UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGROINDUSTRIAS

TESIS

FORMULACIÓN Y APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO A BASE DE QUITOSANO Y GEL DE SÁBILA (*Aloe vera)* PARA EL TRATAMIENTO POSTCOSECHA DEL LIMÓN SUTIL.

PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR:

Br. CÉSAR ALEJANDRO ZEVALLOS MARCHÁN

TUMBES, PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGROINDUSTRIAS

TESIS

FORMULACIÓN Y APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO A BASE DE QUITOSANO Y GEL DE SÁBILA (*Aloe vera)* PARA EL TRATAMIENTO POSTCOSECHA DEL LIMÓN SUTIL.

LOS SUSCRITOS DECLARAMOS QUE EL PRESENTE TRABAJO DE TESIS ES ORIGINAL EN SU CONTENIDO Y FORMA

Br. César Alejandro Zevallos Marchán
Autor

Dr. Ing. Víctor Benjamín Carril Fernández
Asesor

Ing. John Rimaycuna Ramírez
Co-Asesor

Mg. Gaspar Chávez Dioses
Co-Asesor

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGROINDUSTRIAS

TESIS

FORMULACIÓN Y APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO A BASE DE QUITOSANO Y GEL DE SÁBILA (*Aloe vera)* PARA EL TRATAMIENTO POSTCOSECHA DEL LIMÓN SUTIL.

APROBADA EN CONTENIDO Y ESTILO POR:

Dr. Gerardo J. Francisco Cruz Cerro
Presidente

Mg. José Luis Cabrera Reyes
Secretario

Mg. Dorian Yasser Aguirre Campos
Vocal

INDICE

INTRODUCCIÓN 11
RESUMEN 14
ABSTRACT 15
CAPITULO II 16
MARCO TEORICO-CIENTÍFICO 16
2.1. Antecedentes 16
2.2. Bases teóricas 20
2.2.1. Aspectos Generales 20
2.2.2. Quitosano 20
2.2.2.1. Características del quitosano 21
2.2.2.2. Propiedades del Quitosano. 23
2.2.2.2.1. Propiedades biológicas 23
2.2.3. Gel de sábila (*Aloe vera*) 26
2.2.4. Plastificantes 27
2.2.4.1. Glicerina 29
2.2.4.2. Alcohol polivinilico (PVA) 29
2.2.5. Características del limón sutil (*Citricus aurantifolia*) 30
2.2.6. Formulación de los recubrimientos 32
2.2.6.1. Recubrimientos en frutas y hortalizas 32
2.2.6.2. Consideraciones importantes en la elaboración de recubrimientos emulsificados 33
2.2.6.3. Materias primas empleadas en la elaboración de recubrimientos y películas 46
2.2.6.4. Diferencias entre recubrimiento y películas 47
2.2.6.5. Matriz estructural de los recubrimientos compuestos 47
2.2.6.6. Propiedades y beneficios del uso del recubrimiento 49
2.2.6.7. Propiedades específicas de los recubrimientos a base de lípidos, proteínas y polisacáridos aplicados en frutas y hortalizas 50
CAPITULO III 64
MATERIALES Y MÉTODOS 64
3.1. Materiales y equipos 64
3.1.1. Material experimental 64
3.1.2. Materiales del laboratorio 64
3.1.3. Reactivos 65
3.1.4. Equipos 65
3.2. Método de investigación 66
3.2.1. Tipo de estudio 67

3.2.2. Muestra 67
3.2.3. Flujo Experimental 68
3.2.3. Preparación de Materiales 69
3.2.3.1. Obtención del limón sutil (*Citrus aurantifolia)* 69
3.2.3.2. Preparación del limón (Lavado y pesado). 69
3.2.3.3. Pruebas preliminares. 70
3.2.3.3.1. Pruebas de la concentración del gel sábila (*Aloe vera*) 70
3.2.3.3.2. Selección de plastificantes 70
3.2.3.3.3. Concentración de Ácido Acético 70
3.2.3.3.4. Temperatura de secado 71
3.2.3.3.6. Muestras microbiológicas 71
3.2.3.4. Obtención del gel de sábila (*Aloe vera)* 72
3.2.3.5. Preparación del quitosano 72
3.2.3.6. Preparación de plastificantes o aditivos 73
3.2.3.7. Formulación de los recubrimientos 73
3.2.3.8. Aplicación del recubrimiento por inmersión 75
3.2.3.9. Caracterización de los parámetros a evaluar del limón recubierto 75
3.2.3.9.1. Análisis físico-químico 75
3.2.3.9.2. Análisis microbiológico 77
3.2.4. Caracterización de los estudios, en las películas 78
3.2.4.1. Propiedades físicas 79
3.2.4.2. Propiedades de biodegradación. 83
3.2.3.3. Análisis estadístico 85
CAPITULO IV 86
RESULTADOS 86
4.1. Resultados de las propiedades en estudio del limón recubierto 86
4.1.1. Resultados Físico-químicos, Hedonicos, Físicos, y Microbiológicos 86
4.1.1.1. Resultados físico-químico 86
4.1.1.2. Resultados del análisis microbiológico 88
4.1.1.3. Resultados físicos 89
CAPITULO V 97
DISCUSIONES 97
5.3. Propiedades físicas de la película. 100
5.3. Propiedades de biodegradación de la película. 111
Conclusiones. 115
Recomendaciones 116
Bibliografías 117

Anexos. 122

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 01: Valor Nutritivo del Limón …….....32
Tabla N° 02: Efecto de la actividad de agua sobre los alimentos ……46
Tabla N° 03: Descripción de los Tratamientos empleados ……....49
Tabla N° 04: Tratamientos en estudio ……...75
Tabla N° 05: Ensayo antifúngico……..……...89
Tabla N° 06: Análisis de Varianza de densidad (g/ml) de las Películas ...…..……..….101
Tabla N° 07: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la densidad de la película ……102
Tabla N° 08: Análisis de Varianza de viscosidad (Pa.s) de las Películas ……103
Tabla N° 09: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la viscosidad ……104
Tabla N° 10: Análisis de Varianza de la permeabilidad al vapor……..105
Tabla N° 11: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la permeabilidad al vapor. ……..106
Tabla N° 12: Análisis de Varianza para la solubilidad……107
Tabla N° 13: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la solubilidad……..108
Tabla N° 14: Análisis de Varianza del Espesor (mm) de las Películas ……..109
Tabla N° 15: Análisis de Varianza para la humedad……..111
Tabla N° 16: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la humedad……111
Tabla N° 17: Análisis de Varianza para la Biodegradabilidad anaeróbica (12 cm)……...113
Tabla N° 18: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la Biodegradabilidad anaeróbica (12 cm)……..……...113
Tabla N° 19: Análisis de Varianza para la Biodegradabilidad aeróbica (2 cm) ……114
Tabla N° 20: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la Biodegradabilidad aeróbica (2 cm)……115

INDICE DE GRÁFICOS

Grafico N° 01: Densidad del recubrimiento (g/ml) …….....90
Grafico N° 02: Viscosidad del recubrimiento Pa.s ……..91
Grafico N° 03: Permeabilidad al Vapor de Agua PVA (gmm/hPam^2)..…….92
Grafico N° 04: Solubilidad de las películas en %…….....93
Grafico N° 05: Espesor del recubrimiento en (mm) ..……..94
Grafico N° 06: Humedad de las películas en (%)…….…….....95
Grafico N° 07: Biodegradación anaeróbica en (%)..…….....96
Grafico N° 08: Biodegradación anaeróbica en (%)…….....97

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 01: Unidad repetitiva de la quitina …….....21
Figura N° 02: Elemental para la producción de los derivados de la quitina 22
Figura N° 03: Estructuras químicas del quitano y el quitosano ….....23
Figura N° 04: Algunas de las aplicaciones de la quitina y el quitosano en actividades relacionadas con la agricultura …….....25
Figura N° 05: Partes del limón (*Citrus aurantifolia*) …….....31
Figura N° 06: El proceso de difusión activada …….....36
Figura N° 07: Funciones selectivas y activas de películas y recubrimientos …….....38
Figura N° 08: Isotermas de adsorción y desorción …….....41
Figura N° 09: Isoterma de sorción de agua y sus zonas A, B y C …….....42
Figura N° 10: Representación esquemática de los seis tipos de isotermas de adsorción ..…….....43

AGRADECIMIENTO

A toda mi familia, en especial a mis padres y hermanos, por confiar siempre en mí, ayudarme en todo lo posible y darme ánimos todos estos meses.

También quiero expresar mi gratitud a mis amigos y profesionales, como son, el Dr. Víctor Benjamín Carril Fernández, por su apoyo como asesor del proyecto de tesis; a mi co-asesor el Ing. John Rimaycuna Ramírez ; al Dr. Ing. Gerardo Juan Francisco Cruz Cerro, por haberme permitido ser parte del proyecto "Envases basadas en quitosano obtenido de desechos de la industria de hidrobiológicos y nanoparticulas antimicrobianas para aumentar la vida en anaquel de la carne y queso de cabra (Capra hircus sp) producidos en los bosques secos de la zona norte del Perú"-Contrato INNOVATE-PERU N° 356- PNICP-PIAP-2014. Al Mg. Gaspar Chávez Dioses por su apoyo en la parte estadística; al Lic Mcbio. Ruben Alfaro Aguilera, por brindarnos su amistad y apoyo en el área de microbiología.

A todos ellos por atender y suministrar de conocimiento y material para este proyecto, necesarios para la ejecución del mismo.

A todos ustedes, ¡¡Muchas Gracias!!

A mi familia: Guillermo, Hilda, Luis, Carlos, Guillermina, Jorge, Lilia, Jhoana, Adriano, Dayana, Andrea, Ana, Vilma; y a todos los que me inculcaron el respeto y la perseverancia en mi formación profesional.

INTRODUCCIÓN

En general, la búsqueda de materiales menos agresivos con el ambiente es una tarea continua en todas las áreas del quehacer humano debido a los altos niveles de contaminación presentes en todo el planeta. En la agricultura este trabajo es doblemente complicado porque, por un lado se deben producir materiales que logren su efecto específico en la planta o en sus productos, mientras que por el otro, se necesita que éstos se eliminen sin efectos perturbadores en el medio ambiente.

El creciente interés de los consumidores hacia productos sanos, nutritivos, naturales y beneficiosos para la salud, ha orientado y motivado investigaciones hacia el desarrollo de películas y recubrimientos aplicados a productos hortofrutícolas, como una alternativa para cubrir estas necesidades. Estos se aplican con el objetivo de extender la vida útil de los alimentos y proveer la posibilidad de mejorar la seguridad del producto mediante la limitación de transferencia de humedad, oxígeno y compuestos responsables del sabor, color y aroma.

El empleo de películas y recubrimientos a base de polisacáridos, proteínas, lípidos, aditivos y compuestos activos ha jugado un papel importante en la industria de alimentos y han demostrado ser efectivos en la conservación de frutas y hortalizas, controlando transferencia de gases, crecimiento microbiano, así como manteniendo las características deseadas por los consumidores como, apariencia fresca, firmeza, brillo, color, calidad y valor comercial.

Desde el punto de vista geográfico-regional, diferentes zonas en el norte del Perú han tenido un gran desarrollo en los últimos años en el cultivo de cítricos como parte de la política diversificadora de cultivos tradicionales. Pero además, el eslabón de la postcosecha puede presentar problemas profundos en el desarrollo citrícola, explicado por deficiente selección, clasificación y almacenamiento; baja calidad externa del fruto; insuficiente tecnología disponible para mejorar presentación y conservación, así como abundancia en desechos y pérdidas.

Existen tecnologías para extender la vida útil en fresco de productos hortofrutícolas en postcosecha, para preservar del ataque de organismos patógenos y conservar la calidad en general. Se destaca el uso de recubrimientos, los cuales forman una barrera en la superficie del fruto que permite modular el intercambio de gases y vapor de agua. La característica funcional más importante de una película, es la resistencia contra la migración de humedad, por ello se deben conservar los niveles críticos de actividad de agua para asegurar la calidad e integridad metabólica, controlar la maduración y senescencia. Sin embargo se debe asegurar una cierta permeabilidad al oxígeno y al dióxido de carbono para evitar un estatus anaeróbico.

Las cubiertas y películas se definen como una capa delgada del material, formada en un alimento o una capa colocada entre componentes del alimento o capas delgadas preparadas a partir de material que puede ser comestible o no, ya que actúan como una barrera a los elementos externos (factores como humedad, aceite, vapor), y de esta manera, protegen al producto y prolongan su vida de anaquel (Krochta y De Mulder-Johnston 1997). La diferencia entre las películas y recubrimientos consiste en que, en general, las películas son preformadas y los recubrimientos se forman directamente sobre los productos en los que se aplican (Bosques, 2000).

Bajo este contexto, el trabajo de investigación realizado tuvo como objetivo, determinar la influencia de la formulación del recubrimiento con una base estructural de quitosano, gel de sábila (*Aloe vera*) y dos plastificantes (glicerina, alcohol polivinilico), en el tratamiento para la conservación del limón sutil, aplicándolo en diferentes concentraciones para su impregnación. La importancia de este trabajo, radica en darle valor agregado en la postcosecha al limón sutil tumbesino, mediante la formulación y aplicación de un recubrimiento, con una base estructural de quitosano, y diferentes aditivos; los cuales pretenden que el limón sutil conserve sus propiedades extrínsecas e intrínsecas, como son (respiración, humedad, pH, acidez, vapor de agua, color, firmeza, olor). Con este procedimiento se genera una opción, tanto a los agricultores, comerciantes, consumidores, y el medio ambiente; en la búsqueda de nuevos mercados

ayudando e incentivando en la investigación de nuevos productos que estén directa e indirectamente relacionados con los alimentos.

RESUMEN

Se destaca el uso de recubrimientos, los cuales forman una barrera en la superficie del fruto que permite modular el intercambio de gases, vapor de agua y como agente anti-microbiano. La característica funcional más importante de una película es la resistencia contra la migración de humedad, por ello se deben de conservar los niveles críticos de actividad de agua para asegurar la calidad e integridad metabólica, controlar la maduración y senescencia.

El objetivo del presente trabajo es la formulación y aplicación de un recubrimiento compuesto por dos productos, uno a base de residuos del exoesqueleto del camarón, quitosano, comercial al 1 % como agente estructural y el otro es el gel de sábila (*Aloe vera*) como agente antifúngico de (10 y 15) % ambos, integrados en una formación hidrocoloidal compuesta; adicionando por separado, dos tipos de plastificante glicerina al (1 y 0.5)% y PVA al (1 y 0.5)%.

Se determinaron sus propiedades funcionales mediante la aplicación en vivo del recubrimiento en una línea de tratamiento; se evaluaron variables relacionadas con la calidad externa e interna de los frutos, se evaluó la actividad antifúngica mediante un estudio microbiológico, el cual se pudo realizar ya que se identificó el género de los hongos que proliferan en el limón, los cuales son *Cladosporium y Penicillium*. Estos hongos se encuentran impregnados en la superficie de la cascara de limón, lo cual hace que el contacto con el recubrimiento sea directo. La inhibición de estos hongos tuvo resultados positivos ya que los seis primeros de los nueve tratamientos fueron eficaces, para el *Cladosporium,* el cual tuvo problemas en su proliferación; en el caso del penicillium, no hubo efecto positivo utilizando los tratamientos.

Las propiedades físicas del recubrimiento se lograron determinar por la formación de un film, el cual permitió evaluar el espesor, la biodegradación, la humedad y la permeabilidad al vapor de agua.

Palabras clave: Quitosano, gel de sábila, glicerina, PVA, recubrimiento, capacidad antimicrobiana, humedad, gases, limón sutil.

ABSTRACT

The use of coatings, which form a barrier on the surface of the fruit that modulate the exchange of gases, water vapor and as an antimicrobial agent, is highlighted. The most important functional characteristic of a film is the resistance against moisture migration, which is why it must preserve the citric levels of water activity to ensure quality and metabolic integrity, control maturation and senescence.

The objective of the present work is the formulation of a coating composed of two products, one based on shrimp exoskeleton residues, chitosan, 1% commercial as a structural agent and the other is aloe vera gel as an antifungal agent Of (10 and 15) % both integrated in a composite hydrocolloid formation; Adding separately two types of plasticizer glycerin to (1 and 0.5)% and PVA to (1 and 0.5)%.

Their functional properties were determined by the live application of the coating in a treatment line; Were evaluated variables related to the external and internal quality of the fruits, the antifungal activity was evaluated by a microbiological study, which could be done since the genus of the fungi that proliferate in the lemon, which are *Cladosporium* and *Penicillium*. These fungi are impregnated on the surface of the lemon peel, which makes the contact with the coating is direct. The inhibition of these fungi had positive results since the first 6 of the 9 treatments were effective, for the Cladosporium, which had problems in its proliferation; In the case of penicillium, there was no positive effect using the treatments.

The physical properties of the coating were only determined by the formation of a film, which helped to evaluate the thickness, the biodegradation, the humidity and the permeability to water vapor.

Key words: Chitosan, aloe gel, glycerin, PVA, coating, antimicrobial capacity, moisture, gases.

CAPITULO II
MARCO TEORICO-CIENTÍFICO

2.1. Antecedentes

El recubrimiento con gel de sábila (*Aloe vera*) puede prolongar la frescura y la seguridad de las frutas y las verduras. (Pastor, 2009). El gel de sábila (*Aloe vera)* es conocido por su efecto terapéutico sobre la piel quemada o irritada, pero puede ser que en el futuro lo coma incorporado a las frutas y las verduras para hacerlas más saludables.

Los investigadores españoles dicen que han desarrollado un gel a partir de la planta tropical que puede usarse como recubrimiento comestible para prolongar la calidad y la seguridad de los productos frescos. Si bien se ha desarrollado una variedad de recubrimientos comestibles para preservar la frescura de los alimentos. Valero y sus acompañantes sumergieron un grupo de uvas comunes de mesa (negras sin semilla) en el gel de (*Aloe vera*) y las almacenaron durante cinco semanas a bajas temperaturas, e hicieron lo mismo con un grupo de uvas sin tratar. Las uvas sin tratar se deterioraron rápidamente, aproximadamente a los 7 días, mientras que las uvas recubiertas con gel se conservaron bien hasta durante 35 días en las mismas condiciones experimentales, las uvas tratadas con gel estaban más firmes, perdieron menos peso y su color cambió menos que el de las uvas que no recibieron el tratamiento. De acuerdo a otros estudios realizados el gel de (*Aloe vera*) parece contener diversos antibióticos y compuestos antimicóticos que podrían demorar o inhibir a los microorganismos responsables de enfermedades humanas transmitidas por alimentos, así como evitar que estos se echen a perder. Aunque en este estudio no se midieron directamente los efectos del consumo humano del gel de sábila en la salud, se cree que el recubrimiento es seguro, dicen los investigadores. Observan que el gel de (*Aloe vera*) se utiliza como ingrediente funcional en algunos alimentos y en algunas bebidas desde hace años. Además de conservar las uvas de mesa, que son muy

perecederas, explican que es posible aplicar el gel a otras frutas y verduras. Se prevee la realización de más pruebas del gel en otros tipos de productos.

El gel de sábila (*Aloe vera*) también ofrece beneficios para el medio ambiente, puede proporcionar una alternativa más ecológica al uso de dióxido de azufre y otros conservantes sintéticos de alimentos comúnmente utilizados.

Hernández y otros (2015), en su trabajo de; elaboración de películas utilizando quitosano y aceite esencial de limón, evaluaron el uso de estos recubrimientos, para prolongar la vida en anaquel. El objetivo del trabajo fue obtener una película comestible a base de aceite esencial de limón y quitosano. Se preparó una solución acuosa de quitosano y ácido cítrico al 2% (p/v), se agregó aceite esencial de limón al 2.5, 2 y 1% (v/v), se analizó la apariencia física a 75% HR observando homogeneidad, elasticidad, flexibilidad y presencia de daños físicos. Se elaboraron isotermas de adsorción, la permeabilidad se determinó a temperatura ambiente en gradientes de HR de 97-86%, 97-63%, y 86-33%. Los resultados mostraron que la mejor película fue la del 1% mostrando una apariencia lisa, ligeramente opaca, flexible, maleable, elástica, suave y olor característico. La permeabilidad al vapor de agua a 97-86% de HR a temperatura ambiente, ofreció mayor resistencia a la película que el gradiente 86-33%, ya que dependió del grado de su hidratación.

Restrepo y Aristizábal (2010). Desarrollaron un estudio de investigación para la; conservación de fresa (*Fragaria ananassa Duch cv. Camarosa*) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis Miller*) y cera de carnauba. Cuyo objetivo fue aumentar la vida útil de la fresa (*Fragaria x ananassa Duch cv. Camarosa*), mediante la aplicación de dos recubrimientos comestibles desarrollados a partir del gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis Miller*) y cera de carnaúba. A partir de los resultados obtenidos se concluyó que el recubrimiento comestible de gel mucilaginoso de penca sábila condujo a un aumento en la vida útil de las fresas de por lo menos

10 días, con disminución de la pérdida de humedad, del índice de respiración, y conservación de la firmeza, sin ocasionar cambios perceptibles en el color, en comparación con los frutos utilizados como tratamiento control.

Adetunji y otros (2014). Investigaron el efecto del recubrimiento de quitosano combinado con gel de *Aloe vera* en la calidad postcosecha del Pepino, durante el almacenamiento a ambiente. Los recubrimientos comestibles a base de quitosán (CH), *Aloe vera* gel (AL) y su combinación con el gel de *Aloe vera* (CHAL) fueron desarrollados y aplicados a pepino con el fin de mejorar su calidad y tiempo de conservación durante el almacenamiento. La pérdida de peso, cambios en el contenido de sólidos solubles, contenido de ácido ascórbico, firmeza, pH y el porcentaje de ataque fúngico de las muestras con y sin revestimiento se determinaron la firmeza, pH y el porcentaje de ataque fúngico de no recubierto y se determinaron muestras revestidas 7 semanas a temperatura ambiente de 25 ° C 95 a 98% de HR durante siete semanas. Sin embargo, los parámetros anteriores que están relacionados con post- pérdida de calidad de la cosecha se controlaron de manera significativa en el pepino recubierto en el siguiente orden CHAL> AL> CH> Control. La capacidad de almacenamiento de frutos de pepino se extendió por siete semanas. Se concluyó que utiliza quitosano se mezcla con gel de Aloe vera podría ser utilizado como un recubrimiento para pepino podría servir como alternativa a la post-cosecha tratamientos químicos.

