O., Baker R. A. (1995). Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 30, 35-40.

Baldwin E. A., Nispero-Carriedo M. O., Chen X., Hagenmaier R. D. (1996). Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. *Postharvest Biology and Technology*. 9, 51-163.

Baldwin E. A., Nisperos-Carriedo M. O., Hagenmaier R. D., Baker R. E. (1997). Use of lipids in coatings for food products. *Food Technology*. 6(51), 56-64.

Brody A. L., Strupinsky E. R., Kline L. R. (2001). Active Packaging for food applications. Lancaster. *Technomic Publishing*. 218.

Campos C., Gerschenson L., Flores S. (2011). Development of edible films and coatings whit antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*. 4(8), 849-875.

Carbonell E., Costell E., Durán L. (1990). Determinación del contenido en pectinas en productos vegetales. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. 30(1), 1-9.

Cárdenas A., Higuera-Ciapara I., Goycoolea F. (1997). Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. *Journal Professional Association for Cactus Development*. 2, 152-159.

Cárdenas A., Goycoolea F.M., Rinauto M. (2008). On the gelling behavior of nopal (*Opuntia ficus-indica*) low methoxyl pectin. *Carbohydrate Polymers*. 73, 212-222.

Castellar R., Obon J. M., Fernández-López J. A. (2006). The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colorant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86, 122-128.

Černá M., Barros A. S., Nunes A., Rocha S. M., Delgadillo I., Čopíková J., Coimbra M. A. (2003). Use of FT-IR spectroscopy as a tool for the analysis of polysaccharide food additives. *Carbohydrate Polymers*. 51(4), 383-389.

Cisneros-Zevallos L. y Krochta J. M. (2003). Whey protein coating for fresh fruits and relative humidity effects. *Food Engineering Physical Properties*. 68, 176-181.

CONAZA (Comisión Nacional de las Zonas Áridas). (1996). Nopal tunero *Opuntia spp.* Cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. Instituto Nacional de Ecología. México.

Debeaufort F., Quezada-Gallo J. A., Voilley G. (1998). Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviews Food Science*. 38, 299-313.

De León-Zapata M. A., Sáenz-Galindo A., Rojas-Molina R., Rodríguez-Herrera R., Jasso-Cantú D., Aguilar C. (2015). Edible candelilla wax coating with fermented extract of tarbush improves the shelf life and quality of apples. *Food packaging and shelf life*. 3, 70-75.

De-Oliveira C. F., Giordani D., Gurak P. D., Clareda-Olivera F., Ferreira L. D. (2015). Extraction of pectin from fruit peel using moderate electric field and conventional heating extraction methods. *Journal Innovative Food Science and Emerging technologies*. 29, 201-208.

Diab T., Biliaderis C. G., Gerasopoulos D., Stakiotakis E. (2001). Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. *Journal Science Food Agriculture*. 81, 988-1000.

Díaz F., Santos E., Kerstupp S., Villagómez R., Scheivar L. (2006). Colourant extract from red prickly pear (*Opuntia lasiacantha*) for food application. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 2, 1330-1337.

Díaz-Sobac R., Beristain C., Vernon-Carter E. (2001). Water vapor permeability of an emulsion coating of maltodextrin and surfactants. *Journal Food Processing and Preservation*. 25, 25-34.

Donhowe I. G. y Fennema O. (1994). Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions and testing methods. In: "Edible coatings and films to improve food quality". Krochta J., Baldwin E., Nisperos-Carriedo M. (ed.) pp. 1-24. Lancaster: Technomic Publishing Co.

Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebes P., Smith F. (1956). Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analysis Chemical*. 28, 350- 356.

Espino-Díaz M., Ornelas-Paz J. J., Martínez-Téllez M. A., Santillán C., Barbosa-Cánovas G. V., Zamudio-Flores P. B., Olivas G. I. (2010). Development and Characterization of Edible Films Based on Mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). *Journal Food of Science*. 75, 347-352.

Falguera V., Quintero J. P., Jiménez A., Muñoz J. A., Ibarz A. (2011). Edible films and coating: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*. 22, 292-303.

Ferreira S., Correira A., Fonseca M. (2003). Response surface modeling of glycerolysis catalyzed by *Candida rugosa* lipase immobilized in different polyurethane foams for the production of partial glycerides. *Journal Molecular Catalysis-Enzymatic*. 21, 71-80.}

Ferreira, S. (2007). Pectinas; aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial; Universidad nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Colombia.