Pérez (2015) en su tesis Conservación de Mango Tommy Atkins Mínimamente Procesado Mediante un Recubrimiento Comestible de sabila (*Aloe Barbadensis Miller*) manifiesta que la investigación tuvo como objetivo conservar y prolongar la vida útil de mango Tommy Atkins mínimamente procesado con la aplicación de un recubrimiento comestible de *Aloe vera*, evaluando su efectividad mediante el análisis de parámetros físicos, fisicoquímicos, respiratorios, microbiológicos y sensoriales durante almacenamiento refrigerado. El recubrimiento comestible fue preparado con gel mucilaginoso de *Aloe vera* al %50 P/P en dilución con agua

destilada y homogenizado con cera carnauba como agente lipídico y glicerol como plastificante, para luego ser aplicado por inmersión y secado en estufa de aire forzado. Se evaluaron cuatro tratamientos experimentales: tratamiento C (control), en el cual se utilizaron mangos sumergidos en agua destilada, el tratamiento R, mangos con aplicación del recubrimiento formulado, el tratamiento PreREC, mangos con aplicación del mismo recubrimiento con previa inmersión en una solución de ácidos orgánicos y el tratamiento CA (Control ácidos), muestras de mango con solo inmersión en la solución de ácidos. En general, las muestras tratadas con el recubrimiento comestible mostraron un retraso en la pérdida de la firmeza, menores cambios de color (ΔE), una menor pérdida de peso, un aumento menos acelerado del pH y los grados °Brix y un mantenimiento de valores más elevados de acidez con respecto a los tratamientos control. En cuanto a los parámetros respiratorios, se lograron tasas bajas de consumo de O_2 y una producción controlada de CO_2 en comparación a las muestras sin tratar. A nivel microbiológico, el recubrimiento no aportó un efecto en la disminución del crecimiento de mesófilos, mohos y levaduras; mientras que sensorialmente, descriptores como la firmeza, olor y sabor característico, apariencia y calidad general mostraron una mayor calificación por parte de los jueces entrenados, demostrando que el recubrimiento permite conservar por 3 días más las muestras de mango mínimamente procesado respecto a los tratamientos de control.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Aspectos Generales

Desde hace varios siglos, el uso de los recubrimientos ha sido implementado con el fin de mejorar la apariencia y la conservación de la vida de anaquel de los alimentos (Embuscado & Huber, 2009). Para los chinos, en los siglos XII y XIII, las ceras se convirtieron en un recubrimiento ideal para mejorar y preservar la calidad de los frutos, así como lo fueron en su momento las grasas alrededor del siglo XVI para los ingleses, las cuales fueron utilizadas como técnica para prevenir la pérdida de humedad y el ablandamiento en los alimentos. Llegado el siglo XX, las investigaciones fueron especializándose, reportando estudios en donde se recomienda el uso de diferentes matrices formadoras de recubrimiento tal como las proteínas, los lípidos y los polisacáridos o la mezcla entre ellos, con el fin de crear una técnica emergente que mejore la calidad de los alimentos ya sean frescos o con procesamiento mínimo (Kester & Fennema, 1986).

2.2.2. Quitosano

En la actualidad se reportan innumerables estudios relacionados con el quitosano (Marguerite Rinaudo 2006) (C.K.S Pillai. *et al*, 2009) (F.M. Goycoolea. *et al,* 2000) (Aslak Einbu 2007) (Ruth E. Harris 2010), ellos exponen sus propiedades químicas, métodos de caracterización y aplicaciones en diferentes ámbitos científicos e industriales, estos documentos vislumbran un potencial enorme de modernos desarrollos que pueden traducirse en una serie de oportunidades en innovación y nuevos negocios. Un estudio realizado por Global Industry Analyst Incorporated en el año 2010, estima que el mercado global de derivados de la quitina alcance los U$ 63 millardos de dólares en el 2015, mientras que el del quitosano llegara a U$ 21.4 millardos ese mismo año.

2.2.2.1. Características del quitosano

El quitosano al ser el derivado N-desacetilado de la quitina, es una amina primaria, y su monómero principal es el 2-amino-2-desoxi-β- D-Glucopiranosa. El contenido de nitrógeno del quitosano puro es aproximadamente del 6,89%, el grupo amino libre en la estructura del quitosano le proporciona un comportamiento marcadamente básico, además le confiere ciertas características fisicoquímicas de gran interés industrial (Majeti N.V., Ravi Kumar 2000).

Este biopolímero adquiere el nombre de quitosano cuando el grado de desacetilación de la quitina es mayor o igual al 50% y quitano cuando es del 100% (Cristóbal Lárez 2006), sus grupos amino permiten que se solubilice fácilmente en medios ácidos, confiriéndole una innumerable cantidad de aplicaciones.

Su estructura química se muestra.

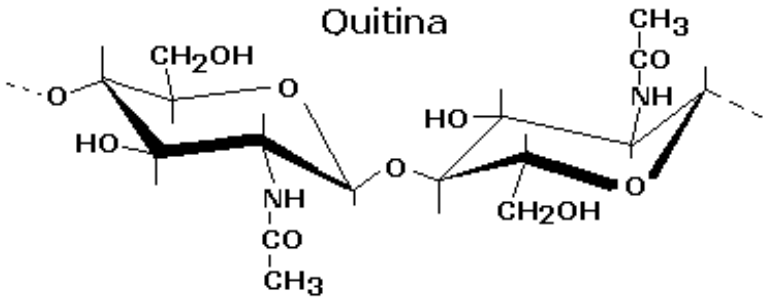


Figura N° 01. Unidad repetitiva de la quitina.
Fuente: Lárez, 2003.

La desacetilación completa de la quitina produce un material totalmente soluble en medio ácido conocido como quitano; sin embargo, cuando la desacetilación del material de partida es incompleta se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades ß(1-

4)2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y ß(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción y que, obviamente, genera materiales con distintas propiedades denominados quitosanos (Lárez, 2003).

Las películas o los recubrimientos comestibles pueden cumplir muchos de los requisitos involucrados en la comercialización de alimentos entre los que destacan el valor nutricional, la sanidad, alta calidad, estabilidad y economía, al realizar una o más de las funciones indicadas en el esquema.

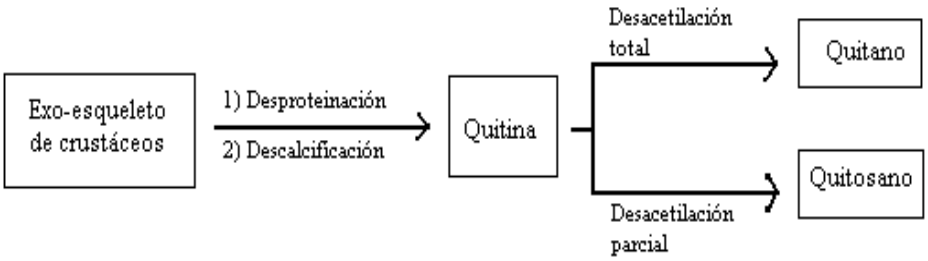


Figura N° 02. Elemental para la producción de los derivados de la quitina Fuente: Lárez, 2003.

La diferencia en las propiedades de estos materiales puede llegar a ser notable, como por ejemplo la distinta solubilidad en medio acuoso (Lárez, 2003). Se muestran en la siguiente figura.

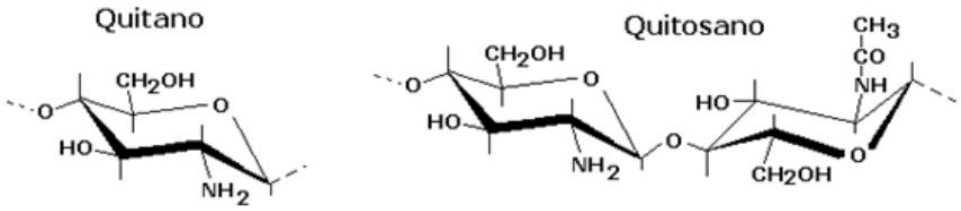


Figura N°03. Estructuras químicas del quitano y el quitosano
Fuente: Lárez, 2003.

El quitosano es un polisacárido lineal que consiste en ß (1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa, es un derivado desacetilado de la quitina que es el segundo polisacárido más abundante que se encuentra en la naturaleza después de la celulosa. El quitosano es biodegradable, biofuncional, biocompatible y no tóxico además de tener características antimicrobianas (Dutta *et al*., 2009). Otra de las propiedades de acuerdo a Barra *et al*., (2012) son su adhesividad, capacidad filmogénica, hemostática, promotora de absorción, anticolesterolémica y antioxidante. Se produce como el componente de la cubierta de crustáceos (cangrejos y camarones), ya que es la sustancia del esqueleto de los invertebrados, y el componente de la pared celular de los hongos y los insectos (Lin y Zhao, 2007). El quitosano es un polisacárido útil en numerosas aplicaciones (Barra *et al.,* 2012).

2.2.2.2. Propiedades del Quitosano.

2.2.2.2.1. Propiedades biológicas

Su bioactividad incluye la estimulación en procesos de cicatrización, actividad hemostática, actividad inmune, muco adhesión, actividad antimicrobiana, bacteriostática y fungistática. Los oligómeros de quitina y quitosano presentan funciones fisiológicas como la inducción de fitoalexinas, actividad antimicrobiana y actividad inmune, ya que algunos

son solubles en agua y fácilmente pueden ser inyectados intravenosamente (Degim *et al.*, 2002).

El quitosano es un polímero prometedor en la liberación génica, preparación de cultivos celulares y en la ingeniería de tejidos. La quitina y el quitosano exponen la actividad hipolipidémica, como se ha confirmado mediante la reducción de niveles de colesterol y de triglicéridos en la sangre e hígado de ratas (Nishimura, 2001).

La capacidad antimicrobiana del quitosano, es útil en la medicina, la agricultura y en conservación de alimentos. Se ha demostrado que inhibe el crecimiento de bacterias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis,* y *Staphylococcus aureus,* y hongos como: *Botrytis cinerea, Fusarium oxysporum, Drechtera sorokiana, Micronectriella nivallis, Piricularia orizae, Rhizoctonia solana, Trichophyton equinum* (Plascencia *et al.*, 2003).
La acción antimicrobiana está influenciada por factores intrínsecos como el tipo de quitosano, el grado de despolimerización, el hospedero, la composición nutritiva y química del sustrato, pH del medio de cultivo, condiciones ambientales y la presencia o ausencia de sustancias que interfieran como lípidos y/o proteínas (Pacheco, 2010).

La manera exacta en la que el quitosano y sus derivados actúan es todavía desconocida, aun así, varios mecanismos han sido propuestos, por ejemplo, la interacción entre la carga positiva de las moléculas de quitosano y las cargas negativas de las membranas celulares alterando su permeabilidad y permitiendo la pérdida de constituyentes intracelulares (Rabea *et al.*, 2003).

El uso del quitosano en actividades agrícolas es mucho más reciente pero, a pesar de ello, puede considerarse hoy en día abundante y en aumento. El cuadro muestra algunas de las aplicaciones que se han ensayado para este biopolímero en actividades relacionadas con la agricultura.

Uso	Bipolímero	Propiedades aprovechadas	Referencias	Cultivo
Películas para recubrimiento de frutos, hojas, semillas y vegetales frescos	Quitosano	Antimicrobiana	Galed *et al*., (2004), Srinivasa *et al*., (2004), Ratanachinakorn *et al*., (2005) Hewajulige *et al*., (2007), Devlieghere *et al*., (2004)	Cítricos, mango, toronja, lechosa (papaya), fresa, tomate
Clarificación de jugos de fruta	Quitosano	Coagulante-Floculante	Chatterjee *et al*., (2004), Boguslawski *et al*., (1990), Root y Johnson, (1978), Hongfei y Hesheng, (2003)	Pera, toronja, limón, manzana
Protección de plántulas	Quitosano	Fungicida	Barka *et al*., (2004); Lafontaine y Benhamou, (1996)	Uva de vino, tomate
Liberación controlada de agroquímicos	Quitina y quitosano	Formación de hidrogeles, labilidad de derivados	Mc Cormick *et al*., (1982), Teixeira *et al*., (1990), Hirano, (1978), Palma *et al*., (2005)	Arándano
Estimulación del crecimiento	Quitosano	Bioestimulante	Nge *et al*., (2006)	Orquídea
Inhibidor del oscurecimiento de frutos y tubérculos	Quitosano	Biocida	Waliszewski *et al*., (2002)	Banana, papa
Biocidas	Quitosano	Antimicrobiana	Liu *et al*., (2007), Hadwiger y McBride, (2006), Bautista-Baños *et al*., (2006)	Tomate, papa, hortalizas
Corrección de sustratos de crecimiento	Quitina y quitosano	Fungicida, nematicida	Sneh y Henis, (1972), Abd-El-Kareem, (2002), Abd-El-Kareem *et al*., (2002), Abd-El-Kareem *et al*., (2004), Abd-El-Kareem *et al*., (2006)	Lupino blanco (altramuz), guisante, tomate, papa, apio
Inductor de mecanismos de defensa	Oligómeros de quitina y quitosano	Inductor de resistencia	Khan *et al*., (2003)	Soya

Figura N° 04. Algunas de las aplicaciones de la quitina y el quitosano en actividades relacionadas con la agricultura

Fuente: Revista UDO Agrícola 8 (1): 1-22. 2008

2.2.3. Gel de sábila (*Aloe vera*)

Del gel de sábila (*Aloe vera*), una planta de origen de africano, se puede extraer un mucilago que representa el 70-80 % en peso de la planta. Este mucilago, que también es conocido como cristal o gel de *Aloe vera*, es una sustancia gelatinosa, transparente, libre de olores y sabores. En su composición predominan polisacáridos denominados polimánanos (cadenas lineales de glucosa y manosa) de los cuales se desprenden diferentes actividades biológicas potenciales, siendo además los encargados de la formación del sistema coloidal del tejido de la pulpa y de su viscosidad (Ni *et al.,* 2004; Boudreau & Beland, 2006).

Los recubrimientos comestibles funcionan como capa protectora en la superficie del producto. Estas actúan como barrera contra las condiciones ambientales adversas, de manera que evitan el intercambio de gases, ganancia o pérdida de humedad, cambios químicos adversos, que afectan las propiedades organolépticas, valor nutricional, y la estabilidad microbiológica (Debeaufort, 1998). En el caso de los recubrimientos a base de formulaciones de compuestos como polisacáridos, hidrocoloides usados como barreras contra el oxígeno y dióxido de carbono, aportan propiedades mecánicas que mejoran la integridad estructural en productos frágiles (Hernández, 2009).

Es aplicable el uso de recubrimientos a base del gel de Aloe vera, rico en mucílagos, fuente de polisacáridos que comprenden ácidos galacturónicos, glucorónicos y unidos a azúcares como glucosa, galactosa y arabinosa; y compuestos fenólicos de gran poder antioxidante (Vega *et al.,* 2005). Es así, que se han encontrado estudios en que el gel de Aloe vera puede generar entre cuatro y dos reducciones logarítmicas en el crecimiento de mohos como Botritys cinérea (principal hongo infectante de la fresa) en concentraciones del gel a 250 mL/L (Saks y Barkai - Golan, 1995). De igual manera, el Alginato, polisacárido lineal de unidades 1,4β-D-manuronato (M) y 1,4α-L-guluronato (L), puede formar hidrogeles a partir del entrecruzamiento de las cadenas en

presencia de iones polivalentes como el calcio formando una red de polímero (Lencina *et al*., 2012). En muchas investigaciones se han formulado estos tipos de geles junto a otros compuestos, buscando las proporciones más efectivas para la formación de recubrimientos comestibles y así, extender la vida anaquel de los productos. Según Restrepo y Aritzábal (2010), el uso de cera de carnaúba y mucílago de Aloe vera como recubrimiento comestible en fresa, bajo temperatura de 5 °C ± 0.5 °C y 75% ± 0.5% de humedad relativa durante 10 días, mostró un efecto favorable frente a las pérdidas de humedad de siete y diez días, y un significativo mantenimiento de la firmeza del fruto hasta los 10 días.

En el ámbito de conservación, investigaciones recientes han demostrado que el *Aloe vera* puede prolongar la vida útil y mantener los atributos de calidad de los frutos cuando se utiliza como recubrimiento (Rojas-Graü, 2006).

2.2.4. Plastificantes

Ciertos componentes se adicionan en menores cantidades a las formulaciones de los recubrimientos para modificar las propiedades mecánicas; a estos compuestos se les clasifica como plastificantes o emulsificantes (Bósquez, 2008).

El tipo de plastificante y su concentración influencia el espesor de la película, densidad, contenido de humedad, solubilidad, la capacidad de hinchamiento y la absorción de agua (Sanyang *et al*., 2015a); mejora significativamente las propiedades de la película (Sanyang *et al*., 2016a). Cuando se adiciona el plastificante, se restablecen nuevas interacciones moleculares entre este y las cadenas poliméricas lo cual genera mayor movilidad y facilidad de vibración de los grupos hidroxilo (Arrieta y Palencia, 2016).

Los plastificantes son sustancias de bajo peso molecular que son incorporadas dentro de la matriz polimérica (proteína o polisacárido) para incrementar la flexibilidad de la cubierta, mejorando la dureza y funcionamiento, disminuyendo la formación de escamas y grietas. A nivel molecular, estos compuestos incrementan la fracción volumen o movilidad molecular de polímeros, debilitan las fuerzas intermoleculares entre las cadenas adyacentes del polímero, disminuyendo la fuerza tensora e incrementando simultáneamente la flexibilidad de la película (Sothornvit y Krotcha, 2000).

En la industria de los alimentos los plastificantes que se utilizan son:

- ✓ Monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos (glucosa, jarabes de fructosa o glucosa, miel).
- ✓ Polioles (sorbitol, glicerol, polietilénglicoles y los derivados del glicerol).
- ✓ Lípidos y derivados (ácidos grasos, monoacilgliceroles, derivados éster, fosfolípidos y surfactantes).

Los plastificantes se utilizan porque ayudan a modificar las propiedades del producto final. En el caso de las películas de almidón, el plastificante disminuye la fragilidad y mejora la flexibilidad de estas. Existen varios plastificantes utilizados en la obtención de películas de almidón pero el más utilizado es el glicerol (López *et al.,* 2008). En cuanto a los plastificantes; el glicerol y el sorbitol son los más ampliamente estudiados. Según Ozdemir y Floros (2009), la adición de sorbitol a una película comestible aumenta su porcentaje de elongación (Brandao y Peña, 2012).

Adicionalmente, el uso de un agente plastificante mejora en gran medida la flexibilidad y elasticidad de películas comestibles (Dutta *et al*., 2009). En términos estructurales, los plastificantes son insertados en la matriz polimérica, incrementando el espacio libre entre las cadenas y provocando una disminución de las fuerzas intermoleculares a lo largo de la matriz (Aguilar *et al*., 2012).

Sin embargo, se ha observado que se requiere de aplicaciones pequeñas para que sus atributos de calidad no se vean afectados (Min y Krochta, 2005).

2.2.4.1. Glicerina

La glicerina es un líquido viscoso incoloro, inodoro, higroscópico y dulce. Los términos glicerina o glicerol son utilizados indistintamente para referirse al compuesto; sin embargo, el nombre oficial IUPAC es propan-1, 2, 3-triol. Es una estructura simple que está formada por una molécula de propano al que se unen por enlaces lipídicos tres grupos hidroxilos (OH^-); los cuales son los responsables de su solubilidad en el agua.

Es higroscópico (absorbe agua del aire); se funde a 17.8°C, su punto de ebullición con descomposición es a 290°C, y es miscible con agua y etanol. La glicerina puede ser quemada, sin embargo, su combustión debe ser realizada a temperaturas mayores a su punto de ebullición, de lo contrario puede emitir gases tóxicos (acrolina), los cuales se forman entre los 200 y 300°C. (Carballo y Martínez, 2010).

2.2.4.2. Alcohol polivinilico (PVA)

El alcohol de polivinilo (PVOH, PVA, o PVal), también llamado polietenol o poli (alcohol vinílico), es un polímero sintético soluble en agua, de fórmula química general $(C_2H_4O)_n$.

El alcohol polivinílico es un polímero hidrosoluble, contiene diferentes residuos de grupos acetatos lo que explica su viscosidad, tiene excelentes propiedades para formar películas, como emulsionante y como adhesivo. También es resistente al aceite, las grasas y los disolventes apolares. Es inodoro y no tóxico. Tiene una alta resistencia y flexibilidad, así como una alta propiedad de barrera para el oxígeno y

los aromas. Sin embargo, estas propiedades dependen de la humedad, es decir, con mayor humedad más agua es absorbida. El agua, que actúa como un plastificante, a su vez reducirá su resistencia a la tracción, pero aumenta su elongación y resistencia al desgarro. El PVOH es totalmente degradable y se disuelve rápidamente. (Álvarez, 2016).

2.2.5. Características del limón sutil (*Citricus aurantifolia*)

El limón es unos de los productos, que no llama atención particularmente pero su consumo es regular y de mucha frecuencia especialmente en los hogares peruanos. Este fruto presenta una serie de características que en su totalidad conforman el balance adecuado para lograr cubrir las expectativas de los consumidores adoptando de esta forma que sea único en su especie y categoría.