Figuroa-Cares I., Martínez-Damián M. T., Rodríguez-Pérez E., Colinas-León M. T., Valle-Guadarrama S., Ramírez- Ramírez S., Gallegos-Vázquez C. (2010). Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (*Opuntia* spp.) de México. *Agrociencia*. 44, 763-771.

Flores V. C. A. (1999). La tuna; base del desarrollo de culturas mesoamericanas. *Claridades Agropecuarias*. 71, 3-28.

Forni E., Penci M., Polesello A. (1994). A preliminary characterization of some pectins from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.) and prickly pear (*Opuntia ficus indica*) peel. *Carbohydrate Polymers*. 4(23), 231-234.

Gagri A., Ustunol Z., Ryser E. T. (2001). Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing paminobenzoic or sorbic acid. *Journal Food Science*. 66, 865-911.

Galanakis C. M. (2012). Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science and Technology*. 26, 68-87.

García M. A., Martino M. N., Zaritzky N. E. (1998). Starch-based coatings: effect on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. *Journal Food and Agriculture*. 76, 411-420.

García M. A., Martino M. N., Zaritzky N. E. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. *Journal Food Science*. 65, 941-947.

Gaviria N. y López L. (2005). Extracción a escala laboratorio de la pectina del maracuyá y escalado preliminar a planta piloto. Universidad Eafit. Medellín.

Gennadios A. y Weller C.L. (1991). Edible films and coatings from soymilk and soy protein. *Cereal Foods World*. 36, 1004-1009.

Gherbawy Y. A. M. H. (1998). Effect of gamma irradiation on the production of cell wall degrading enzymes by *Aspergillus niger*. *Journal Food Microbiology*. 40, 127-131.

Gómez-Sánchez A. I. y López-Malo A. (2009). Potencial antimicrobiano de los aceites de orégano (*Origanum vulgare*) y canela (*Cinnamomun zeylanicum*). *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 3(1), 33-45.

Gontard N. y Guilbert S. (1992). Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. In: "Food Packaging and Preservation". Mathlouthi M. (ed.) pp. 159-180. London: Chapman y Hall.

Gorris L. G. M. y Peppelenbos H. W. (1992). Modified atmosphere and vacuum packaging to extend the shelf life of respiring food products. *HortTechnology*, 2, 303-309.

Granados S. D. y Castañeda P. A. D. (2003). El Nopal. Editorial Trillas. México D. F. 112, 62-75.

Guevara-Arauza J. C., Pérez-Martínez J. D., Órnelas-Paz J. de J. (2011). Elaboración y caracterización de películas biodegradables a base de nanobiopartículas (mucilago y pectina) de nopal verdura (*Opuntia Ficus-indica*). *NanoMéx'11 Encuentro Internacional e Interdisciplinario en Nonciencia y Nanotecnología*.

Guillén F., Díaz-Mula H. M., Zapata P. J., Valero D., Serrano M., Castillo S., MartínezRomero D. (2013). Aloe arborescens and Aloe vera gels as coatings in delaying postharvest ripening in peach and plum fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 83, 54–57.

Guilbert S. (1986). Technology and application of edible protective films. In: "Food packaging and preservation: theory and practice". Mathlouthi M. (ed.) pp. 371-394. London, UK: El Sevier Applied Science Publishing Co.

Guilbert S. y Biquet B. (1996). Edible films and coatings. In: Food Packaging Technology. Bureau G., Multon J. L., (ed.) New York: VCH Publishers, Inc.

Gurrieri S., Miceli L., Lanza C. M., Tomaselli F., Bonomo R. P., Rizzarelli E. (2000). Chemical characterization of Sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 48, 5424-5431.

Habibi Y., Heyraud A., Mahrouz M., Vignon M. R. (2004). Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Research*. 39,1119-1127.

Hassan H. A. H. (2000). Patulin and aflatoxin in brown rot lesion of apple fruit and their regulation. *World Journal Microbiological Biotechnology*. 16, 607–612.

Hernández E. M., López G. Y. R., García P. A. (2005). Evaluación de derivados carboximetilados del alginato de sodio como superabsorbente. *Revista Cubana Química*. 17(3), 239-240.

Hernández-Ochoa L., Gonzales-Gonzales A., Gutiérrez-Mendez N., Muños-Castellanos L. N., Quintero-Ramos A. (2011). Estudios de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extracto de especias como agentes antimicrobianos. *Revista mexicana de Ingeniería Química*. 10(3), 455-463.

Ibarz A., Pagán A., Tribaldo F., Pagán J. (2006). Improvement in the measurement of spectrophotometric data in the m-hydroxydiphenyl pectin determination methods. *Food Control*. 17, 90-893.

Jiang Y., Li Y. (2001). Effects of chitosan on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chemistry*. 73, 139-143.

Jiang X., Chen P., Yin M., Yang Q. (2012). Constitutive expression, purification and characterisation of pectin methylesterase from *Aspergillus niger* in *Pichia pastoris* for potential application in the fruit juice industry. *Journal Science Food and Agriculture*. 93, 375–381.

Kanmani P. Dhivya, Aravind J. y Kumaresan K. (2014). Extraction and analysis of Pectin from Citrus Peel: Augmenting the Yield from Citrus limon Using Statistical Experimental Design. *Iranica Journal of Energy and Environment*. 5(3), 303-312.

Kamel S. M. (2014). Utilization of Cactus Dear Peels Mucilage as an Edible Coating of Chicken Meat to Prolong its Shelf Life. *Food Science and Quality Management*. 28, 77.

Kester J. J. y Fennema O. (1986). Edible films and coatings: a review. *Food Technology*. 40, 47-59.

Kim C. T., Lee S. J., Cho Y. J., Kim C. J., Shin W. S., Choi A. J. (2001). Characteristics of antimicrobial edible films from cellulose-based materials incorporated with propolis extracts. IFT Annual Meeting Technical Program Abstracts 73D.

King A.H. (1983). Brown seed extracts (Alginates). *Food Hydrocolloids*. 2, 115-188.

Kintner P. K. y Van Buren J. P. (1982). Carbohydrate Interference and its correction in pectin analysis using the m-hydroxydiphenyl method. *Journal of Food Science*. 47, 756-759.

Krochta J. M. y Mulder-Johnston C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology*. 51, 60-74.

Le Tien C., Vachon C., Mateescu M. A., Lacroix M. (2001). Milk protein coating prevent oxidative browning of apples and potatoes. *Journal Food Science*. 66, 512-516.

Lira-Ortiz A. L., Reséndiz-Vega F., Ríos-Leal E., Contreras-Esquivel J. C., Chavarría-Hernández N., Vargas-Torres A., Rodríguez-Hernández A. I. (2014). Pectins from waste of prickly pear fruits (*Opuntia albicarpa* Sheinvar "Reyna"): Chemical and rheological properties. *Food Hydrocolloids*. 37, 93-99.

Lira-Vargas A. A., Corrales-García J. E., Valle-Guadarrama S., Peña-Valdivia C. B., Trejo-Marquez M. A. (2014). Biopolymeric films based on cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage incorporated with gelatin and beeswax. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 16, 51-70.

Los Apantles. (2015). Los Apantles Vivero. Disponible en: <http://losapantles.com.mx/>.
Ultimo acceso 10 de mayo del 2015.

Lozada M. (2007). Extracción y caracterización reológica de polisacáridos de pectina de la cascara de tuna (*Opuntia spp*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Madjdoub H., Roudesli S., Picton L., Le C. D., Muller G., Grisel M., (2001). Prickly pear nopal pectin from *Opuntia Ficus indica*. Physicochemical study in dilute and semidilute solution. *Carbohydrate Olymers*. 46, 69-79.

Maftoonazad N., Ramaswamy H. S., Marcotte M. (2008). Shelf-life extension of peaches through sodium alginate and methyl cellulose edible coatings. *International Journal of Food Science and Technology*. 43(6), 951-957.

Maki-Díaz G., Peña-Valdivia R., García-Nava M. L., Arévalo-Galarza G., Calderón-Zavala y Anaya-Rosales S. (2015). Características físicas y químicas de nopal verdura (*Opuntia ficus-indica*) para exportación y consumo nacional. *Agrociencia*. 49, 31-51.

Mancini F. y McHugh T.H. (2000). Fruit-alginate interactions in novel restructured products. *Nahrung*. 44, 152-157.