Si bien en algunos países, el limón posee cierto grado de dulzura ello depende también de la cantidad de carbohidratos que contenga y de la técnica que se emplee al sembrar, es por ello que la diferencia del limón que se producen en este lado del Hemisferio Sur (Perú) tienen predominancia en los ácidos envés que en los azúcares, he ahí el porqué de ese sabor tan especial que lo caracteriza.

El limón está compuesto de 3 partes, el flavedo o exocarpio, albedo o mesocarpio y endocarpio:

- ✓ El flavedo es una capa delgada que posee los pigmentos que cambian de color durante la maduración de verde a amarillo, de gran aroma debido a los compuestos terpénicos que componen los aceites esenciales que allí se encuentran.

- ✓ El albedo es la parte blanca que contiene pectinas que le confieren firmeza a la corteza. A medida que el fruto va madurando el albedo tiende a degradarse por acción enzimática, debido a esto cosechan los cítricos en estado inmaduro (verde) para obtener el mayor rendimiento y calidad de pectina.

El endocarpio está formado por la pulpa que contiene las vesículas con el jugo. El endocarpio se encuentra dividido por el septum formando de 10-14 gajos en ellos se encuentran las semillas, 10 aproximadamente por limón ubicadas alrededor del eje central

Figura Nº 05. Partes del limón (*Citrus aurantifolia*)
Fuente: (Grunauer Espinoza, 2009)

En la siguiente tabla se muestra los valores nutritivos del limón, en una muestra de 100 g. (AMPEX).

Tabla Nº 01: Valor Nutritivo del Limón

Valores Nutritivos del Limón (100 g)	
Calorías	6 g
Carbohidratos	0.6 g
Potasio	96 mg
Sodio	1 mg.
Vitamina A	< 2 g
Vitamina C	34 mg
Ácido Fólico	6 mg.
Calcio	2 %
Hierro	2 %

Fuente: AMPEX, Perfil de Mercado de Limón, 2008

2.2.6. Formulación de los recubrimientos

2.2.6.1. Recubrimientos en frutas y hortalizas

Los recubrimientos son matrices continuas formuladas a base de lípidos, proteínas o carbohidratos o mezclas de estos componentes, que les confieren diferentes propiedades fisicoquímicas.

El creciente interés de los consumidores hacia productos sanos y naturales ha orientado las investigaciones en el campo de los recubrimientos hacia el desarrollo de nuevos recubrimientos formulados a partir de compuestos naturales, seguros desde el punto de vista alimentario, apareciendo lo que se denominan ‘recubrimientos comestibles’. La expansión de los recubrimientos comestibles en cítricos va precedida de un aumento de su aplicación en otros frutos

que se consumen con piel. Sin embargo, el futuro desarrollo de recubrimientos comestibles que eviten el uso de ceras sintéticas como el polietileno, o el uso de amoniaco, resulta un aspecto muy importante frente a las nuevas tendencias del mercado.

2.2.6.2. Consideraciones importantes en la elaboración de recubrimientos emulsificados

Recubrimientos comestibles también conocidos como edible coatings, se pueden definir como una matriz continua delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución que contiene el producto comestible (Ramos-García *et al*., 2010), creando una barrera semipermeable a gases (O_2y CO_2) y vapor de agua. Mejoran las propiedades de conservación del fruto, reteniendo compuestos volátiles, además que pueden llevar aditivos alimentarios como agentes antimicrobianos, antioxidantes, etc. que permitan retardar el pardeamiento enzimático, escaldado superficial, perdida de textura, entre otras. La solución formadora del recubrimiento pueden estar conformadas por un polisacáridos, de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos (Krotcha *et al*., 1994), además también puede tener mezclas con ceras naturales, un biopolímero utilizado para la formulación de este tipo de recubrimientos por sus propiedades fisicoquímicas particulares es el quitosano, el cual reduce el crecimiento de hongos y bacterias A diferencia de las ceras sintéticas no requieren equipos de alta gamma para su elaboración, de hecho a escala laboratorio pueden ser fabricadas. Se clasifican en hidrocoloides, lípidos y composites (mezclas de los dos mencionados).

Teniendo en cuenta la información anterior al respecto de las características generales de las diferentes sustancias empleadas en el recubrimiento para mantener la calidad del fruto, la mejora de su apariencia, la prolongación de su vida en anaquel y la regulación de procesos fisiológicos (Baez *et al*., 2000), cabe resaltar en este momento los recubrimientos y ceras usadas como aditivos alimentarios para recubrimiento de frutos en la industria, según código europeo E.

Los estudios dirigidos a recubrimientos comestibles son relativamente recientes, desde la década del 90 y no han sido definitivos por lo que no cuentan con código, sea E, INS (International Number System) o SIN (Sistema Internacional Numérico).

El uso de recubrimientos está regulado por entidades oficiales en los diferentes países donde son utilizados. En EE.UU., la agencia encargada es la FDA (Food and Drug Administration), en Japón es el Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social y en la UE, cada país tiene sus normativas juntamente con las dadas en el CODEX (FAO). En Perú no hay un hay un ente y por tanto no existen normativas gubernamentales para el uso de este tipo de aditivos alimentarios.

En la actualidad, los retos que asumen las nuevas formulaciones de recubrimiento se centran en lograr la conservación de los atributos de calidad y el retraso de la maduración de los frutos a través del tiempo de almacenamiento, los cuales se evalúan con parámetros como el color, la textura, los sólidos solubles, el pH y los descriptores sensoriales como el sabor, el aroma y la apariencia general (González-Aguilar *et al.,* 2005; Valverde *et al.,* 2005; Rojas-Graü, 2006; Lin & Zhao, 2007; Embuscado & Huber, 2009; Pérez & Ibargüen, 2012; Ramírez, 2012).

Para su elaboración, los recubrimientos se pueden formular combinando diferentes proporciones de lípidos, hidrocoloides, aditivos (emulsificantes, plastificantes, surfactantes) o agentes antimicrobianos, cuyo objetivo es aprovechar las ventajas de cada constituyente y la sinergia entre ellos (Falguera *et al.,* 2011). Además, los recubrimientos no deben otorgar colores, olores o sabores diferentes al alimento, deben ser seguros para la salud del consumidor, y a nivel económico deben ser de elaboración simple y de bajos costos de producción (Kester & Fennema, 1986; Godoy, 2006; Rojas-Graü, 2006; Embuscado & Huber, 2009).

2.2.6.2.1. Estructurales

Los biopolímeros naturales de alto peso molecular son los responsables de proporcionar una matriz macromolecular con resistencia cohesiva la que a su vez depende de la estructura química del polímero, masa molecular, geometría y distribución espacial de sus grupos funcionales. Los tipos de macromoléculas que se emplean para este propósito son hidrocoloides (proteínas, polisacáridos), los cuales debido a su naturaleza hidrofílica, son muy sensibles al agua. La función del hidrocoloide en las emulsiones es la de formar una cadena o red en donde puedan estar dispersas las moléculas hidrofóbicas (Bósquez, 2008).

2.2.6.2.2. Fracción Volumétrica de la Fase dispersa

La concentración de las gotas o partículas en una emulsión está dada por la fracción volumétrica de la fase dispersa (f), que equivale al cociente del volumen de las gotas de la emulsión (VD) entre el volumen total de la emulsión (VE). El conocimiento del valor de f es muy importante ya que la concentración de las gotas o partículas tiene una influencia determinante en la apariencia, textura, estabilidad y costos de los productos elaborados por emulsificación (Bósquez, 2008).

2.2.6.2.3. Distribuidor de tamaño de partícula

En las películas y recubrimientos obtenidos por emulsificación, la transferencia de masa ocurre a través de la matriz estructural; la cual constituye la fase continua en la emulsión, así que el material permeante (gases o vapor de agua) seguirá una trayectoria que estará determinada por el tamaño y la forma en que se encuentren dispersas las partículas hidrofóbicas en el sistema. Los tamaños pequeños de partícula de fase dispersa disminuyen considerablemente la

permeabilidad al vapor de agua en películas emulsificadas, al aumentar el área interfacial del agente hidrofóbico en la estructura laminar.

2.2.6.2.4. Mecanismo de difusión en la película

La permeabilidad se define como la resistencia al flujo de un penetrante o permeante a través de un recubrimiento o película impulsado por un gradiente de presión o concentración (Miller y Krocha, 1997). El transporte del permeante (vapor de agua o gas) puede ocurrir por dos mecanismos:

- **Difusión activada**: Ocurre en ausencia de fracturas, poros u otras imperfecciones de la superficie del recubrimiento o película, e involucra en parte, la solubilización del penetrante en la matriz de la película (de lado de mayor concentración o presión); la difusión a través de toda la película es impulsada por el gradiente de concentración o presión y, finalmente, su liberación (evaporación) en el lado opuesto de la película

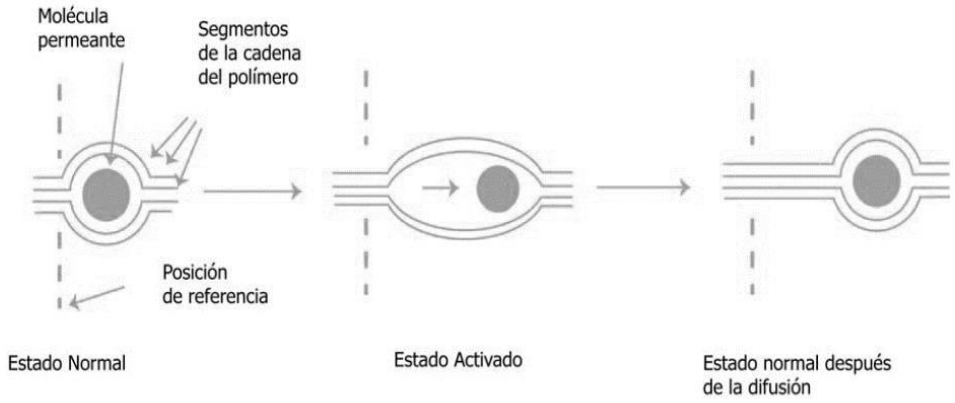


Figura N° 06. El proceso de difusión activada
Fuente: Bósquez, 2008.

- **Difusión capilar**

  Domina en materiales que son porosos o que tienen imperfecciones como canales o fisuras. En este caso se considera que no existe interacción entre la barrera y el agente penetrante, y por consiguiente el paso de las sustancias es libre (Miller y Krocha, 1997).

2.2.6.2.5. Influencias estructurales en polímeros

Las propiedades de transporte de masas de una película son a menudo descritas por tres coeficientes comunes.

- **Difusión:** Es la tasa de movimiento de una molécula permeable a través de la matriz del polímero, por ejemplo, el tamaño de la molécula permeable y la estructura de la matriz de polímero.

- **Solubilidad**: es el coeficiente de reparto de una molécula permeante entre la superficie del polímero y el espacio que lo rodea.

- **Permeabilidad:** Es la tasa de transporte de una molécula permeante a través de un polímero, como resultado de los efectos combinados de difusión y solubilidad. Los factores que afectan a la estructura de un polímero tienen un efecto directo sobre la movilidad segmentaria y, por lo tanto, influyen en sus propiedades particularmente en el transporte de masas.

Varias propiedades de los polímeros que influyen en la permeabilidad: estructura química, el método de preparación del polímero, condiciones de procesamiento del polímero, cristalinidad del volumen libre, polaridad, tacticidad, reticulación e injerto, la orientación, presencia de aditivos, y el uso de mezclas de polímeros. (Miller y Krocha, 1997).

Los investigadores han demostrado que un aumento de la cristalinidad, densidad, orientación, peso molecular o reticulación, reducen la permeabilidad del polímero (Miller y Krocha, 1997).

Las características necesarias de la barrera de un polímero incluyen: un cierto grado de polaridad, alta rigidez de la cadena, inercia a permeantes, alto embalaje, reticulación intermolecular y una temperatura de transición vítrea elevada. Los efectos de las propiedades de los polímeros mencionados anteriormente en el transporte de masas se han definido principalmente en términos de oxígeno y de transporte a la humedad.

La diversidad de compuestos aromáticos ha complicado la investigación de la mayoría de las interacciones múltiples polímero-permeables y de los efectos asociados sobre la permeabilidad del aroma (Miller y Krochta, 1997).

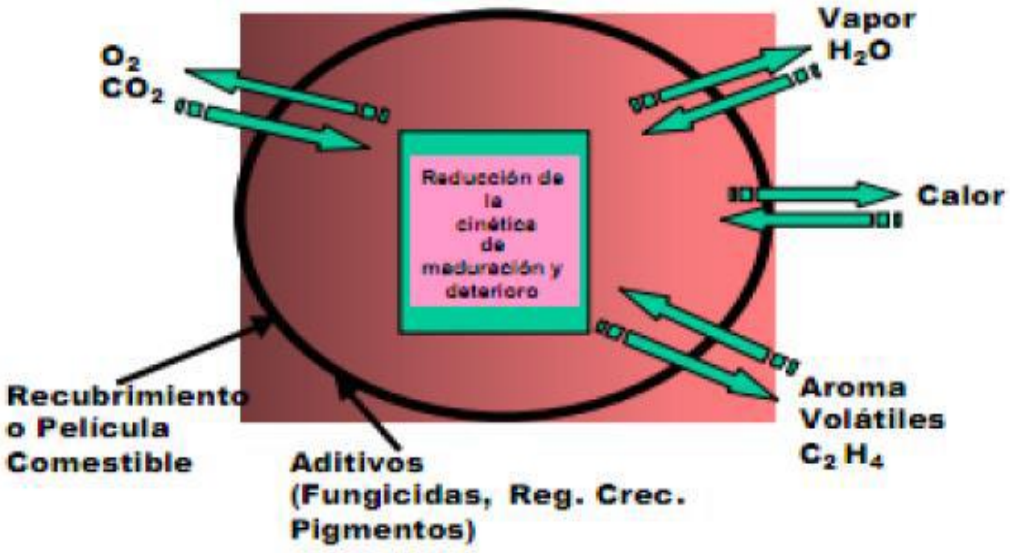


Figura N° 07. Funciones selectivas y activas de películas y recubrimientos
Fuente: Carrera, 2011.

2.2.6.2.6. Propiedades de transporte de masas en películas y recubrimientos

El coeficiente de difusión describe el movimiento de las moléculas de permeante a través de un polímero, y por lo tanto representa una propiedad cinética del sistema polímero-permeante.

Una combinación de la Ley de Fick de difusión y la Ley de Henry de solubilidad son empleados para expresar la permeabilidad en estado estable a través de una barrera no porosa o con imperfecciones no significativas. La primera Ley de Fick establece que el flujo permeado, J, es dependiente del coeficiente de Difusión D, de la diferencia de concentraciones dc, en la película y la diferencia del espesor (dx), esto se puede expresar mediante la ecuación.

$$J=-Ddc/dx \qquad \ldots\ldots (1)$$

El signo negativo indica que la migración ocurre en dirección de la menor concentración. La ley de la solubilidad de Henry indica que la concentración, C**,** del permeado en la película es igual al producto del coeficiente de solubilidad, S, y la presión parcial del permeado en el aire adyacente, P. Ecuación 2.

$$C=SP \qquad \ldots\ldots (2)$$

La combinación de la Ley de Fick con la Ley de Henry queda de la siguiente manera:

$$J=-DSdPdx \qquad \ldots\ldots (3)$$

Donde dP es la diferencia de las presiones parciales a través de la película y Ds es la permeabilidad, por lo que la ecuación 3. Podría quedar de la siguiente manera:

$$PERMEABILIDAD = DS = -JdxdP \quad \ldots\ldots (4)$$

Experimentalmente la permeabilidad puede determinarse mediante la ecuación 5:

$$PERMEABILIDAD\ (P) = w * x / A * t * (P_1 - P_2) \quad \ldots\ldots (5)$$

Dónde:

w: Masa de permeante (g.)

x: Es el espesor (mm)

t: Tiempo (seg)

A: Área expuesta (m_2)

$(P_1 - P_2)$: Diferencia de presión parcial (Pa)

2.2.6.2.7. Isotermas de sorción

Una isoterma es una curva que relaciona el contenido de humedad de equilibrio en un producto, con la humedad relativa del aire o actividad de agua del producto. El contenido de humedad de un material higroscópico, en determinadas condiciones de temperatura y humedad relativa de equilibrio, depende del camino que siga para alcanzar el mismo.

Así para una misma humedad relativa puede haber dos isotermas, denominadas isotermas de adsorción y de desorción. En función de las condiciones experimentales iniciales; las isotermas tienen forma sigmoidal (figura 2.6) (Prieto *et al.,* 2012).

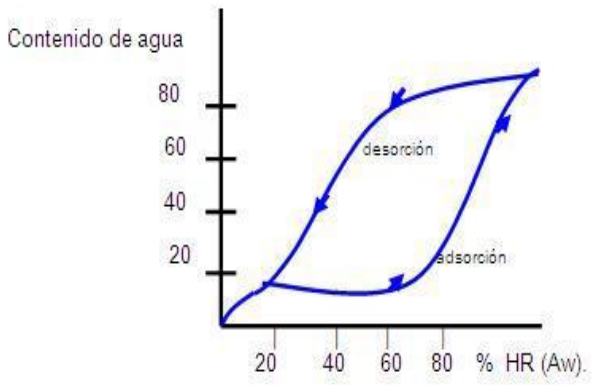


Figura N° 08. Isotermas de adsorción y desorción

Fuente: Badui, 2000.

La isoterma de sorción del agua, es una forma adecuada de analizar el grado de interacción del agua con el sustrato. Normalmente se puede dividir en tres intervalos en función de la aw.

- ✓ **Zona A**. agua fuertemente ligada correspondiente a una aw de 0.2-0.3 ó inferior: el agua se encuentra en forma monomolecular, que se desarrolla cuando una fracción de agua presente interacciona con la superficie del alimento.

- ✓ **Zona B**: agua moderadamente ligada (aw=0.3-0.7): es la más interesante, corresponde a multicapas de agua y presenta características muy particulares. Es una zona en la que un pequeño cambio en el contenido acuoso se traduce en grandes variaciones de los valores de su actividad.

- ✓ **Zona C:** agua poco ligada: correspondiente a una aw de 0.7-0.8 y superior: el alimento presenta actividades bastantes próximas a la del agua pura. Se elimina con facilidad llegando sólo a un valor de 0.8 y es la responsable de cualquier tipo de reacción y crecimiento microbiano (Martínez, 2008).

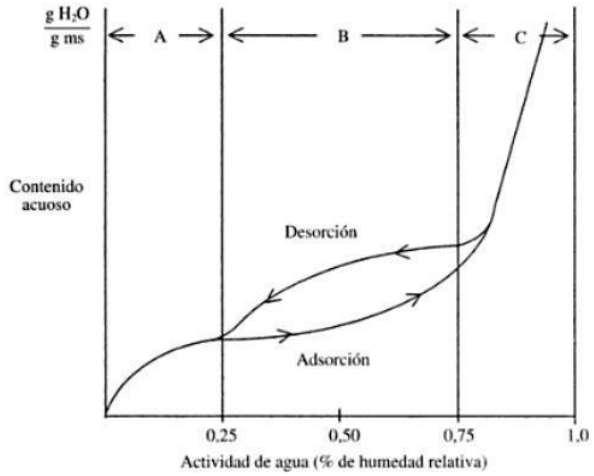


Figura N° 09. Isoterma de sorción de agua y sus zonas A, B y C
Fuente: Bello, 2008.

Las isotermas de sorción son una herramienta termodinámica útil para determinar la interacción entre el agua y las sustancias alimenticias, y provee información valiosa para evaluar las operaciones de procesamiento de los alimentos tales como secado, mezclado, empacamiento y almacenamiento (Beristain *et al.,* 2002).

Se clasificaron las isotermas de sorción en 6 diferentes tipos:

Tipo I: corresponde a la isoterma de Langmuir que describe la adsorción monomolecular de gas sobre un sólido poroso, se caracteriza porque la adsorción se produce a presiones relativas bajas.

Tipo II: es la isoterma conocida como sigmoide característica de productos solubles, muestra una tendencia asintótica conforme la actividad de agua se acerca a la unidad. Es característica de sólidos macroporosos o no porosos.

Tipo III o de Flory-Huggings: se encuentra en la adsorción de un disolvente o plastificante como el glicerol. Ocurre cuando la interacción adsorbato-adsorbente es baja.

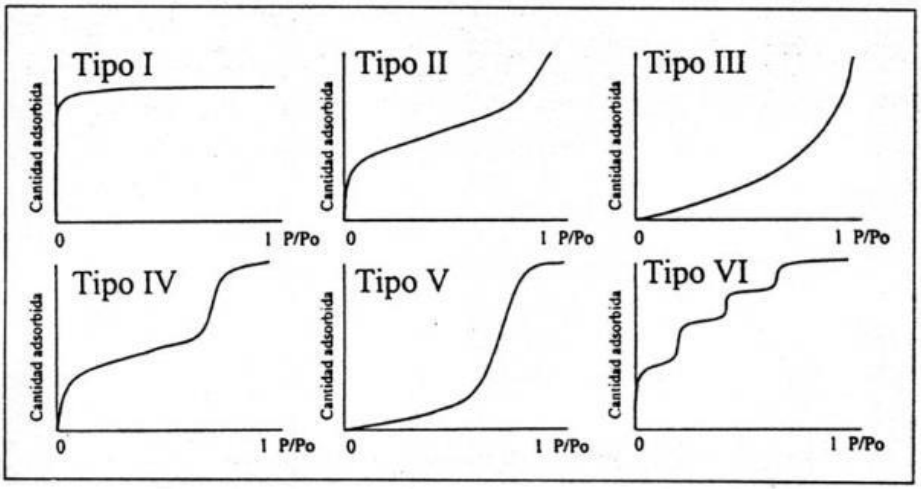


Figura N° 10. Representación esquemática de los seis tipos de isotermas de adsorción.
Fuente: Sablani, 2001

Tipo IV: muestra la adsorción por un sólido hidrófilo “hinchable”, a alcanza el máximo de sitios de hidratación. Es característica de sólidos mesoporosos. Presenta un incremento de la cantidad adsorbida importante a presiones relativas intermedias, y ocurre mediante un mecanismo de llenado en multicapas.