Martín-Belloso O., Soliva-Fortuny R. C., Baldwin E. (2005). Conservación mediante recubrimientos comestibles. En: "Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados". González-Aguilar G., Gardea A., Cuamea-Navarro A. pp. 341-356. México: CIAD.

Martin-Polo M., Mauguin C., Volley A. (1992). Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer. 1. Influence of the film preparation technique. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 40, 407-412.

Mattheis J. y Fellman J. K. (2000). Impacts of modified atmosphere packaging and controlled atmospheres on aroma, flavor, and quality of horticultural commodities. *HortTechnology*. 10, 507-510.

McHugh T. H. (2000). Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung*. 44, 148-151.

McHugh T. H., Huxsoll C. C., Krochta J. M. (1996). Permeabilities properties of fruit puree edible films. *Food Science*. 61, 88-91.

McHugh T. H. y Krochta J. M. (1994). Milk-protein-based edible films and coatings. *Food Technology*. 48, 97-103.

McHugh T. H. y Senesi E. (2000). Apple wraps: a novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal Food Science*. 65, 480-485.

Medina-Torres L., Brito-De La Fuente E., Torrestiana-Sánchez B., Katthain, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus-indica*). *Food Hydrocolloid*. 14, 417-424.

Mei Y., Zhao Y., Yang J., Furr H. C. (2002). Using edible coating to enhance nutritional and sensory qualities of baby carrots. *Journal Food Science*. 67, 1964-1968.

Meneses R. G. y Morales M. G. (2000). Determinación de la influencia de las diferentes partes de la tuna *Opuntia amyclaea* variedad Alfajayucan y del benzoato

de sodio, sobre la calidad físico-química, microbiológica y sensorial en la elaboración de un producto de confitería. Tesis profesional. Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo. Hidalgo, México.

Mercado E. (2004). Cultivos no tradicionales y su potencial de exportaciones como frutos mínimamente procesados en México. Memorias del Simposium “Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados en Iberoamérica”, San José Costa Rica. 101-113.

Morales-Escobar R. (2014). México Desconocido. Disponible en: <http://www.mexicodesconocido.com.mx/fotos-semana-frutas-mexico.html>. Último acceso: 10 de mayo del 2015.

Nisperos-Carriedo M. O. (1994). Edible coatings and films based on polysaccharides. In: “Edible coatings and films to improve food quality”. Krochta J. M., Baldwin E. A., Nisperos-Carriedo M. (ed.) pp. 305-355. Lancaster: Technomic Publishing Co.

Nobel P., Cavelier J., Andrade J. L. (1992). Mucilage in cacti: its apoplastic capacitance, associated solutes, and influence on tissue water relations. *Journal of Experimental Botany*. 250(43), 641-648.

Nor A. M. y Mohd S. S. (2011). Development and modification of PVA–alginate as a suitable immobilization matrix. *Process Biochemical*. 46, 2122–2129.

Nordby M. H., Kjøniksen A. L., Nyström B., Roots J. (2003). Thermoreversible Gelation of Aqueous Mixtures of Pectin and Chitosan Rheology. *Biomacromolecules*. 4, 337-343.

Nussinovitch A. (1997). Agricultural uses of hydrocolloids. In: "Hydrocolloid applications: Gum technology in the food and other industries". pp. 169-189. London: Blackie Academic and Professional.

Olivas G. I. y Barbosa-Cánovas G. V. (2005). Edible coating for fresh-cut fruits. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*. 45, 657-670.

Owens H. S., McCready R. M., Shepard A. D., Schultz T. H., Phippen E. L., Swenson H. A., Miers J. C., Erlandsen R. F., Maclay W. D. (1952). Methods used at western regional research laboratory for extraction of pectic materials. p. 9. Washington DC: USDA Bureau of Agricultural and Industrial Chemistry

Park H. J., Chinnan M. S., Shewfelt R. L. (1994). Edible coating effects on storage life and quality of tomatoes. *Journal Food Science*. 59(3), 568-570.

Pavlath A. E., Wong D. S. W., Kumosinski T. F. (1993). New coatings for cut fruits and vegetables. *Chemical technology*. 23, 36-40.

Pavlath A. E. y Orts W. (2009). Edible Films and Coatings for Food Applications. Springer, New York. 1-20.