Tipo V: llamado isoterma BET por Brunauer, Emmett y Teller que representa la adsorción multimolecular observada en la adsorción de vapor de agua sobre carbón. Al igual que la isoterma tipo III, es característica de interacciones adsorbato-adsorbente débiles, pero se diferencia de la anterior en que el tramo final no es asintótico.

Tipo VI: es poco frecuente. Este tipo de adsorción en escalones ocurre sólo para sólidos con una superficie no porosa muy uniforme. Ejemplo: adsorción de gases nobles en carbón grafitizado.

Las isotermas de sorción proporcionan los datos necesarios para calcular entalpía de vaporización la cual depende sobretodo de la temperatura y del contenido de humedad que presente un producto, cuanto mayor sea la humedad de un producto, menor será la cantidad de energía necesaria para evaporar una unidad de masa de agua contenida en un producto, y viceversa (Zug, 2002).

Las isotermas de sorción, el calor isostérico de sorción y la energía libre de Gibbs son parámetros importantes en la ingeniería de los alimentos, en la modelación de los procesos de sorción y secado, además en el control de la calidad y estabilidad durante el almacenamiento de los alimentos (Cortes *et al*., 2012). Estos parámetros además proveen información acerca de los mecanismos de sorción y las interacciones entre los componentes de los alimentos y el agua. (Gabas *et al.,* 2000). La energía requerida para los procesos de secado de la fruta y el cambio en la energía libre de Gibbs son obtenidos desde las isotermas de sorción.

2.2.6.2.8. Actividad de agua

El término de actividad de agua se implantó para tener en cuenta la intensidad con que el agua se asocia a los diferentes componentes no acuosos. Cuando se trata de vapor de agua (adsorción de humedad), es necesario definir la actividad del agua (aw), que generalmente se conoce en función de la humedad relativa (HR) expresada en porcentaje

a) $\%HR = P_{H_2O}/PO\,100$ …… (6)

Donde $PH2O$ es la presión de vapor de agua en el aire ambiente y PO es la presión de vapor del agua pura a una temperatura dada en un espacio totalmente saturado a 100% de HR; es decir, en condiciones en las cuales a 100% de HR, $P_{H_2O} = PO$.

La actividad de agua viene dado por:

$$aw = P_{H_2O}PO \quad \text{…… (7)}$$

Relacionando la ecuación a y b, se obtiene lo siguiente:

$$aw = \%HR\,100 \quad \text{…… (8)}$$

Cabe señalar que el agua adsorbida en el producto se encuentra en equilibrio con el agua en estado de vapor en el aire de la atmósfera que lo rodea, por eso se suele llamar también humedad relativa en el equilibrio %HRE (Prieto *et al*., 2012).

2.2.6.2.9. Actividad de agua en los alimentos

La actividad del agua en los productos alimenticios es equivalente a la humedad relativa del aire en equilibrio con el producto (Cortes *et al*.,

2012). El contenido de agua en un alimento o humedad, se refiere en general a toda el agua de manera global. Sin embargo, hay una distribución heterogénea presente en los alimentos procesados, debido a que sus componentes se encuentran en diferentes estados de dispersión, y por consiguiente se encuentran en diferentes estados energéticos, lo cual significa que no toda el agua de un alimento tiene las mismas propiedades energéticas (Dominguez, 2013).

Determinar el estado del equilibrio termodinámico de sorción entre la humedad relativa del aire que circunda el adsorbente y la actividad de agua en la fruta, es un prerrequisito básico para entender los procesos de transferencia de masa (Cortes *et al*., 2012).

El contenido de agua de los alimentos así como el control de su pérdida y ganancia, es uno de los factores que más influye en su estabilidad, ya que alimentos con el mismo contenido de agua pueden sufrir un proceso de alteración diferente y tener distintas vidas de anaquel, ya que su estabilidad está en función de la actividad de agua (Bonazzi y Dumoulin, 2011).
La aw es el mejor indicador de la calidad y seguridad de los alimentos, y una de las herramientas más importantes en la predicción de la estabilidad de los alimentos. Se puede definir como el potencial químico del agua pues mide la disponibilidad de ésta para provocar cambios deteriorativos o permitir el crecimiento microbiano (Labuza y Hyman, 1998).

La actividad del agua es uno de los factores más importantes en el crecimiento microbiano (tabla 02.), muchas especies de hongos y bacterias comienzan su desarrollo en función del contenido de humedad (Valentín, 2004).

Tabla N°02. Efecto de la actividad de agua sobre los alimentos.

Vida útil (aw)	Patógenos que se reproducen	Alimentos
> 0.98	Todos los organismos patógenos	Lácteos y derivados, carne y pescado fresco, fruta y verdura, etc.
0.93-0.98	La práctica totalidad de bacterias patógenas	Embutidos cocidos, queso fresco, pan, productos cárnicos, etc.
0.86-0.93	Sólo bacterias patógenas resistentes (*S. Aureus*) y levaduras	Embutidos seco-curados, jamón serrano, leche condensada, etc.
0.60-0.86	Sólo patógenos resistentes como mohos, mohos xerófilos y bacterias halófilas	Frutos secos, cereales, quesos curados, mermeladas y melazas, etc.
< 0.60	Sólo algunos hongos extremadamente resistentes y levaduras osmófilas	Leche en polvo, chocolate, miel, aceite de oliva, etc.

Fuente: Migueles, 2013.

2.2.6.3. Materias primas empleadas en la elaboración de recubrimientos y películas

Un recubrimiento se puede definir como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento (Garcia-Ramos *et al.*, 2010).

Los recubrimientos, tienen la característica de estar elaborados con materiales naturales como proteínas, lípidos y polisacáridos. Dependiendo de su composición, las propiedades funcionales de las películas o los recubrimientos finales varía, por lo que el conocimiento de la forma en que cada componente interactúa física y/o químicamente, ofrece la posibilidad de diseñar películas o

recubrimientos con características estructurales y de barrera específicas para su aplicación en alimentos (Bósquez y Vernon, 2005).

2.2.6.4. Diferencias entre recubrimiento y películas

Las películas se definen como una capa delgada de material que puede ser consumida y proporciona una barrera a la humedad, al oxígeno y al movimiento de soluto por la comida (Bourtoom, 2008). Una película una vez formada, se puede colocar en o entre los componentes de los alimentos (Falguera *et al.*, 2011).

Palou *et al*., (2015) indican que los componentes básicos de los recubrimientos pueden ser hidrocoloides (polisacáridos y proteínas), lípidos (ceras y ácidos grasos) y polímeros sintéticos. Los recubrimientos compuestos son una combinación de polisacáridos o proteínas con los lípidos. Los plastificantes se usan para mejorar la flexibilidad y la extensibilidad, y emulsionantes o agentes tensioactivos se emplean para mejorar la estabilidad de las emulsiones.

Los recubrimientos pueden actuar sobre los frutos para mejorar su apariencia, retrasar la maduración y extender la vida útil y además actuar como soportes de aditivos alimentarios tales como antioxidantes y agentes antimicrobianos (Valero y Serrano, 2010).

2.2.6.5. Matriz estructural de los recubrimientos compuestos

Los recubrimientos y las películas comestibles se suelen clasificar según la materia estructural. De esta manera, las películas y los recubrimientos se basan en proteínas, lípidos, polisacáridos o mezclas de estos componentes. Por ejemplo, una película puede consistir en lípidos e hidrocoloides (proteínas y polisacáridos), los cuales se combinaron para formar una bicapa o un clúster (Falguera *et al.,* 2011).

Las películas y los recubrimientos, se elaboran con biopolímeros naturales de alto peso molecular que proporcionan una matriz macromolecular con resistencia cohesiva alta. Los tipos de macromoléculas que se emplean para

este propósito son hidrocoloides (proteínas, polisacáridos) los cuales debido a su naturaleza hidrofílica, son muy sensibles al agua. Los otros componentes mayoritarios en la formulación lo constituyen los lípidos y resinas; pero las formulaciones pueden incluir plastificantes, emulsificantes, agentes de superficie activa (surfactantes), agentes de liberación específica de compuestos, lubricantes, etc., por lo que realmente se trata de formulaciones multicomponentes (Bósquez, 2003).

Los recubrimientos o las películas pueden cumplir muchos de los requisitos involucrados en la comercialización de alimentos entre los que destacan el valor nutricional, la sanidad, alta calidad, estabilidad y economía, al realizar una o más de las funciones indicadas en la tabla.

Tabla N° 03: Descripción de los Tratamientos empleados

Usos posibles de películas y/o recubrimientos.	Tipo adecuado de película
Retardar migración de humedad	Lípido, compuesto
Retardar la migración de gas	Hidrocoloide, lípido o compuesto
Retardar migración de aceite y grasa	Hidrocoloide
Retardar migración de soluto	Hidrocoloide, lípido o compuesto
Mejorar la integridad estructural o propiedades de manejo	Hidrocoloide, lípido o compuesto
Retener compuestos volátiles del sabor	Hidrocoloide, lípido o compuesto
Vehículo de aditivos alimentarios	Hidrocoloide, lípido o compuesto

Fuente: Bósquez, 2003.

Algunos estudios han reconocido la importancia de la evaluación de la matriz de preformado de películas comestibles con el fin de cuantificar diversos parámetros tales como propiedades mecánicas, ópticas y antimicrobianas, debido a que se crea una atmósfera modificada (AM), restringiendo la transferencia de gases (O_2, CO_2) además de

convertirse en una barrera para la transferencia de compuestos aromáticos (Miller y Krochta, 1997).

2.2.6.6. Propiedades y beneficios del uso del recubrimiento

Los desafíos asociados con la calidad, salubridad y costo, establecidos en el mercado para la mayoría de alimentos, pueden ser enfrentados con el uso de RC debidamente formulados.

Wu *et al.,* (2002) definen un recubrimiento comestible como una capa delgada de material que puede ser consumido, se puede aplicar sobre un alimento envolviéndolo, sumergiéndolo o pulverizándolo y actúan como barrera contra la transmisión de gases, vapores y solutos y además, proporciona protección mecánica.

En el caso de las frutas y hortalizas, las formulaciones de los recubrimientos, deben ser capaces de mojar y extenderse uniformemente sobre la superficie, secarse, tener una adecuada adherencia, cohesión y durabilidad para funcionar correctamente (Krochta y Mulder-Johnston, 1997). Estas propiedades pueden contribuir a extender la vida útil de las frutas mediante la reducción de las pérdidas de agua y la migración de solutos, el intercambio de gases, la respiración y las velocidades de reacción de oxidación, así como mediante la reducción o incluso la supresión de fisiopatías (Baldwin *et al*, 1996; Park, 1999).

Los beneficios potenciales que brinda la utilización de esta tecnología.

- Restringir el intercambio de compuestos volátiles entre el producto y su entorno, mediante el suministro de barreras de gas, lo que impide la pérdida de compuestos aromáticos volátiles y componentes del color de los productos frescos y la adquisición de olores extraños.

- Proporcionar una barrera de gas suficiente para el intercambio de gases de los productos de la atmósfera circundante, lo que retrasaría la respiración y el deterioro. La función de barrera de gas a su vez podría retardar la oxidación enzimática y proteger los productos del ablandamiento de la textura durante el almacenamiento.

- Proporcionar barrera contra la humedad en la superficie de los productos para ayudar a aliviar el problema de la deshidratación. La pérdida de humedad durante almacenamiento postcosecha, conduce a la pérdida de peso y cambios en la textura, sabor y apariencia.

- Proteger contra el daño físico causado por impacto mecánico, la presión, vibraciones, mecánica y otros factores.

- Actuar como portadores de otros ingredientes funcionales, tales como agentes antimicrobianos y antioxidantes, nutracéuticos, e ingredientes de color y sabor para reducir las cargas microbianas, lo que retrasa la oxidación y la decoloración, y la mejora de la calidad (Lin & Zhao, 2007; Olivas & Barbosa-Cánovas, 2009; Pérez & Ibargüen, 2012).

2.2.6.7. Propiedades específicas de los recubrimientos a base de lípidos, proteínas y polisacáridos aplicados en frutas y hortalizas

La película o cubierta, consiste en una capa delgada que se pre-forma o forma directamente sobre la superficie de los productos vegetales como una envoltura protectora (Del-Valle *et al.,* 2005; Bravin *et al.,* 2006). Se elaboran a partir de una gran variedad de proteínas, polisacáridos y lípidos ya sea como componentes únicos o combinados, con la finalidad de desarrollarlas con mejores propiedades de barrera y mecánicas (Kester y Fennema, 1986). El mecanismo por

el cual los recubrimientos conservan la calidad de frutas y vegetales es debido a que crean una barrera física a los gases, produciendo una atmósfera modificada ya que reducen la disponibilidad de O_2 e incrementan la concentración de CO_2 (Avena-Bustillos *et al.*, 1997; González-Aguilar *et al.*, 2005).

a) Lípidos

Los lípidos comestibles incluyendo lípidos neutros, ácidos grasos, ceras, y resinas son los materiales de revestimiento tradicionales para los productos frescos, que muestran la eficacia en la prestación de barrera contra la humedad y mejoran la apariencia de la superficie (Lin y Zhao, 2007). Por su naturaleza hidrofóbica los lípidos ejercen una buena barrera al vapor de agua, sin embargo, su falta de cohesividad e integridad estructural hace que presenten malas propiedades mecánicas formando recubrimientos quebradizos (Saavedra y Algecira, 2010).

Los recubrimientos a base de lípidos son muy eficientes para reducir la deshidratación de los productos debido a su baja polaridad presentan una escasa permeabilidad al vapor de agua (Kester y Fennema, 1986). La pérdida de humedad en frutas y vegetales frescos disminuye la firmeza y el peso de los productos afectando su calidad y como consecuencia ocurren pérdidas económicas durante su comercialización (AvenaBustillos *et al.,* 1994). Estos recubrimientos presentan algunas limitaciones tales como, propiedades mecánicas pobres y en ocasiones mala apariencia (García *et al.*, 2000); es por eso que los lípidos son mezclados con otras sustancias como polisacáridos, ya que estas combinaciones proporcionan al recubrimiento mayor estabilidad (Koelsch, 1994; Martín-Belloso *et al*., 2005). García *et al*. (2000), reportaron que al mezclar aceite de girasol (Helianthus annus L.) y almidón de maíz (Zea mays L.) con glicerol y sorbitol como plastificante, obtuvieron un recubrimiento, con buenas

propiedades mecánicas para adherirse a la zanahoria (Daucus carota L.) y redujeron la pérdida de vapor de agua tres veces más por encima del control.

b) Ceras, grasas y aceites

Los recubrimientos a base de cera, grasa y aceite presentan; superficie grasosa, formación de grietas, mayor grosor y problemas organolépticos por el sabor ceroso, además de una posible rancidez (Muhammad, *et al*., 2013).

Generalmente, los recubrimientos de cera han demostrado ser sustancialmente más resistentes a la humedad que al transporte de la mayoría de otros lípidos o recubrimientos comestibles no lípidos (Muhammad *et al*., 2013). Materiales hidrofóbicos como ceras y ésteres de ácidos grasos han sido aplicados como recubrimientos, observando que presentan excelentes barreras, limitando la transferencia de vapor de agua, no obstante, no poseen la capacidad de formar películas con estabilidad y maleabilidad adecuadas para su manejo (Ruiz, 2004).

c) Resinas

Las resinas son un grupo de sustancias ácidas que generalmente son secretadas por células especiales de las plantas, en los conductos o canales largos de resina, en respuesta a la lesión o infección en muchos árboles y arbustos. Las resinas (shellac, rosin de madera, etc.) son más permeables al vapor de agua aunque en menor grado que algunos recubrimientos de polisacáridos, la mayoría de las cubiertas de resinas, pueden generar condiciones anaeróbicas debido a sus características de baja permeabilidad a los gases; además no se adhieren a superficies cortadas de naturaleza hidrofílica (Bósquez, 2003).

d) Proteínas

Las películas o los recubrimientos elaborados con proteínas también presentan gran permeabilidad al vapor de agua, 2 ó 4 veces más que los empaques plásticos, son buenas formadoras de películas y se adhieren a las superficies hidrofílicas. Sin embargo, pueden aumentar la resistencia a la transmisión de vapor de agua mediante la combinación de proteínas con materiales hidrofóbicos, estas películas compuestas, ofrecen una mayor expectativa de aplicación. Las principales proteínas que pueden ser empleadas en la elaboración de películas compuestas comestibles son: colágeno, gelatina, proteínas de leche, proteínas de soya, proteínas derivadas de los cereales, proteínas oleosas entre otras (Ruiz, 2004).

Las películas y los recubrimientos elaborados con proteínas se combinan con agentes plastificantes como el glicerol o el sorbitol. Y al igual que los recubrimientos de polisacáridos, tienen una permeabilidad alta al vapor de agua debido a su carácter hidrófilo (Michaca, 2004).

e) Gelatina

La gelatina es un producto que se obtiene del colágeno de los residuos de los rastros, principalmente de pieles, huesos y cartílagos de bovino y porcino. La gelatina posee diferentes propiedades dadas en función del estado en que se encuentre, así, sí esta seca al ponerla en contacto con un líquido lo absorbe y se hincha. Al calentar el líquido se forma un sol (un sistema coloidal fluido) con el líquido como dispersante. A medida que se enfría el sistema, la viscosidad del fluido aumenta y forma un gel (sistema coloidal de aspecto sólido) (Carrera, 2011).

Las aplicaciones de formación de película de gelatina, se derivan por hidrólisis parcial de colágeno, en las industrias farmacéuticas y alimentarias incluyen la micro encapsulación de ingredientes y la fabricación de revestimientos en comprimidos y cápsulas. Similares a otros tipos de películas comestibles, los revestimientos de gelatina han mostrado potencial como portadores de antioxidantes (Muhammad *et al*., 2013).

f) Polisacáridos

Los recubrimientos y las películas comestibles hechos de polisacáridos se han aplicado para prolongar la vida de anaquel de las frutas, hortalizas, productos marinos o carnes; para reducir su deshidratación y los niveles de O2, evitando la rancidez oxidativa y el obscurecimiento superficial, a pesar de que la mayoría de películas y recubrimientos a base de polisacáridos, no evitan por completo la pérdida de humedad (Ruiz, 2004).

Estos recubrimientos muestran una elevada permeabilidad al vapor de agua, debido a su naturaleza hidrofílica. Los polisacáridos solubles en agua son polímeros de cadena larga en forma lineal o ramificada que poseen unidades glucosídicas que, como media, poseen tres grupos hidroxilos, por lo tanto forman puentes de hidrógeno con el agua, y las partículas de polisacáridos pueden tomar las moléculas del agua, hincharse con ellas y solubilizarse total o parcialmente dando un carácter espesante y/o gelificante a la fase acuosa (Ruiz, 2004).

Sin embargo, ciertos polisacáridos aplicados en forma de cobertura gelatinosa con alta humedad pueden retardar la pérdida de humedad en los alimentos ya que funcionan como agentes de sacrificio. Dentro del grupo de los polisacáridos que pueden ser empleados en el desarrollo de empaques comestibles se encuentran: almidón, carragenina, agar, pectina, alginatos,

maltodextrina, derivados de celulosa y quitosano. Los recubrimientos de geles de alginatos, solos o en combinación con almidón, reducen el encogimiento, la pérdida por goteo y la aparición de aromas indeseables en productos crudos y cocidos, mejorando el color y la textura (Michaca 2004).

g) Almidón y derivados de almidón

La amilosa es la fracción lineal del almidón, se utiliza para formar películas con alta cohesividad, relativamente fuertes, en contraste con las películas de amilopectina que son frágiles y no continuas. Las películas de amilosa son transparentes e impermeables al aceite, con permeabilidades muy bajas al oxígeno en condiciones de humedad baja. Las películas hechas a partir de los derivados hidroxipropilados de almidón con alto contenido de amilosa, tienen escasas propiedades de barrera a la humedad aunque llegan a tener una barrera al oxigeno hasta del 78% HR (Muhammad *et al*., 2013).

2.2.6.7.1. Aplicación de quitosano como recubrimiento en la postcosecha de frutas

El quitosano es un biopolímero, que ofrece un amplio potencial que puede ser aplicado a la industria alimentaria debido a sus propiedades fisicoquímicas particulares, tales como biodegradabilidad, biocompatibilidad con los tejidos humanos, el no ser tóxico y en especial sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Estos aspectos lo hacen de vital interés para la preservación de alimentos y las tecnologías emergentes (Aider, 2010).

El quitosano es de interés potencial como base de películas y recubrimientos comestibles porque tiene propiedades de barrera al oxígeno, además de tener actividad bactericida y funguicida contra algunos patógenos de frutos (Miranda *et al*., 2003).

De acuerdo a Muzzarelli *et al*., (1990), la actividad antimicrobiana del quitosano contra las bacterias, podría ser atribuido a la naturaleza policatiónica de su molécula, la cual permite la interacción y formación de polielectrolitos complejos con polímeros ácidos producidos en la superficie de la célula bacteriana (lipopolisacaridos, ácido teicoico, teicuronico, y polisacáridos capsulares). Recubrimientos y películas a base de quitosano probados sobre Listeria monocytogenes mostraron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de dicha bacteria (Coma *et al.*, 2002; Ponce *et al*., 2008). Diversos estudios han mostrado que recubrimientos a base de quitosano tienen el potencial de incrementar la vida de anaquel de frutas y vegetales frescos, al reducir la producción de etileno, incrementar la concentración de gas carbónico y minimizar los niveles de oxígeno (Lazaridou & Biliaderis, 2002; Geraldine *et al*., 2008; Márquez *et al.,* 2009).

En comparación con los otros materiales de envasado de alimentos de origen biológico, el quitosano tiene la ventaja de ser capaz de incorporar sustancias funcionales, tales como minerales o vitaminas y posee actividad antibacteriana. En vista de estas cualidades, las películas de quitosano se han utilizado como un material de envasado para la preservación de la calidad de una variedad de alimentos (Dutta *et al.,* 2009).

El quitosano es un compuesto que presenta características biofuncionales, por lo que podría ser una alternativa viable para sustituir los métodos de control de microorganismos tradicionales además, puede utilizarse sin problemas para elaborar recubrimientos comestibles (González-Aguilar *et al.,* 2005). Los recubrimientos con quitosano forman una cubierta en la superficie de los frutos, que actúa

como una barrera mecánica para proteger al fruto de infecciones causadas por hongos, ayudando así a disminuir las enfermedades causadas durante el almacenamiento por Rizophus stolonifer (Ehrenb:Fr), Botrytis cinerea Pers:Fr, y Alternaria alternata (Fr.:Fr.) Keissl entre otras (Hernández, 2002; El Ghaouth *et al.,* 1992c; Meng *et al.,* 2008; Sanchez, 2008).

Los aspectos que deben ser considerados en la preservación de frutos y vegetales mediante el uso de recubrimientos de quitosano son:

a) El tipo de quitosano a emplear (grado de acetilación, peso molecular, procedencia).
b) Ácido usado para preparar las soluciones acuosas.
c) pH del medio, cuidando de respetar el pH natural del producto a proteger.
d) Temperatura de almacenamiento.
e) La presencia de otros componentes en el producto a proteger, como por ejemplo azúcares, sales, proteínas, etc.

Las películas de quitosano son resistentes, duraderas y flexibles con propiedades mecánicas. Se emplean junto con otros elementos en recubrimientos para frutas, retrasando el envejecimiento, disminuyendo la oxidación, las pérdidas por transpiración y protegiendo frente al ataque de hongos (Ruiz, 2004).

Trabajos de películas y recubrimientos a base de quitosano en alimentos

Los recubrimientos a base de quitosano han manifestado la eficacia en el retraso de la maduración, la disminución de las tasas de respiración de frutas y verduras (Vargas *et al.,* 2006), la reducción de la pérdida de peso, marchitamiento de color, y la infección fúngica en pimientos, pepinos y tomates (El Ghaouth *et al*., 1991b, 1992b).

Asimismo se encuentra el aumento de la vida útil postcosecha de diferentes frutas, como las cerezas (Romanazzi *et al.,* 2002), uvas (Romanazzi *et al.,* 2003) y fresas (El Gaouth *et al.,* 1991a; 1992a; Vargas *et al*., 2006). Sin embargo, sólo se dispone de algunos trabajos realizados con mandarinas (Fornés *et al.*, 2005; Vargas *et al.,* 2007).

Así pues Iverson y Ager (2003) inventaron un antifúngico a base de un recubrimiento de quitosano mezclado con una emulsión de cera comestible y/o un conservante tal como benzoato de sodio, y/o un aditivo de adherencia tales como acetato de zinc, y/o un agente humectante. Han *et al.,* (2004a, 2004b) utilizaron recubrimientos de quitosano para extender la vida útil de las fresas frescas y frambuesas rojas. Incluso Park *et al.,* (2005) demostraron la función antifúngica de los recubrimientos de quitosano en fresas frescas, mostrando excelente compatibilidad del quitosano con otros agentes antifúngicos. Vargas *et al.,* (2006) evaluaron quitosano de alto peso molecular combinado con ácido oleico para preservar la calidad de las fresas, encontrando que la adición de ácido oleico no sólo mejora la actividad antimicrobiana del quitosano, sino también mejora la resistencia al vapor de agua de las muestras recubiertas.

Por otra parte, Jeon *et al.* (2002) aplicaron revestimientos a base de quitosano de arenque y filetes de bacalao. En este caso, tanto la inherente actividad antioxidante y las propiedades de barrera al oxígeno de películas de quitosano, contribuyeron al control de la oxidación lipídica en los filetes de pescado.

La influencia de los recubrimientos a base de quitosano en términos de la oxidación de lípidos y la estabilidad del color, también se han examinado en la carne de res molida (Suman *et al.,* 2010).

2.2.6.7.2. Aplicaciones de gel de sábila (*Aloe vera*) como recubrimientos en postcosecha de frutas

Actualmente, existe un gran interés en utilizar el gel de *Aloe vera* en la industria alimentaria para su uso como un ingrediente funcional. En los últimos años se ha establecido un protocolo de obtención y procesado de gel de *Aloe vera* con el fin de garantizar la calidad y seguridad, y evitar así mismo el fraude en este tipo de producto (He *et al*., 2005).

Los geles de (*Aloe vera)* contienen más de 75 nutrientes y 200 compuestos activos, incluyendo el polisacáridos (acemanano), antraquinonas, saponinas, vitaminas, enzimas, minerales, lignina, ácido salicílico y aminoácidos (Kumar *et al.,* 2014). Asimismo, se han realizado muchos trabajos que han demostrado que el uso del gel como recubrimiento comestible es capaz de prolongar la vida útil de frutas como en cerezas, uva de mesa y nectarinas, retrasando los parámetros relacionados con el deterioro desde el punto de vista de la calidad y mejorando sus propiedades funcionales (Valverde *et al.,* 2005; Martínez-Romero *et al.,* 2006; Serrano *et al*., 2006; Castillo *et al.,* 2010; Navarro *et al.,* 2011). Además, se ha visto que tiene una gran capacidad para el control de microorganismos causantes de podredumbres en frutas como Botrytis cinérea, Penicillium digitatum, Penicillium expamsum, Alternaria alternate y otros (Navarro *et al.,* 2011; Jasso de Rodriguez *et al.,* 2005).

La actividad anti-fúngica del *Aloe vera* está basada en la supresión de la germinación y la inhibición del crecimiento del micelio, y ha sido atribuida a la presencia de más de un compuesto activo con acción anti-fúngica (Ali *et al.,* 1999), aunque el mecanismo de acción específico aún se desconoce. Es conocido que algunos componentes individuales que se encuentran en los geles de (*Aloe vera)*, tales como saponinas, acemanano y antraquinonas, poseen actividad antimicrobiana (Martínez-Romero *et al.,* 2003), e incluso por las condiciones climáticas

del cultivo (luz ultravioleta y sequedad) pueden variar su concentración en los geles (Zapata *et al.,* 2013).

Según Martínez *et al*., (2005), debido a las especiales características gelificantes del extracto de (*Aloe vera)*, éste se adhiere fácilmente a la epidermis de frutas y hortalizas, consiguiendo los siguientes efectos deseados:

- Actúa sobre los frutos ejerciendo sobre los mismos un papel anti senescente.
- Evita la proliferación de hongos y bacterias que degradan las frutas y hortalizas, debido a sus propiedades antifúngicas y antimicrobianas.
- Posee un efecto beneficioso para la salud del consumidor, ya que aporta componentes beneficiosos en la dieta.

En conjunto, el *Aloe vera* mejora la vida útil de la fruta manteniendo toda su calidad, y al tratarse de un producto natural, presenta una gran aceptación por parte de los consumidores ya que no representa ningún problema para la salud (Martínez *et al*., 2005). Recientemente, el gel mucilaginoso de aloe vera ha sido utilizado como R.C, obteniendo resultados satisfactorios en diferentes investigaciones de conservación de atributos de calidad y vida útil de frutas y vegetales. Se destacan es este ámbito los siguientes estudios:

Valverde y *et al*., (2005), utilizaron un recubrimiento a base de *Aloe vera* para conservar los atributos de calidad de uva de mesa (*cv. Crimson*) en almacenamiento a 1°C. Con el recubrimiento se logró extender la vida útil de las uvas hasta 35 días teniendo en cuenta parámetros como el mantenimiento del color, la disminución en la pérdida de peso y un menor conteo microbiológico (mesófilos aerobios y hongos) comparado con las muestras no recubiertas.

Martínez-Romero *et al*., (2006), evaluaron el uso de un recubrimiento a base de *Aloe vera* sobre muestras de cereza dulce (*Prunus avium L. cv. StarKing*) para mantener los atributos de calidad y seguridad alimentaria durante 16 días en refrigeración. Las muestras tratadas con el recubrimiento con respecto a las muestras control, presentaron menores cambios en el color, disminución en las tasas de respiración, una baja pérdida de peso, menor ablandamiento, reducción del pardeamiento enzimático y una baja población microbiana.

Por otra parte el análisis sensorial determinó que el recubrimiento no afecta los atributos de aroma y sabor de las muestras, mostrando además un efecto beneficioso ante el pardeamiento enzimático.

Serrano *et al*., (2006), demostraron que con un recubrimiento formulado a partir de *Aloe vera* en polvo grado farmacéutico, se podría mantener las propiedades funcionales y de calidad de uvas de mesa (*Vitis vinifera L. cv. Crimson Seedless*) durante almacenamiento en refrigeración. Las uvas recubiertas, mostraron una mayor retención de los fenoles totales y de ácido ascórbico, así como una mayor actividad antioxidante con respecto a muestras no tratadas, las cuales experimentaron una significativa acumulación de antocianinas y un desarrollo acelerado de la maduración.

Ahmed *et al*., (2009), evaluaron el efecto del gel de *Aloe vera* como recubrimiento comestible sobre nectarinas (*Prunus persica L*.) en dos temperaturas de almacenamiento (0°C –20°C). En ambos experimentos, el recubrimiento redujo la producción de etileno, la fuga de electrolitos, la pérdida de peso y las tasas de respiración, manteniendo además los antioxidantes totales y los niveles de ácido ascórbico en contraste con las nectarinas utilizadas como tratamiento control.

Restrepo (2009), en la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, demostró que el uso de *Aloe vera* con adición de cera carnauba y glicerol es un sistema eficaz para la conservación de fresas

(*Fragaria x ananassa* Duch *cv*.*Camarosa*). Durante almacenamiento en refrigeración, las fresas recubiertas presentaron mejores atributos de color, menor pérdida de peso y firmeza, disminución en las tasas de respiración y mantenimiento de los parámetros sensoriales en comparación con las muestras control.

Navarro *et al.,* (2011), evaluaron el uso de recubrimientos de *Aloe vera* con o sin timol en nectarinas (*Prunus persica* L. var nectarine) inoculadas con *Rhizopus stolonifer, Botrytis cinérea* y *Penicillium digitatum.* En el estudio se encontró que ambos tratamientos fueron efectivos en la reducción del daño por infección de los patógenos. Por otro lado, comprobaron la eficacia de este tipo de recubrimientos en el retraso de la maduración de las nectarinas, con la reducción de sus tasas de respiración y de producción de etileno, como en la disminución de la pérdida de peso y el ablandamiento. Con los resultados obtenidos, los investigadores consideraron al *Aloe vera* como un agente antifúngico natural y como una opción para los fungicidas sintéticos.

Mohebbi *et al.,* (2012), evaluaron el efecto del *Aloe vera*, goma tragacanto y la combinación de ambos como recubrimientos comestibles sobre las características de calidad de champiñones (*Agaricus bisporus*) durante 13 días de almacenamiento a 4,10 y 15°C. El estudio reveló que los champiñones que no fueron recubiertos mostraron una rápida pérdida de agua, cambios en el color y una acelerada maduración, mientras que el uso del *Aloe vera* en combinación con la goma se comportó como el tratamiento más efectivo para la conservación de las propiedades de calidad de las muestras.

Ramírez (2012), utilizó *Aloe vera* como matriz del recubrimiento y cera carnauba como fase oleosa para cubrir moras de Castilla (*Rubus glaucus Benth*). Para un periodo de almacenamiento de 10 días, los frutos recubiertos mostraron una menor pérdida de peso, una conservación de parámetros fisicoquímicos tales como el pH, acidez

titulable y sólidos solubles, al igual que el retraso en el crecimiento microbiano y en la pérdida de color y textura. El recubrimiento de aloe prolongo la vida útil de la mora 5 días más que los frutos que no fueron recubiertos.

Benítez *et al.,* (2013), utilizaron recubrimientos comestibles a base de *Aloe vera* en diferentes concentraciones (0, 1, 5, 15 %v/v) para mantener las características de calidad de kiwi (*Actinidia deliciosa cv. Hayward*) mínimamente procesado almacenado a 4°C. En el estudio se evaluaron características como color, textura, acidez titulable, solidos solubles, conteo microbiológico, contenido de pectina y parámetros sensoriales. En general, el recubrimiento de *Aloe vera* ayudó a reducir las tasas respiratorias, a disminuir el conteo microbiológico y mantener la textura de las rodajas de kiwi al utilizar una concentración del 5%.

Martínez-Romero *et al.,* (2013), utilizaron recubrimientos de *Aloe vera* (50, 100% v/v) solos o combinados con ácidos orgánicos (ácido ascórbico y ácido cítrico) para mantener las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y respiratorias de arilos de granada (*P. granatum* L., *cv. Mollar de Elche*) en almacenamiento refrigerado durante 12 días. En cuanto a los atributos de calidad, el *Aloe vera* como recubrimiento permitió retener la firmeza e incrementar los niveles de antocianinas y fenoles totales durante el almacenamiento. Por otro lado, mantuvo valores significativamente más bajos en el conteo de mesófilos aerobios y hongos y levaduras. Sensorialmente el tratamiento con una concentración de aloe al 100% v/v con ácidos orgánicos al 1% v/v, arrojó los valores más altos de aceptación en cuanto a sabor, textura, aroma y color.

CAPITULO III
MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales y equipos

3.1.1. Material experimental

- ✓ Quitosano comercial.
- ✓ Limón sutil. (*Citrus aurantifolia).*
- ✓ Gel de sábila (*Aloe vera*).
- ✓ Glicerina.
- ✓ Alcohol polivinilico.

3.1.2. Materiales del laboratorio

- ✓ Vaso de precipitación de 250 y 500 ml.
- ✓ Matraz de 250 y 100 ml.
- ✓ Probetas de 25, 100 ml
- ✓ Pipetas de 5 y 10 ml
- ✓ Pizeta.
- ✓ Fiolas de 100,250, 500 y 1000 ml.
- ✓ Espátula.
- ✓ Placas Petri.
- ✓ Tubos de ensayo de 10 ml
- ✓ Gradillas.
- ✓ Algodón.
- ✓ Papel aluminio.
- ✓ Mascarilla
- ✓ Guantes.
- ✓ Cinta de paraflim.
- ✓ Papel gomado
- ✓ Moldes acrílicos de 15x15x3 y 13x13x3
- ✓ Tull para filtrar

3.1.3. Reactivos

- ✓ Ácido acético 1%
- ✓ Alcohol.
- ✓ Sílica gel.
- ✓ Glicerina 85%
- ✓ Alcohol polivinilico.
- ✓ PDA

3.1.4. Equipos

- ✓ Potenciómetro
  Marca: WTW
  Modelo: 3210
- ✓ Balanza analítica
  Marca: Sartorius
  Modelo: Quintix 1S
- ✓ Termómetro digital
  Marca: Hanna Instruments
  Modelo: Checlxtemp
- ✓ Higrómetro
  Marca: VWR
- ✓ Modelo: Traceable
  Desecador
  Marca: Normax
- ✓ Estufa
  Marca: Memmert
  Modelo: SNB 400
- ✓ Agitador Magnético
  Marca: Velp Scientifica
  Modelo: F20530162

3.2. Método de investigación

La ejecución de éste proyecto de investigación, se dividió estructuralmente en etapas, iniciando con la identificación de uno de los principales causantes del deterioro del limón; en ésta primera etapa se logró obtener e identificar varios tipos de microorganismos como (mohos, levaduras) que son lo que proliferan con mayor abundancia en la superficie del limón como su habitad, y forman parte de la cadena de deterioro del producto, una vez comenzada su senescencia; habiéndose obtenido e identificados los hongos que proliferan en la superficie de los limones se realizó el proceso microbiológico de cultivar y purificar en placas petri con agar de papa y dextrosa (APD), para conservarlos hasta encontrar una concentración adecuada del antimicótico para su futura inhibición o destrucción de estos hongos; en la segunda etapa se procedió con la obtención del gel sábila (*Aloe vera)* el cual se obtuvo dejando remojar las pencas, para la liberación del iodo*;* tercera etapa se comenzó con las pruebas preliminares, una de las cuales consistió en experimentar la concentración del gel de sábila (*Aloe vera*) para determinar su efectividad como el agente antifúngico que se habían identificado; en la cuarta etapa se determinó la formulación del recubrimiento , el cual estaba constituido a base de quitosano como agente o base estructural, gel de sábila (*Aloe vera)* como agente antifúngico y los plastificantes (glicerina y alcohol polivinilico) como aditivos; en la quinta etapa se estudió las propiedades fisicoquímicas, mecánicas y biodegradables de la película compuesta, utilizando sólo en ésta etapa el método de *Casting* (vertido en placas) para un mejor estudio de las propiedades antes mencionadas ya que se tuvieron que preformar; en la sexta etapa se evaluó la influencia que tuvo el recubrimiento formulado en la conservación del limón; y en la última etapa los análisis específicos y apropiados para las diferentes pruebas de estudio.

3.2.1. Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo aplicada experimental.

3.2.2. Muestra

En la investigación, se tuvo como unidad muestral, 2 Kg de limones para cada repetición, recolectados en una parcela del valle de Zarumilla; aplicando un muestreo dirigido bajo los siguientes criterios:

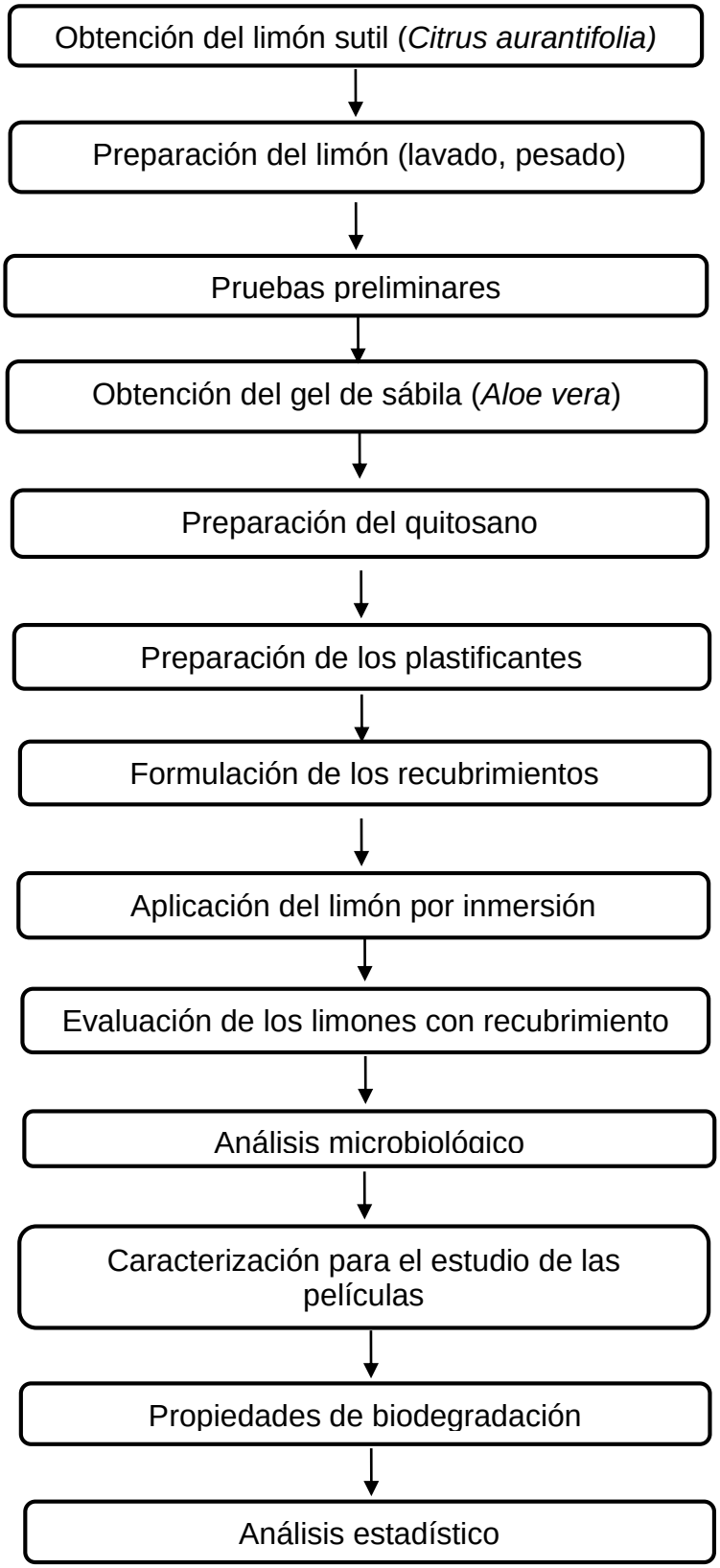
- **Determinación de la madurez para la cosecha.**

  Fisiológicamente la madurez para la cosecha, es el estado en el que el producto puede ya cosecharse y en su cálculo se debe tener en cuenta el tiempo necesario para hacerlo llegar al mercado y el tipo de manipulación a que será sometido en su desplazamiento.
  Los criterios de evaluación básicos para determinar la madurez del limón son:
  Visual: color, forma y tamaño.
  Tacto: textura, dureza o blandura.
  Olfato: olor y aroma.
  Gusto: dulzura, acidez, amargo.

  Forma técnica: registro del tiempo transcurrido desde la floración hasta la cosecha. Propiedades físicas como forma, tamaño. Peso, dureza, etc. Propiedades químicas como proporción de azúcar, ácido y solidos solubles. (FAO, 1993).