Peña-Valdivia C. B., Trejo C., Arroyo-Peña B., Sánchez B. A., Balois R. (2012). Diversity of Unavailable Polysaccharides and Dietary Fiber in Domesticated Nopalito and Cactus Pear Fruit (*Opuntia* spp.) *Chemistry and Biodiversity*. 9, 1599-1510.

Pérez-Gago M. B., Serra M., Alonso M., Mateos M., Del Río M. A. (2003). Effect of solid content and lipid content of whey protein isolate-beeswax edible coatings on color change of fresh-cut apples. *Journal Food Science*. 68, 2186-2191.

Piñuel L., Martínez Y., Breccia J. y Castro G. (2010). Pectin/PVA cryogels doped with pH indicator dyes for its application in food packaging. International Congress of Bioprocess on Food Industry, October 5- 8, Curitiba, Brazil.

Pimienta-Barrios E. (1990). El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México. 246.

Pimienta-Barrios E. y Del Castillo R. F. (2002). Reproductive biology. In: "Cacti, biology and uses". Park Nobel S. (ed.) pp. 75-90. Berkeley and Los Angeles, California, USA: University of California Press.

Pizzocaro F., Toregiani D., Gilardi G. (1993). Inhibition of apple polyphenol oxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. *Journal Food Process Preservation*. 17, 21-30.

Prakash J. y Arum K. (2015). Process variable influence on microwave assisted extraction of pectin from waste *Carcia papaya* L. peel. *International Journal of Biological Macromolecules*. 73, 202-206.

Prakash J., Sivakumar V., Thiruhnanasambandham K., Sridhar R. (2014). Microwave assisted extraction of pectin from waste *Citrullus lanatus* fruit rinds. *Journal Carbohydrate Polymers*. 102, 786-791.

Qiu L., Zhao G., Wu H., Jiang L., Li X., Liu J. (2010). Investigation of combined effects of independent variables on extraction of pectin from banana peel using response surface methodology. *Carbohydrate Olymers*. 80, 326-331.

Reyes-Agüero J. A., Aguirre J. R., Flores J. L. (2005). Variación morfológica de *Opuntia* (Cactaceae) en relación con su domesticación en la Altiplanicie Meridional de México. *Interciencia*. 30, 476-484.

Rhim J. W. (2004). Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *Lebensmittel-Wissenschaft Uns- Technolie*. 37, 323-330.

Ro J., Kim Y., Jang H., Lee S. B., Chakma H. J. (2013). Anti-oxidative activity of pectin and its stabilizing effect on retinyl plamitate. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*. 17, 197-201.

Roe B. y Bruemmer J.H. (1981). Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of 'Keitt' mangos. *Journal of Food Science*. 46, 186-189.

Rojas-Graü M. A., Rybaudi-Massilia R. M., Soliva-Fortunva R. C., Avena-Bustillo R. J., McHugh T. H., Martín-Belloso O. (2007a). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*. Vol. 45, pp. 254-264.

Rojas-Graü M. A., Tapia M. S., Rodríguez F. J., Carmona A. J., Martín-Belloso O. (2007b). Alginate and gellan based edible coatings as support af antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji Apple. *Food Hydrocolloids*. 21, 118-127.

Rojas-Graü M. A., Tapia M. S., Rodríguez F. J., Carmona A. J., Martín-Belloso O. (2006). Alginate and gellan based edible coatings as support of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apple. *Food Hydrocolloids*, in press.

Rolin C. y De Vies J. (1990). Pectin. In "Food Gels". P. Harris (ed.), pp. 401-428. Elsevier Science Publishers LTD, England.

Ruiz-Cruz S., Guevara-Gálvez C. L., Estrada-Alvarado I., Cira-Chavéz L. A., Gassós-Ortega L. E., Llanez-Samaniego A. L. (2010). Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y almidón para mantener la calidad sensorial y microbiológica de

melón fresco cortado. *Revista Internacional de Ciencia y Tecnología Biomédica*. 1, 1-10.

Saag K. M. L., Sanderson G., Moyna P., Ramos G., (1975). Cactaceae mucilage composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 26, 993-1000.

Sabato S. F., Ouattara B., Yu H., D'Aprano G., Le T. C., Mateescu M. A., Lacroix M. (2001). Mechanical and barrier properties of crosslinked soy and whey protein based films. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 49, 1397-1403.

Sáenz C., Vásquez M., Trumper S., Fluxá C. (1992). Extracción y composición química de mucílago de tuna (*Opuntia ficus indica*). Actas: II Congreso Internacional de la tuna y cochinilla. Santiago, Chile. 93-96.

Sáenz C. (2004). Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. p. 211-222. En: "El Nopal, Tópicos de actualidad". Editado por Esparza G., Valdez R., Méndez S. Universidad Autónoma de Chapingo, México.

Sáenz C. (2006). Utilización agroindustrial del nopal. Boletín de Servicios Agrícolas Núm. 162. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 165.

Sáenz C., Berger H., García J. C., Galletti L., De Cortázar V. G., Higuera I., Mondragón C., Rodríguez-Félix E., Sepúlveda E., Varnero M. T. (2006). Utilización agroindustrial de nopal. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO No. 162. Roma.

Sahraei Khosh Gardesh A., -badii F., Hashemi M., Yasini Ardakani A., Maftoonazad N., Mousapour Gorji A. (2016). Effect of nanochitosan based coating on climacteric behavior and postharvest shelf-life extension of apple cv. *Golab kohanz*. *Food Science and Technology*. 70, 33-40.

Sammataro D., LeBlanc B., Carroll M. J., Finley J., Torabi M.T. (2010). Antioxidants in was cappings of honey bee brood. *Journal of Apicultural Research and Bee World*. 49(4), 293-301.

Sánchez-Aldana S., Aguilar C. N., Nevarez-Moorillon G. V., Esquivel J. C. C. (2013). Comparative extraction of pectic and polyphenols from Mexican lime pomace and bagasse. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 8(4), 309–322.

Sánchez-Aldama D, Contreras-Esquivel J. C., Nevárez-Moorillón G. V., Aguilar C. N. (2015). Characterization of edible films from pectin extracts and essential oil from Mexican lime. *CyTA Journal of Food*. 13(1), 17-25.

Saucedo-Pompa S., Saenz-Galindo A., Jasso-Cantu D., Aguilar-González M. A., Aguilar C. N. (2008). Influencia del ácido elágico y de cera de canelilla de cubiertas comestibles en la vida de anaquel de manzanas. *Journal Food Quality*. 30(5), 823-836.

Saval S. (2012). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *BioTecnología*. 16, 12-46.

Schols H. A. y Voragen A. G. J. (2002). The chemical structur of pectins. In: "Pectins and their manipulation", Seymour G. B., Knox J. P. (ed.) pp. 1-25. Blackwell Publishing CRC Press. Estados Unidos de América.

Skandamis P. N. y Nychas G. J. E. (2000). Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs and oregano essential oil concentrations. *Applied Environmental Microbiology*. 66, 1646-1653.

Soliva-Fortuny R. C., Lluch M. A., Quiles A., Grigelmo-Miguel N., Martín-Belloso O. (2003). Evaluation of textural properties and microstructure during storage of minimally processed apples. *Journal Food Science*. 68, 312-317.

Son S.M., Moon K. D., Lee C. Y. (2001). Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. *Food Chemistry*. 73, 23-30.

Sothornvit R. y Krochta J. M. (2000). Plasticizer effect on oxygen permeability of Bactoglobulin films. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 48, 6298-6302.

Stintzing F. C. y Carle R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*. 15, 19-38.

Stintzing F. C. y Carle R. (2005). Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on the chemistry, technology and uses. *Molecular Nutrition Food Research*. 49, 175-194.

Sudzuki, F. (1995). Anatomy and morphology. In: *Agro-ecology, Cultivation and Uses of Cactus Pear*. Barbera G., Inglese P., Pimienta Barrios E. (ed.) pp. 28–35. FAO Plant Production and Protection Paper No. 132, Roma, Italy.

Sumaya-Martínez M. T., Suárez-Diéguez T., Cruz-Cansino N. S., Alanís-García E., Sampedro J. G. (2010). Innovación de productos de alto poder agregado a partir de la tuna Mexicana. *Revista Mexicana de Agronegocios*. 27, 435-441.