3.2.3. Flujo Experimental

Flujo grama de secuencia experimental



3.2.3. Preparación de Materiales

3.2.3.1. Obtención del limón sutil (*Citrus aurantifolia)*

Se dispuso de 2 kg de limón sutil fresco, el cual se obtuvo de una parcela estratificada en el valle de Zarumilla, estos limones seleccionados tuvieron que evaluarse cualitativamente con las siguientes características; completamente sanos (sin daño mecánico ni ataque de patógenos), madurez adecuada (es decir que no implique riesgo de desintegración durante el proceso de elaboración), la textura de los limones tuvo que ser firme y suave al tacto, su volumen o tamaño se obtuvo de un promedio de varios limones. En estas características se tomó en consideración la contaminación y el daño físico por el traslado de estos limones, ante esto se previó y se utilizó guantes estériles, bolsas de primer uso y un recipiente de polietileno para su traslado a los laboratorios de la Universidad Nacional de Tumbes.

3.2.3.2. Preparación del limón (Lavado y pesado).

El lavado de la fruta se realizó en el laboratorio Forestal y Medio Ambiental, por el acondicionamiento y la fácil utilización de materiales para la ejecución de esta etapa; la cual se realizó con agua y cloro al 5%, a concentración 5ppm.

Al igual que el lavado, el pesado se realizó en el laboratorio Ambiental, el pesado se realizó con la finalidad de llevar un control del producto respecto a la aplicación del recubrimiento.

3.2.3.3. Pruebas preliminares.

Se experimentaron pruebas preliminares en la formulación y elaboración de distintos recubrimientos.

3.2.3.3.1. Pruebas de la concentración del gel sábila (*Aloe vera*)

En un inicio se trabajó la concentración porcentual de sábila (*Aloe vera*) al 100% pero en los resultados del limón impregnado, se pudo determinar que éstas concentraciones, visualmente y físico químicamente estuvieron afectadas por el pardiamiento enzimático de la fruta, observando un oscurecimiento en la superficie del limón, al tercer día de aplicada la emulsión.

3.2.3.3.2. Selección de plastificantes

Se realizaron pruebas preliminares de elaboración de los recubrimientos a base de quitosano, utilizando los distintos plastificantes: alcohol polivinilico (PVA), glicerina, goma del fruto de overo (*Cordia lutea*) y resina de algarrobo (*Prosopis pallida*). Estas se utilizaron a las siguientes concentraciones 0.5, 1, 1.5 y 2%.

Se pudo determinar que de los cuatro plastificantes, la goma del fruto de overo (*Cordia lutea*) que se utilizó para recubrir el limón y la resina de algarrobo; no influía positivamente, porque el color de la emulsificacion cambio, de un color claro por la sábila a un color amarillento, además, después de su recubrimiento con el transcurrir de los días este se comenzó a desprender de la superficie del limón.

3.2.3.3.3. Concentración de Ácido Acético

Después de haber experimentado para disolver el quitosano con una solución de ácido acético al 3% (v/v), y al notar que las películas obtenidas mostraban un olor fuerte, se optó por disminuir la concentración del ácido

acético a 1%, ya que los resultados obtenido mejoraron la calidad organoléptica de las películas.

3.2.3.3.4. Temperatura de secado

Se determinó que las condiciones adecuadas de secado en la impregnación del recubrimiento fueron a una temperatura de 50 °C.

3.2.3.3.5. Formulación del recubrimiento

En estas pruebas se experimentaron con una mezcla de los elementos antes mencionados, para tener una experiencia y saber o estimar que recubrimiento podría tener algún beneficio sobre la superficie del limón, para ello se trabajó con varias formulaciones para adecuarlos a los objetivos del proyecto, para después aplicarlos. Se logró obtener varias emulsiones y también éstas a la vez se solidificaron en film los cuales se utilizaron para posteriores estudios.

3.2.3.3.6. Muestras microbiológicas

Las muestras microbiológicas que se obtuvieron, era para determinar y saber qué genero de hongos eran los que proliferaban en la superficie del limón, los cuales eran los causantes en gran parte de la putrefacción de este fruto; para eso se sembró en una placa petri con agar PDA (Potato Dextrose Agar por sus en inglés) varios segmentos de la cascara del limón y se dejó que los microorganismos proliferaran a temperatura ambiente de (3 a 7) días, para después ser purificados y almacenados a una temperatura de refrigeración.

Teniendo los microrganismos cultivados, como fueron, *cladosporium sp* y *penicillium sp* se procedió a experimentar la inhibición en placas Petri, aplicando diferentes diseños de films cuadrados, rectangulares y circulares alrededor, fabricados y secados de las nueve emulsiones lo cual se logró realizar gracias a un secado adecuado; colocando tres films

o tres tratamientos, por cada placa dando como resultados para el caso del moho *cladosporium sp*. una acción de efecto inhibidor, deteniendo su crecimiento y haciéndolo envejecer en el centro de éste; pero no sucedió lo mismo con el *penicillium* sp. ya que este moho tolero la inhibición por parte de los films prefabricados de las emulsiones formuladas, lo cual se consideró un hongo rebelde a este tipo de tratamientos.

3.2.3.4. Obtención del gel de sábila (*Aloe vera)*

Se seleccionaron las mejores pencas de sábila, las cuales se obtuvieron del jardín de la Universidad Nacional de Tumbes; estas pencas se pusieron en un recipiente limpio con agua, toda la noche, para eliminar el exceso de iodo.

Se tomó como base el método propuesto por Rodríguez *et al*. 2005:

a. Para la extracción del gel de *Aloe vera*, las hojas de sábila fueron lavadas y desinfectadas con agua destilada y el hipoclorito de sodio que estuvo en una concentración del 2%; para luego, sacarle las espinas y trocearlas en cuadros para ponerlas en remojo.

b. Un día después la piel de la hoja, se separó cuidadosamente del parénquima con una espátula, y luego cuidadosamente se raspo la superficie para obtener el gel.

c. Para terminar la extracción, el gel obtenido es filtrado en un tamiz y almacenado en refrigeración a 20 ^{0}C.

3.2.3.5. Preparación del quitosano

Como base estructural se utilizó quitosano comercial, donde solo se pesó 1 g para el tratamiento 2 y 0.7 g al 1%, para los demás tratamientos, el cual fue diluido con 70 ml de ácido acético al 1 %, que había sido disuelto

previamente a esta concentración; en un vaso precipitado de 250 cc, se vertió y homogenizo este material, en donde se colocó en un agitador magnético con una pastilla de imán que ayudo a mezclarlos, aproximadamente por dos horas, a una temperatura de 50 °C.

3.2.3.6. Preparación de plastificantes o aditivos

3.2.3.6.1. Glicerina

Para este plastificante se utilizó la glicerina grado reactivo al 85%; en concentraciones de 0.5% y 1% (v/v), disuelta en agua destilada en las concentraciones antes indicadas.

3.2.3.6.2. Alcohol polivinilico (PVA)

Este reactivo se preparó en concentraciones de 0.5% y 1% (p/v), disuelta en agua destilada a una temperatura de 90 °C a 1200 rpm, durante 2 horas.

3.2.3.7. Formulación de los recubrimientos

Los recubrimientos compuestos, se formularon en la siguiente etapa.

Para la formulación de la emulsificacion, se preparó una solución de ácido acético al 1% (v/v), paralelo a esto, se preparó quitosano al 1% (p/v) en un vaso precipitado de 250 cc los que se mezclaron en agitación constante a 50 °C aproximadamente por dos horas, una vez observado que el quitosano se había disuelto en su totalidad, se le agrego la solución de gel de sábila (*Aloe vera)* al 10% y 15% (v/v) (cada concentración en un frasco distinto) en agitación constante por 15 minutos, finalmente se adicionó 10 ml del plastificante (v/v) que tenían una concentración de 0.5% y 1% en agitación constante por 15 minutos, luego se dejó enfriar la emulsión hasta la impregnación del producto. Se prepararon nueve tratamientos, variando la concentración del gel de sábila (*Aloe vera)*, y los plastificantes Glicerina y Alcohol polivinilico (PVA).

3.2.3.7.1. Codificación de tratamientos.

Como se observa en la tabla N° 04 los tratamientos en estudio que contiene cada recubrimiento está compuesto por concentraciones de:

- ✓ Quitosano **(Q),** como base estructural, al 1%.
- ✓ *Aloe vera* **(Av),** como agente antifúngico, en dos concentraciones de 10 y 15 %.
- ✓ Alcohol polivinilico **(PVA),** para asegurar que la película sea elástica y para evitar que se rompa con facilidad, las concentraciones fueron de 1 y 0.5%.
- ✓ Glicerina **(G),** para asegurar la elasticidad y la impregnación de la película, la concentración fueron de 1 y 0.5 %

Las concentraciones de los diferentes componentes de los tratamientos, se obtuvieron tomando como referencia 100 ml de solución, distribuidos de la siguiente manera: 0.7 g de Q disueltos en ácido acético, para obtener 70 ml de la solución, a lo cual se le agrega 20 ml de Av y se completa con 10 ml del aditivo; obteniéndose una solución al 100% en volumen.

En la siguiente tabla N° 04, se indica los tratamientos en estudio del recubrimiento del limón

Tratamientos	Descripción de los recubrimientos
T_0	Sin recubrimiento (Testigo)
T_1	Q 1.0(g) al 1%
T_2	Q 0.7(g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + PVA 10 ml al 1 %
T_3	Q 0.7(g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + PVA 10 ml al 0.5 %
T_4	Q 0.7(g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 1 %
T_5	Q 0.7(g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 0.5 %
T_6	Q 0.7(g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + G 10 ml al 1 %
T_7	Q 0.7(g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + G 10 ml al 0.5 %
T_8	Q 0.7(g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 1 %
T_9	Q 0.7(g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 0.5 %

3.2.3.8. Aplicación del recubrimiento por inmersión

Los limones fueron inmersos (1500 g. para los tratamiento) por 120 segundos en cada uno de los nueve tratamientos, además, se improvisó con una secadora manual, para una mejor impregnación del recubrimiento a la superficie de la fruta a una temperatura de 50 °C, luego se colocaron 5 unidades de limones que representaban 250 g, éstos se colocaron en charolas de plástico (1 charolas/tratamiento) y se almacenaron a temperatura de refrigeración (5°C) por 15 días, con una humedad relativa de 80±2 %. Previo al almacenamiento se evaluó los parámetros iniciales, y después se estableció evaluar el fruto a los días 4, 8, 12 y 15 días de almacenamiento. Los parámetros evaluados fueron inhibición de hongos (cualitativamente), pH, °Brix, pérdida de peso, acidez Titulable, prueba hedónica.

3.2.3.9. Caracterización de los parámetros a evaluar del limón recubierto

3.2.3.9.1. Análisis físico-químico

- **pH**: Se registró en el día cero, la medida de pH, con un potenciómetro marca (WTW), modelo (3210) el cual determino el grado de acidez en la fruta recubierta partiendo un limón de cada tarrina, utilizando 10 g de zumo, la toma de la temperatura fueron al ambiente y así los días posteriores como son 4, 8, 12 y 15.

- **°Brix:** A todos los limones se les determino el °Brix, midiendo con un refractómetro, para lo cual se colocó unas gotas del zumo en el lente, y los resultados ser comparados con los limones testigos.

- **Pérdida de peso:** Las pérdidas de peso (%PP) fueron determinadas por gravimetría, mediante el registro de los pesos de cada lote en el día 0 (peso inicial - Pi) menos la diferencia en las diferentes fechas de muestreo hasta el día final (Pf) del almacenamiento; las pérdidas acumuladas de peso se expresan como porcentaje de pérdida de peso (%).

- **La Acidez Titulable:** Se determinó usando el método de la AOAC 942.15 (AOAC, 1997), con algunas modificaciones recomendadas, para esto se preparó la solución de NaOH al 1 Normal, así mismo se procedió a extraer jugo de limón, se usó cinco gotas de fenolftaleína como indicador. Se consideró el volumen gastado de NaOH al 1 N hasta cuando la muestra viró a color rosado/grosella. Los resultados se expresaron en % de ácido cítrico, siendo este el ácido orgánico predominante.

- **Intercambio de gases:** este parámetro no se pudo determinar debido a la limitación de los equipos adecuados en el laboratorio donde se desarrolló el trabajo.

- **Prueba hedónica:** Se determinó mediante la participación de estudiantes de IX ciclo de la Escuela Académico Profesional de Agroindustrias. Las variables analizadas fueron:

    - **Color:** El análisis cualitativo de color se pudo medir comparando, la variación de estos, con el transcurrir de los días.

    - **Firmeza:** su determinación se realizó de manera manual a todos los limones evaluados

- **Olor:** este análisis organoléptico se realizó al grupo de limones evaluados de manera conjunta por los panelistas.
- **Acidez (Sabor):** mediante la degustación de los panelistas a través de una escala adecuada.

3.2.3.9.2. Análisis microbiológico

- **Aislamiento de hongos a partir de limón sutil (*Citrus aurantifolia*)**

Se seleccionaron limones con presencia de lesiones superficiales y fueron extraídos de la planta en condiciones asépticas. Se colocaron en bolsas plásticas de primer uso y fueron transportados en cadena de frío hasta el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Tumbes. Para el aislamiento de hongos, los frutos fueron desinfectados mediante lavados consecutivos en solución de lejía al 1% y etanol al 70% y posteriormente lavados en agua destilada estéril hasta la eliminación total de los desinfectantes. Posteriormente se realizaron cortes de 1 cm^2 a partir de la superficie de las lesiones detectadas en el limón, fueron sembradas en placas de Petri con agar papa dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) y cultivadas a temperatura ambiente por 3 a 7 días. Luego los hongos fueron conservados en tubos con agar PDA inclinado y mantenidos en refrigeración hasta su posterior evaluación.

- **Inhibición *in vitro* de hongos con recubrimiento experimental de quitosano y *Aloe vera*.**

Las pruebas de inhibición se realizaron mediante la prueba de difusión en agar PDA. Para esto se realizaron cultivos individuales de los diferentes hongos aislados y fueron enfrentados con discos (6 mm de diámetro) de recubrimientos de quitosano con diferentes concentraciones de extracto de *Aloe vera* y los plastificantes. Las placas de cultivo fueron incubadas a temperatura ambiente por 3 a 5 días y posteriormente se verificó la presencia de halos de inhibición (zonas sin crecimiento

- **Ensayo antifúngico en frutos de *Citrus aurantifolia* infectados con *Cladosporium* sp.**

Se realizó un cultivo de *Cladosporium* sp. en agar PDA, con el fin de obtener esporas viables para la infección de frutos de limón sutil. Cumplido los 7 días de cultivo del hongo, se procedió a separar las esporas en una solución de agua peptonada con 0.5% de Tween 80. Se realizó el recuento de esporas en cámara de Neubauer hasta obtener una concentración de 10^5 esporas/mL. Por otro lado, los limones fueron desinfectados en una batería que contenía hipoclorito de sodio 1%, etanol 70% y agua destilada estéril. La inoculación de las esporas en el limón sutil se realizó por inmersión, se procedió a secar en cámara estéril y se aplicó el recubrimiento de quitosano por impregnación con los tratamientos con mejores resultados de la prueba de inhibición cualitativa (T3, T4 y T6); se evaluaron limones sin tratamiento de desinfección ni recubrimiento (Testigo) y limones desinfectados con inóculo sin recubrimiento (Ti). Los frutos fueron conservados en refrigeración por 20 días y se realizaron recuentos de hongos cada 6 días post inoculación, siguiendo las recomendaciones del Standard Methods (1999) y AOAC Internacional.

3.2.4. Caracterización de los estudios, en las películas

Para poder evaluar las diferentes características de los recubrimientos, se tuvo que formar películas en moldes de acrílico, con lo cual ayudaría a evaluar diferentes propiedades o parámetros que se mencionarán a continuación, a excepción de los que sí se pudieron evaluar en su estado líquido como son densidad y viscosidad.

3.2.4.1. Propiedades físicas

- **Densidad de la emulsión**

Para determinar la densidad relativa del recubrimiento se tuvo que obtener la densidad del recubrimiento en g/ml para lo cual se realiza la prueba por picnómetro. Se procede a pesar el picnómetro vacío y tararlo, luego se tiene que verter la muestra del recubrimiento a medir, se tapará el picnómetro cuando este al ras, desechando así el exceso, se toma el picnómetro con el recubrimiento y se registra el peso en la balanza analítica, teniendo en cuenta el volumen del picnómetro ya utilizado. Una vez obtenido el peso se utiliza los datos para aplicarlos en la fórmula para así conocer la densidad y por lo consiguiente la densidad relativa de cada uno de los recubrimientos.

Para la determinar la densidad relativa se toma como referencia la densidad del agua.

$$densidad\ \rho = \frac{Kg}{L} \qquad \text{..... (9)}$$

$$gravedad\ especifica = \frac{\rho\ sustancia}{\rho\ agua} \qquad \text{..... (10)}$$

- **Viscosidad de la emulsión**

A temperatura ambiente se vertió 15 ml de muestra del recubrimiento dentro del viscosímetro, colocándolo el mismo dentro del equipo termostatizado que estaba lleno de agua destilada, a una temperatura estable de 30ºC. El líquido se vierte en el tubo que tenga mayor diámetro en el viscosímetro hasta que se estabilice y se enrace con el tubo de menor diámetro. Luego se succiona el líquido

con una bombilla de vacío hasta que sobre pase el nivel superior marcado en el viscosímetro. Con mucho cuidado, se retira la bombilla de succión haciendo que el fluido se dilate entre los dos meniscos marcados, controlando así el tiempo que demora en recorrer desde la línea superior hasta la línea inferior. Este valor conocido como tiempo de escollamiento se toma en cuenta, puesto que será posteriormente utilizado en la fórmula. El proceso de repitió 3 veces para obtener una mayor confianza en los datos promediados.

$$\frac{\mu}{\rho} = K.te \qquad \text{..... (11)}$$

$$\mu = \rho K.te \qquad \text{..... (12)}$$

Para completar las variables a fin de aplicar la fórmula se debió tomar como dato, el tiempo de escollamiento del agua a 30ºC, así mismo como las densidades a esa misma temperatura, tanto del agua como de las muestras a utilizar, los cuales son obtenidos mediante tablas.

- **Permeabilidad al vapor de agua de las películas**

Para la determinación de la permeabilidad del vapor de agua, se tomó como referencia la norma ASTM E96M/E96-05 con ciertas modificaciones.

Se utilizó el método desecante, el cual emplea sílica gel. Se llenaron los tubos de ensayo con desecante hasta ¼ pulgadas (6 mm) antes del borde dejando este espacio libre para mezclar la sílica gel durante cada pesado.

Las películas se cortaron en cuadrados de 2.5 cm^2 por triplicado para cada muestra, luego se colocaron en la boca del tubo sellándolos herméticamente con bandas de parafilm, los espacios sobrantes de la película se sellaron con papel aluminio evitando el paso de la luz. Una vez sellados los tubos, se los llevó a un ambiente de una HR constante (75±3%) que se obtuvo colocando una solución saturada de Cloruro de sodio (NaCl) y una temperatura de 28°C. Se esperó 1 hora hasta que las muestras llegaran al equilibrio. Las muestras fueron pesadas el primer día cada hora y durante los siguientes días cada 2 horas y para concluir se tomó un peso diario.

Los cambios de peso fueron registrados en función del tiempo con una tendencia lineal cuya pendiente en unidades de (g/h) representa la cantidad de vapor transmitido por unidad de tiempo.

El análisis se concluyó antes que el desecante excediera el 4% del peso inicial. Los resultados de la permeabilidad al vapor de agua se calcularon con la siguiente ecuación:

- Cálculo del índice de transferencia al vapor de agua:

$$WVT = dm / dt \times 1/A \qquad \ldots\ldots (13)$$

En donde:

WVT = Índice de la transferencia al vapor de agua o coeficiente de transmisión de vapor de agua.
dm/dt = Diferencia de masa a través del tiempo.
A = Área de la película expuesta. (m^2)

❖ Cálculo de permeanza.

$$\text{Permeanza} = WVT / S (R1 - R2) \qquad \ldots\ldots (14)$$

En donde:

S = Presión de vapor de saturación a la temperatura experimental (kpa)

R1 = Humedad relativa de la cámara, en fracción.

R2 = Humedad relativa interna del tubo de prueba, en fracción.

➢ **Determinación de Solubilidad de las películas**

Para la determinación de este ensayo se aplicó la metodología utilizada por Vanegas (2014) con algunas variantes. Se cortaron láminas de las películas con dimensiones de 2.5 x 2.5 cm, se pesaron en una balanza analítica con un margen de error de 0.0001 g y se sumergieron en 80 mL de agua destilada en agitación constante a 100 rpm. Se tuvo cuidado en que la película se mantuviera inmersa durante una hora a temperatura ambiente. La muestra se filtró y se secó a 105 °C, hasta alcanzar peso constante. Se calculó el porcentaje de solubilidad de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%\ Solubilidad = \left[\frac{Pi - Pf}{Pi}\right] x\ 100 \qquad \ldots\ldots (15)$$

En donde:

% Solubilidad = Solubilidad en porcentaje

Pi = Peso inicial seco

Pf = Peso final seco

➢ **Medición del Espesor de las películas**

Para la realización de esta prueba se tomó como referencia la metodología utilizada por Abarca (2002), donde se midió el espesor en diez puntos diferentes de la película, con ayuda de un micrómetro digital y se reportó el promedio de los mismos.

- **Determinación de Humedad en las películas**

  Para el cálculo de la humedad se aplicó la metodología utilizada por Vanegas (2014), donde establece el corte de las películas en láminas de 2.5 x 2.5 cm. Estas muestras se pesaron en una balanza analítica con margen de error de 0.0001 g y se colocaron en una estufa a 105 °C durante 24 horas hasta llegar a peso constante. Cada prueba se realizó por duplicado. Se aplicó la siguiente ecuación.

  $$\% \text{ Humedad} = Pi - Pf / Pi \times 100 \quad \ldots\ldots (16)$$

  En donde:
  % Humedad = Porcentaje de humedad de las películas (%)
  Pi = Peso inicial de la película.
  Pf = Peso final de la película.