Sumaya-Martínez M. T., Cruz-Jaime S., Madrigal-Santillán E., García-Paredes J. D., Cariño-Cortés R., Cruz-Cansino N., Valadez-Vega C., Martínez-Cárdenas L., Alanís-García E. (2011). Betalain, acid ascorbic, phenolic contents and antioxidant properties of purple, red, yellow and white cactus pears. *Journal Molecular Sciences*. 10, 6452-6468.

Suppakul P., Miltz J., Sonneveld K., Bigger S. (2003). Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. *Journal Food Science*. 68, 408-420.

Tesoriere L., Fazzari M., Allegra M., Livrea M. A. (2005). Biothiols, taurine, and lipid-soluble antioxidants in the edible pulp of sicilian cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits and changes of bioactive juice components upon industrial processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 7851-7855.

Thygesen L. G., Lokke M. M., Micklander E., Engelsen S. B. (2003). Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. *Trends in Food Science and Technology*. 14(1-2), 50-57.

Torrenegra M. E. (2014). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de orégano (*Origanum vulgare*), oregano “Borde blanco” (*Origanum vulgare* ssp) y oreganito (*Lippia alba mill*) Cultivado en la zona norte del departamento de Bolívar (Colombia). Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia.

Trachtenberg S. y Mayer A. M. (1981). Calcium oxalate crystals in *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Development and relation to mucilage cells—a stereological analysis. *Protoplasma*. 109, 271-283.

Trachtenberg S. y Mayer A. M. (1982). Biophysical properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *Phytochemistry*. 21, 2835-2843.

Tripathi S., Mehrotra G. K., Dutta P. K. (2010). Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly (vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications. *Carbohydrate Polymers*. 79(3), 711-716.

- Turhan K. N., Sahbaz A., Güner A. (2001). A spectrophotometric study of hydrogen bonding in methylcellulose-based edible films plasticized by polyethylene glycol. *Journal Food Science*. 66, 59-62.
- Valdez-Martínez S. E. (2006). Hidratos de Carbono. In "Química de Alimentos", S. Baudui (ed.) pp. 92-97. Perason Adisson Wesley, México D.F.
- Valencia-Sandoval K., Brambila-Paz J. de J., Mora-Flores J. S. (2010). Evaluación del nopal verdura como alimento funcional mediante opciones reales. *Agrociencia*. 44, 955-963.
- Voragen A. G. J., Coenen G. J., Verhoef R. P., Schols H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*. 2(20), 263-275.
- Wang W., Ma X., Jiang P., Hu L., Zhi Z., Chen J., Ding T., Ye X., Liu D. (2016). Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. *Food Hydrocolloids*. 61, 730-739.
- Willats W. G. T., Knox J. P., Mikkelsen J. D. (2006). Pectin: new insights into an older polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology*. 17, 97-104.
- Wong D. W. S., Tillin S. J., Hudson J. S., Pavlah A. E. (1994). Gas exchange in cut apples with bilayer coatings. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 42, 2278-2285.
- Yang L. y Paulson A. T. (2000). Mechanical and water vapor barrier properties of edible gellan films. *Food Research International*. 33, 563-570.
- Yu L., Reitmeier C. A., Love M. H. (1996). Strawberry textura and pectin content as affected by electron beam irradiation. *Journal of Food Science*. 61, 844-846.

Yuliarti O., Matia-Merino L., Goh. K. K., Mawson J., Brennam C. (2015). Extraction and characterisation of pomace pectin from gold kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Food Chemistry*. 187, 290-296.

Zambrano Zaragoza M., Gutierrez-Cortez E., Del Real A., Gonzalez-Reza R. M., Galindo Pérez M. J., Quintanar-Gerrero D. (2014). Fresh-cut Red Delicious apples coating using tocopherol/mucilage nanoemulsion: Effect of coating on polyphenol oxidase and pectin methylesterase activities. *Food Research International*. 62, 974-983.

Zamudio-Flores P. B., Bautista-Baños S., Salgado-Delgado S., Bello-Pérez L. A. (2009). Effect of oxidation level on the dual modification of banana starch: The mechanical and barrier properties of its films. *Journal of Applied Polymer Science*. 112, 822-829.

Zhang D. y Quantick P. C. (1997). Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis Sonn.*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 12, 195-202.

Zhang D. y Quantick P. C. (1998). Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *Journal of Horticultural Science Biotechnology*. 73, 763-767.