3.2.4.2. Propiedades de biodegradación.

3.2.4.2.1. Lugar de prueba

Estas pruebas se realizaron basada en la metodología propuesta por Rutiaga (2002) con algunas modificaciones, y se llevó a cabo en el vivero de la Escuela Profesional de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente de la Universidad Nacional de Tumbes. Este lugar se eligió debido a la cercanía con el laboratorio donde se pesaron las muestras y el control sobre el acceso al público.

3.2.4.2.2. Caracterización de la biodegradabilidad anaeróbica (12cm)

- **Preparación de las muestras**

  Se cortaron de los films, 3 cuadros de 2.5 x 2.5 cm cada uno, se registró el peso inicial de cada cuadro, para luego formar grupos de

tres repeticiones por cada una de las películas. Los cuadros se colocaron en hoyos, que se habían hecho en la tierra, a una profundidad de 12 cm, con divisiones de cartones como celdas, para evitar una posible confusión a la hora de retirar las muestras, una vez posicionados en orden se enterraron hasta el día de la siguiente evaluación. Las muestras se extrajeron a los 0, 2, y 4 días de exposición para determinar nuevamente su peso.

- **Pérdida de peso**

Los cuadros recuperados, se limpiaron cuidadosamente con la ayuda de un pincel para quitar el exceso de tierra que pudiera estar adherida en los cuadros, para luego calcular su peso (g) en la balanza analítica, utilizando para este trabajo guantes y mascarilla para evitar una posible contaminación.

Se calculó la pérdida de peso según la siguiente fórmula:

$$\%Pp = (Pi - Pf/\ Pi) \times 100 \qquad \ldots\ldots (18)$$

3.2.4.2.3. Caracterización aeróbica (2 cm) en suelo

- **Preparación de las muestras**

Se cortaron de los films, 3 cuadros de 2.5 x 2.5 cm cada uno, se registró el peso inicial de cada cuadro, para luego formar grupos de tres repeticiones por cada una de las películas. Los cuadros se colocaron en hoyos, que se habían hecho en la tierra, a una profundidad de 2 cm, con divisiones de cartones como celdas, para evitar una posible confusión a la hora de retirar las muestras, una vez posicionados en orden se enterraron hasta el día de la siguiente evaluación. Las muestras se extrajeron a los 0, 2, y 4 días de exposición para determinar nuevamente su peso.

- **Pérdida de peso**

  Los cuadros recuperados, se limpiaron cuidadosamente con la ayuda de un pincel para quitar el exceso de suelo para luego determinar su peso (g), utilizando para este trabajo guantes y mascarilla para evitar una posible contaminación.

  Se calculó la pérdida de peso según la siguiente fórmula:

$$\%Pp = (Pi - Pf / Pi) \times 100 \qquad \ldots\ldots (19)$$

3.2.3.3. Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de los recubrimientos en la superficie del limón y las películas de este recubrimiento, se utilizó un diseño completamente al azar, donde los tratamientos se muestran en las siguientes tablas .Este modelo fue empleado para evaluar las diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a sus propiedades físicas y mecánicas.

Al determinar diferencia significativa, se utilizó la prueba de Tuckey.

CAPITULO IV
RESULTADOS

4.1. Resultados de las propiedades en estudio del limón recubierto

4.1.1. Resultados Físico-químicos, Hedonicos, Físicos, y Microbiológicos

4.1.1.1. Resultados físico-químico

- **pH**

Según se observa en la tabla en el anexo N° 05, el T_5 es el tratamiento mediante el cual el pH se mantiene casi constante en el periodo de evaluación; es decir, el recubrimiento mantiene constante la acidez en el tiempo.

También se puede observar, en las pruebas realizadas, que con el T_8, se obtiene la mayor variación de pH, desde 1,83 el primer día hasta 2,1 el día quince. Además, se tiene que durante el periodo de evaluación, la variación de pH en el testigo es desde 1,84 hasta 2,1.

- **°Brix**

De las pruebas realizadas se observa que el T_3 y T_4 son los tratamientos en que el °Brix se mantiene constante; es decir, el recubrimiento permite que los sólidos disueltos no tengan variación significativa.

También en la tabla en el anexo N° 04 se precisa que el testigo tiene una variación de °Brix desde 7,5 hasta 8,5 durante el periodo de evaluación. Además el T_4 es el tratamiento mediante el cual se obtiene la menor variación de °Brix.

- **Pérdida de peso**

  En la tabla del anexo N° 06, se observa que el T_2 es el tratamiento mediante el cual se pierde la menor cantidad de peso. Asimismo se precisa que el testigo tiene un promedio de 78 % de pérdida de peso en el periodo de evaluación. Del mismo modo se observa que el T_6 es el tratamiento en el cual se obtiene la mayor pérdida de peso.

- **Acidez Titulable**

  Según la tabla en el anexo N° 07 se observa que los tratamientos T_2 y T_3 mantienen el grado de acidez, como porcentaje de ácido cítrico. Así mismo observamos que en el caso del testigo la disminución de acidez es considerable respecto a los tratamientos anteriores. Además el T_9 resulta ser el tratamiento con el cual se obtiene el menor grado de acidez.

  - Para éstos 4 parámetros no se realizó el estudio estadístico de análisis de varianza, ya que los resultados obtenidos no varían mucho, según se puede observar en las tablas de anexos donde se encuentran los resultados; por lo que se obviaron por salir como no significativos.

- **Prueba hedónica.**

  Según las tablas de datos y su análisis de varianza en anexos, demuestran que no hay diferencia significativa entre los tratamiento respecto a las características organolépticas que se utilizaron en el producto.

4.1.1.2. Resultados del análisis microbiológico

- **Aislamiento de hongos a partir de limón sutil (*Citrus aurantifolia*).**

  Se aislaron dos géneros de hongos, que fueron identificados mediante clave dicotómica como *Penicillium* sp y *Cladosporium sp*

.

- **Inhibición *in vitro* de hongos con recubrimiento experimental de quitosano y *Aloe vera*.**

  Se enfrentó *in vitro* películas de quitosano con diferentes tratamientos con *Aloe vera*, con los hongos *Penicillium* sp y *Cladosporium sp*., resultando una mayor inhibición frente a este último. Los tratamientos que mayor efecto de inhibición fueron los tratamientos T3, T4 y T6

- **Ensayo antifúngico en frutos de limón sutil (*Citrus aurantifolia)* infectados con *Cladosporium* sp.**

Tabla N° 05 Ensayo antifúngico

Tratamiento	Recuento de hongos (UFC/25 g)			
	Inóculo	Día 6	Día 12	Día 19
Testigo	-	<1.00E+02	3.50E+02	1.50E+02
T(inóculo)	4.50E+05	3.00E+02	1.00E+03	2.70E+03
T3		1.00E+02	<1.00E+02	1.00E+02
T4		1.00E+03	2.00E+02	4.50E+02
T6		5.00E+02	5.00E+01	3.00E+02

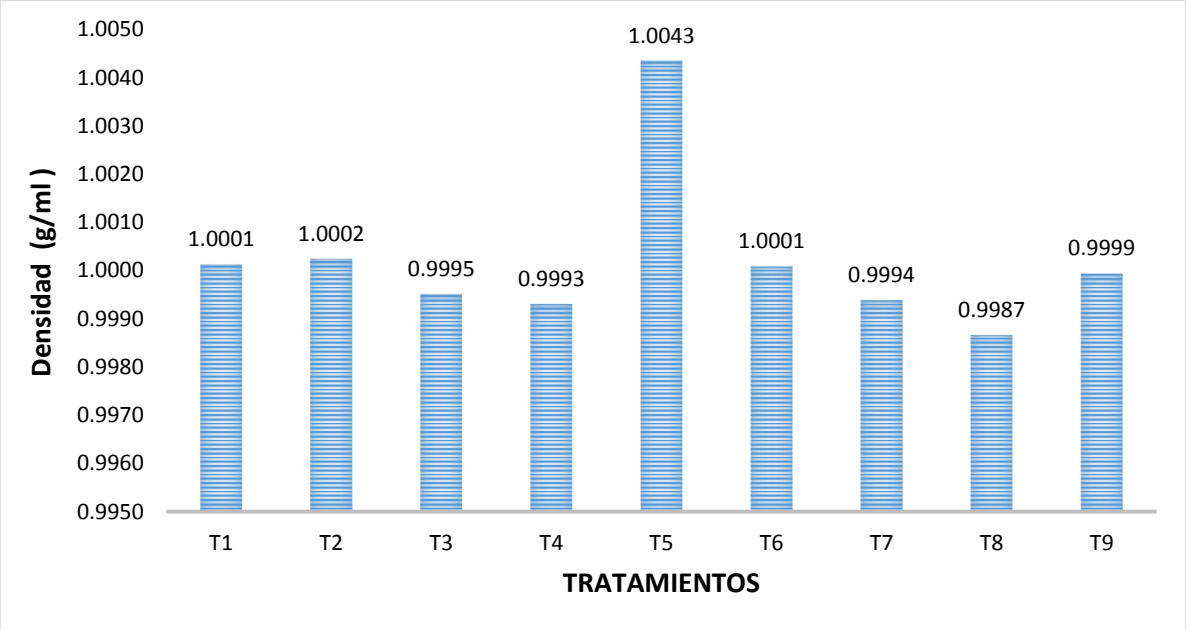
4.1.1.3. Resultados físicos

- **Densidad del recubrimiento**

En el gráfico Nº 01, se puede observar que el mayor valor para la densidad del recubrimiento le corresponde al T5; es decir, Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 0.5 %. El rango de variación para la densidad es de 1.0043 a 0.9987 g/ml. Así se observa que el valor menor corresponde al tratamiento 8 Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 1 %

También se observa que los mayores valores se dan usando PVA como plastificante, contrario al uso de glicerina, con lo cual se obtienen valores menores.

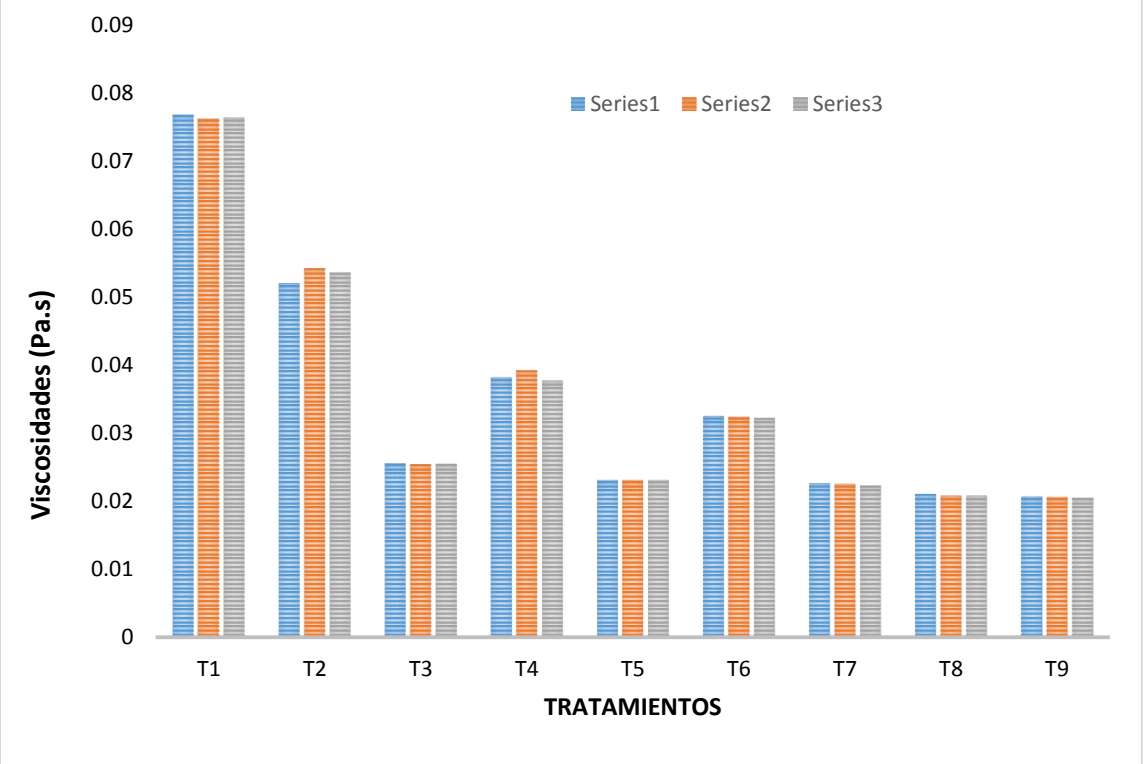
Gráfico N° 01. Densidad del recubrimiento (g/ml)



- **Viscosidad del recubrimiento**

En el gráfico Nº 02, se puede observar que el mayor valor para la viscosidad del recubrimiento le corresponde al T1; es decir, al quitosano puro. El rango de variación para la variación es de 0.0769 a 0.0206 Pa.s. Así mismo observa que el T9 es el tratamiento que muestra el menor valor de viscosidad para el recubrimiento.

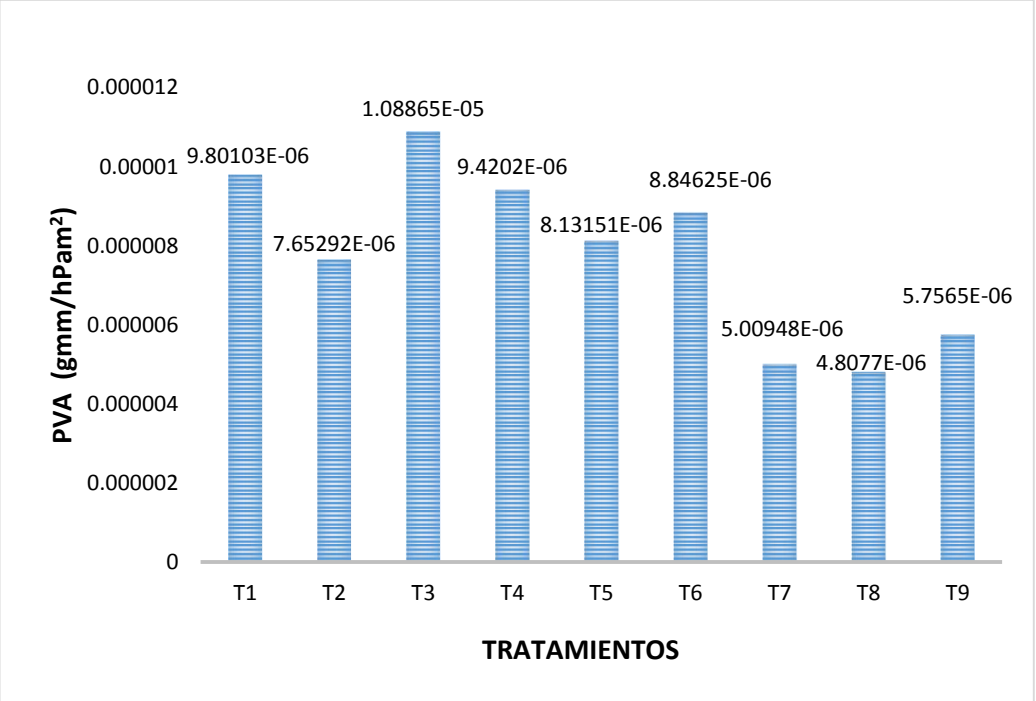
Gráfico N° 02. Viscosidad del recubrimiento (Pa.s)



- **Permeabilidad al Vapor de Agua**

Se observó que T3 es el tratamiento mediante el cual el recubrimiento tiene la mayor permeabilidad; así mismo el T8 resulta ser el tratamiento con menor permeabilidad, en el periodo de evaluación; tal como se muestra en el gráfico N° 03. Todas estas determinaciones se hicieron a una temperatura promedio de 26,5 °C.

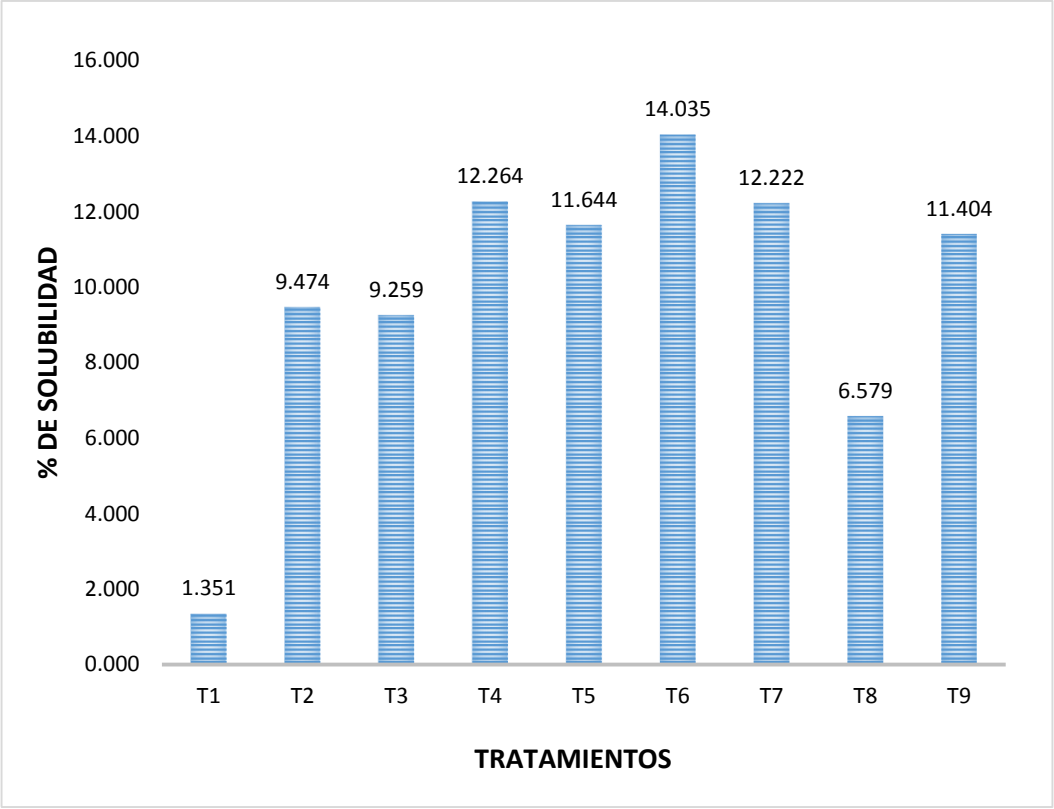
Gráfico N° 03. Permeabilidad al Vapor de Agua



- **Solubilidad**

Según se observa en el gráfico N° 04, el T1 es el tratamiento que resulta ser menos soluble para la prueba del recubrimiento en agua. Así mismo el T6 es el tratamiento que muestra la mayor solubilidad del recubrimiento.

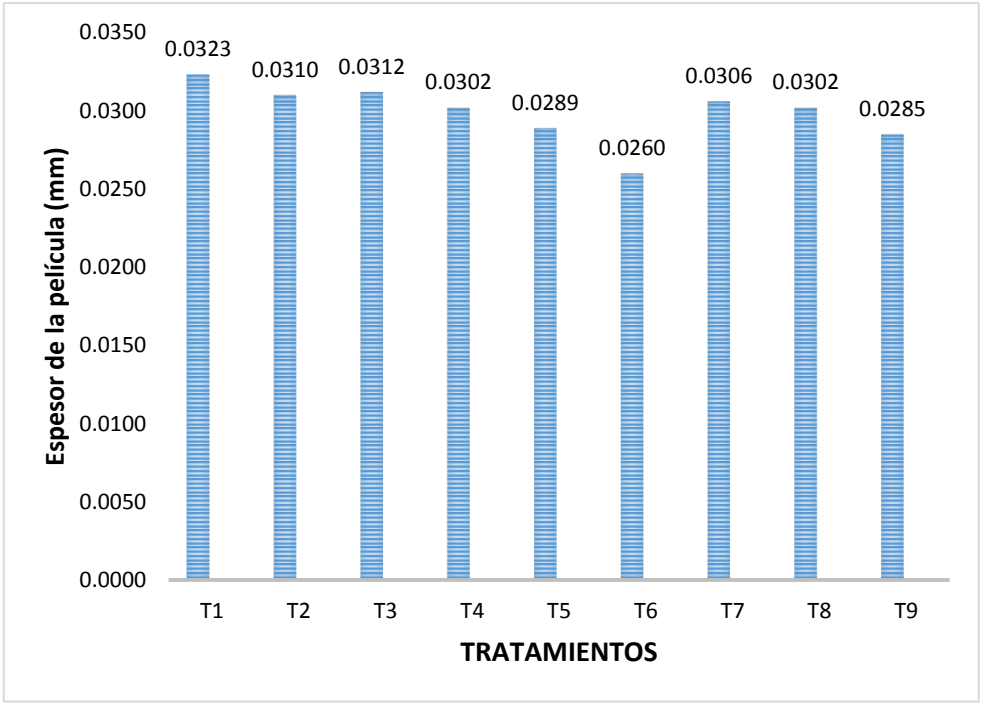
Gráfico N° 04. Solubilidad de las películas en (%)



- **Espesor**

Como se puede apreciar en el gráfico Nº 05, en el espesor del recubrimiento producido, se observó que el resultado mayor corresponde al T1, es decir, a la película con solo quitosano. Los valores del espesor oscilan entre 0,0323 y 0,026 mm. En los tratamientos T5, T6 y T9, el espesor disminuye al incrementar la concentración de plastificante. En segundo orden de espesor corresponde al T2, en el cual están presentes, aloe vera al 10% y PVA al 1 %; es probable que una mayor concentración moderada de aloe vera combinado con una baja concentración de PVA, generen una mayor cantidad de solidos permanentes en la película provocando un mayor espesor.

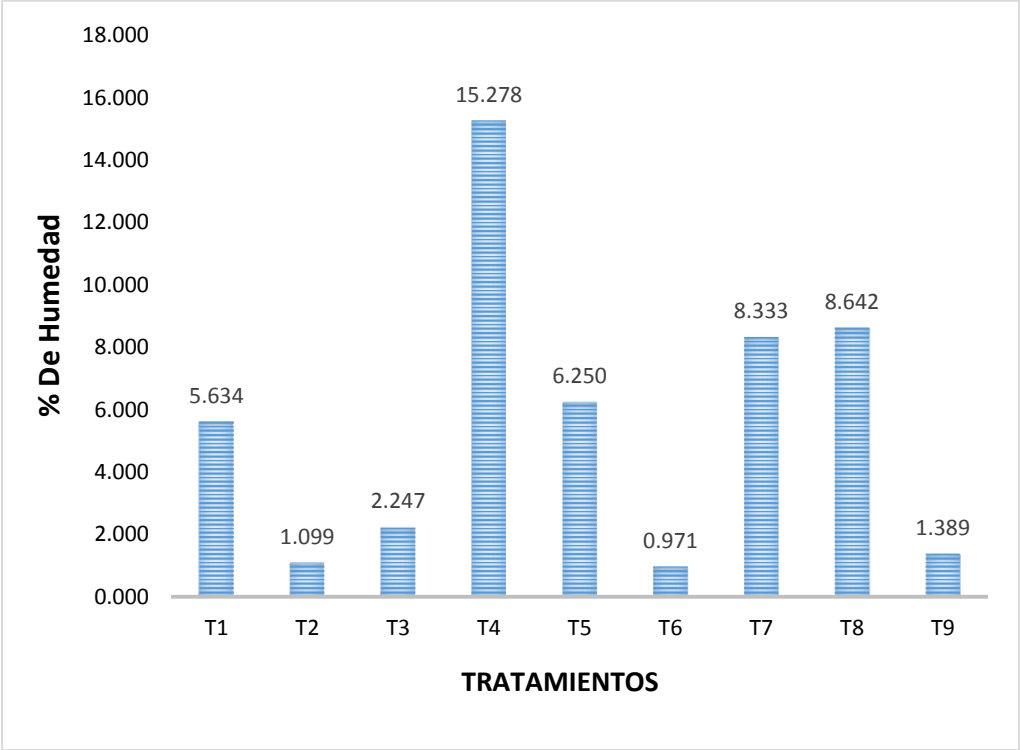
Gráfico N° 05. Espesor del recubrimiento en (mm)



- **Humedad**

En el grafico N° 06, se muestra que el T4 es la combinación mediante la cual el recubrimiento pierde la mayor cantidad de humedad. Así mismo se observa que el T6 es el tratamiento en el cual se pierde la menor cantidad de humedad

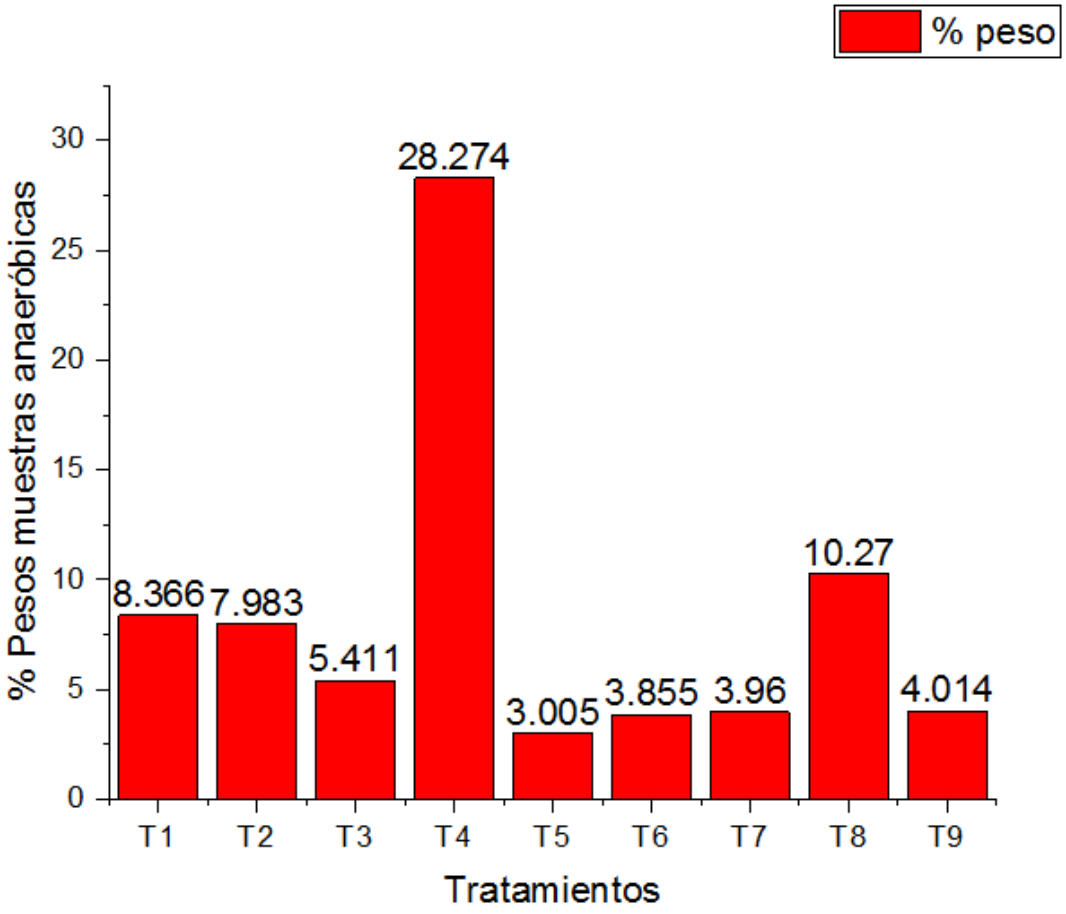
Gráfico N° 06. Humedad de las películas en (%)



- **Biodegradabilidad anaeróbica (12 cm)**

Según se observa en el gráfico N° 07, el T4 es el tratamiento que muestra el mayor porcentaje de biodegradabilidad anaeróbica en el periodo de estudio. Así mismo el T5 es el tratamiento con el menor nivel de biodegradabilidad en el periodo de estudio.

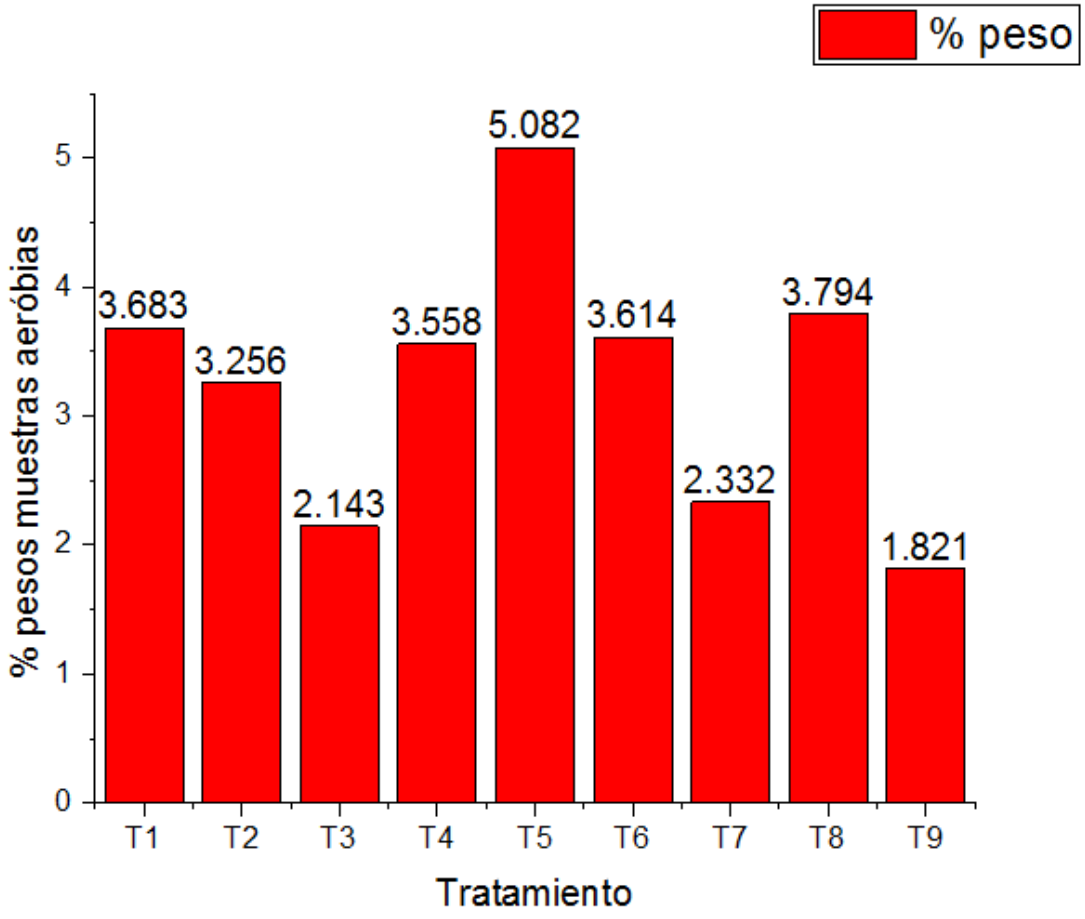
Gráfico N° 07. Biodegradación anaeróbica en (%)



- **Biodegradabilidad aeróbica (2 cm)**

Según se observa en el gráfico N°08, el T5 es el tratamiento que muestra el mayor porcentaje de biodegradabilidad aeróbica en el periodo de estudio. Así mismo el T9 es el tratamiento con el menor nivel de biodegradabilidad en el periodo de estudio.

Gráfico N° 08. Biodegradación aeróbica



CAPITULO V
DISCUSIONES

5.1. Propiedades físico-químicas del limón recubierto.

- **pH**

El grado de acidez en el testigo, es decir la fruta sin recubrimiento tiene una variación significativa desde 1.84 hasta 2.10; esto significa que la fruta se ve afectada por los factores medio ambientales.

La combinación realizada en el tratamiento 5, compuesta por (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 0.5 %); es la que muestra un comportamiento constante en el grado de acidez, contrastando con el tratamiento 8, (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 1 %), en el cual la acidez varia de 1.83 hasta 2.10.

En este caso el tratamiento 5 es la combinación que proporcionaría al fruto la posibilidad de mantener su grado de acidez sin una variación significativa, lo que complementaria la postcosecha de este producto

- **°Brix**

La presencia de solidos disueltos caracteriza a los °Brix. En este caso el testigo muestra una variación de 7.5 a 8.0 °Brix, lo que significa que estaría incrementando el nivel solidos disueltos afectando en este caso el grado de acidez de la fruta.

El tratamientos 8 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 1 %) y el tratamiento 9 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 0.5 %), constante los valores de °Brix, lo que aseguraría que estos recubrimientos protejan las sensibilidad de la fruta al incremento de los sólidos disueltos.

Por el contrario el tratamiento 4 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 1 %), es el que muestra, en el periodo de estudio, el mayor grado de variación de °Brix, por lo que no es recomendable usarlo como recubrimiento, puesto que no protegería a la fruta en la variación de los sólidos disueltos.

- **Pérdida de peso.**

La pérdida de peso en la fruta resulta de gran importancia, tanto para su apariencia, conservación de sus propiedades físicas como para su valor comercial.
En el periodo de estudio, se observó que el testigo llego a tener un promedio de 78 % de pérdida de peso, situación que justifica totalmente el uso de un recubrimiento.

El tratamiento 2 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + PVA 10 ml al 1 %), es la combinación que permite la menor pérdida de peso, siendo recomendable su aplicación puesto que permitiría la conservación de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de la fruta.

El tratamiento 6 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + G 10 ml al 1 %), es el recubrimiento que muestra en el periodo de estudio la mayor pérdida de peso por lo que no es apropiado su aplicación, ya que no estaría brindando la protección necesaria a la fruta.

- **Acidez Titulable**

Al aplicar el recubrimiento según los tratamientos T2 y T3 se observa que el porcentaje de ácido cítrico se mantiene en el limón recubierto, contrastando claramente con lo que sucede con el testigo en el cual la disminución de acidez es significativa

- **Hedónica**

Al realizar el procesamiento estadístico de los datos obtenidos en la prueba hedónica se observa que el resultado es NS (no significativo), lo que indica que hubo concordancia de criterios entre los panelistas que realizaron la prueba y así mismo el producto presenta uniformidad en sus propiedades

5.2. Características microbiológicas

En el análisis microbiológico se comprueba la importancia del recubrimiento, puesto que después de ser inoculado el limón sutil, se obtiene como resultado que el T3 mantiene de manera positiva la inhibición al crecimiento de UFC de *cladosporium sp*, a diferencia de los limones infectados con el inóculo sin recubrimiento (Ti); en los cuales se observa que el recuento de UFC tiene un crecimiento significativo. Asimismo en limones sin tratamiento de desinfección ni recubrimiento (Testigo), se observa un crecimiento sin uniformidad en el recuento de UFC; lo cual indica que la estructura del limón es afectada por la presencia de estos hongos.

5.3. Propiedades físicas de la película.

- **Densidad del recubrimiento**

Es importante que el recubrimiento tenga un nivel de adherencia apropiado en la fruta. La combinación obtenida en el tratamiento 8 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 1 %), es la que permite obtener el menor valor de densidad para el recubrimiento, lo cual permite que este tenga un grado de adherencia apropiado a la fruta, manteniendo la apariencia física y textura de la fruta.

Por el contrario el tratamiento 5 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 0.5 %), resulta ser el menos apropiado ya que con él se obtiene un alto valor de densidad, que no serviría para una adherencia correcta a la fruta.

Análisis de varianza para densidad

Tabla N° 06: Análisis de Varianza de densidad (g/ml) de las Películas

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*significancia*
Entre grupos	0.07873245	8	0.00984156	81.0171309	1.77889E-07	3.22958261	Sig.
Dentro de los grupos	0.00109328	9	0.00012148				
Total	0.07982572	17					

En la prueba de análisis de varianza para densidad se observa que existe diferencia significativa en el conjunto de tratamientos a un nivel de significancia de 5%.

Tabla N° 07: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la densidad de la película

TABLA RESUMEN PRUEBA TUKEY			
Tratamientos	Concentraciones de tratamientos	Densidad (g/ml)	Tukey (5%)
T2	Q 1% - Av 10% - PVA 1%	10.1792	a
T1	Q 1%	10.1786	a
T7	Q 1% - Av 10% - G 0.5%	10.1749	a
T4	Q 1% - Av 15% - PVA 1%	10.1745	a
T6	Q 1% - Av 10% - G 1%	10.1024	b
T9	Q 1% - Av 15% - G 0.5%	10.1017	b
T3	Q 1% - Av 10% - PVA 0.5%	10.0995	b
T5	Q 1% - Av 15% - PVA 0.5%	10.0217	c
T8	Q 1% - Av 15% - G 1%	9.9933	c

La prueba de Tukey nos indicó que el tratamiento T2 es significativamente diferente con los tratamientos, T6, T9, T3, T5 y T8 pero no con el tratamiento T1, T7, T4, ocupando el primer orden; también el tratamiento T6 es significativamente diferente a los tratamientos T5, T8 pero no con los tratamientos T9 y T3, ocupando el segundo orden; además el tratamiento T5 no es significativamente diferente del tratamientos T8, ocupando el tercer orden. Respecto a la densidad.

- **Viscosidad del recubrimiento**

Para esta propiedad el recubrimiento debe mostrar valores que permita la fluidez de su aplicación a la fruta.

La combinación mostrada en el tratamiento 9 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 0.5 %) muestra el valor más apropiado para el recubrimiento es decir mediante el cual la película se puede adherir con mayor facilidad a la fruta. Por otro lado el tratamiento 1

(Q 1.0 (g) al 1%) muestra el valor mayor de viscosidad, lo que resulta inapropiada para su aplicación en la fruta.

El la gráfica N° 02. También se observa que el uso del plastificante glicerina da resultados de viscosidad más apropiados para la aplicación del recubrimiento.

Análisis de varianza para viscosidad

Tabla N° 08: Análisis de Varianza de viscosidad (Pa.s) de las Películas

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*significancia*
Entre grupos	0.00860111	8	0.00107514	4720.1195	2.78014E-28	2.5101579	Sig.
Dentro de los grupos	0.0000041	18	2.2778E-07				
Total	0.00860521	26					

En la prueba de análisis de varianza para viscosidad, se observa que existe diferencia altamente significativa en el conjunto de tratamientos a un nivel de significancia de 5%.

Tabla N° 09: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la viscosidad

TABLA RESUMEN PRUEBA TUKEY			
Tratamientos	Concentración de Tratamientos	Viscosidad (Pa.s)	Tukey (5%)
T1	Q1%	0.07657	a
T2	Q1% - Av 10% - PVA 1%	0.05337	b
T4	Q1% - Av 15% - PVA 1%	0.02560	c
T6	Q1% - Av 10% - G 1%	0.03847	d
T3	Q1% - Av 10% - PVA 0.5%	0.02320	e
T5	Q1% - Av 15% - PVA 0.5%	0.03247	f
T7	Q1% - Av 10% - G 0.5%	0.02257	fg
T8	Q1% - Av 15% - G 1%	0.02097	g
T9	Q1% - Av 15% - G 0.5%	0.02070	g

La prueba de Tukey nos indicó que el tratamiento T1 es significativamente diferente con los tratamientos, T2, T4, T6, T3, T5, T7, T8, T9, ocupando el primer orden; el tratamiento T2 es significativamente diferente a los tratamientos T4, T6, T3, T5, T7, T8, T9, ocupando el segundo orden; el tratamiento T4 es significativamente diferente los tratamientos T8, T6, T3, T5, T7, T8, T9,ocupando el tercer orden, el tratamiento T6 es significativamente diferente a los tratamientos T3, T5, T7, T8, T9, ocupando el cuarto orden, el tratamiento T3 es significativamente diferente a los tratamientos T5, T7, T8, T9, ocupando el quinto orden, el tratamiento T5 es significativamente diferente a los tratamientos T8, T9, pero no con el tratamiento T7 ocupando el sexto orden, el tratamiento T7 no es significativamente diferente T8 y T9; Con respecto a la viscosidad.

- **Permeabilidad al vapor de agua**

Entendiendo por permeabilidad al vapor de agua, la resistencia al flujo de vapor que debe mostrar el recubrimiento, a efectos de evitar la pérdida de peso; resulta que los tratamientos 3 (Q 0.7 (g) al 1% + Av 20 ml 10%+ PVA 10 ml 0.5%) y tratamiento1 son los más apropiados para mantener el equilibrio de la fruta respecto a su humedad.

Por el contrario los tratamientos 4 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 1 %) y tratamiento 7 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + G 10 ml al 0.5 %), resultan ser los menos apropiados porque retienen menor cantidad de vapor de agua y por consiguiente no evitan la pérdida de peso correspondiente.

Análisis de varianza para la permeabilidad al vapor

Tabla N° 10: Análisis de Varianza de la permeabilidad al vapor

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*Significancia*
Entre grupos	7.28159851	8	0.91019981	34.16119	1.44063E-14	2.20851807	Sig.
Dentro de los grupos	0.95919346	36	0.02664426				
Total	8.24079198	44					

En la prueba de análisis de varianza para la permeabilidad al vapor de agua, se observa que existe diferencia altamente significativa en el conjunto de tratamientos a un nivel de significancia de 5%.

Tabla N° 11: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la permeabilidad al vapor

TABLA N° 3: PRUEBA TUKEY PARA PERMEABILIDAD			
Tratamientos	Concentración de Tratamientos	Permeabilidad al vapor (g)	Tukey (5%)
T3	Q1% - Av 10% - PVA 0.5%	15.6906	a
T1	Q1%	15.6345	ab
T5	Q1% - Av 15% - PVA 0.5%	15.6056	ab
T2	Q1% - Av 10% - PVA 1%	15.4627	ab
T6	Q1% - Av 10% - G 1%	15.4611	ab
T9	Q1% - Av 15% - G 0.5%	15.3411	b
T8	Q1% - Av 15% - G 1%	14.7678	c
T4	Q1% - Av 15% - PVA 1%	14.7032	c
T7	Q1% - Av 10% - G 0.5%	14.6510	c

La prueba de Tukey nos indicó que el tratamiento T3 es significativamente diferente con los tratamientos, T9, T8, T4 y T7 pero no con los tratamientos T1, T5, T2, T6, ocupando el primer orden; también el tratamiento T1 es significativamente diferente a los tratamientos T8, T4, T7, pero no con los tratamientos T5, T2, T6, T9, ocupando el segundo orden; además el tratamiento T8 es no es significativamente T4 y T7 ocupando el tercer orden. Respecto a la permeabilidad.

- **Solubilidad de película**

El recubrimiento debe tener una consistencia física apropiada que impida que ante incrementos de humedad pierda el objetivo principal de conservar las propiedades intrínsecas e extrínsecas de la fruta.

El tratamiento 1 Q 1.0 (g) al 1% aparece como el más apropiado puesto nos brinda el valor más bajo de solubilidad, asegurando con eso la conservación del recubrimiento y por consiguiente la conservación de la fruta.

En el otro extremo se tiene al tratamiento 6 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + G 10 ml al 1 %), que muestra un alto valor de solubilidad que no permitiría mantener adecuadamente las propiedades de la fruta.

Análisis de varianza para la solubilidad

Tabla N° 12: Análisis de Varianza para la solubilidad

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*significancia*
Entre grupos	2.9885E-05	8	3.7356E-06	24.211	6.6927E-14	2.152	Sig.
Dentro de los grupos	6.9433E-06	45	1.543E-07				
Total	3.6828E-05	53					

En la prueba de análisis de varianza para la solubilidad, se observa que existe diferencia significativa en el conjunto de tratamientos a un nivel de significancia de 5%.

Tabla N° 13: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la solubilidad

TABLA RESUMEN PRUEBA TUKEY			
Tratamientos	Concentraciones de Tratamientos	Solubilidad (g)	Tukey (5%)
T1	Q1%	0.0049	a
T5	Q1% - Av 15% - PVA 0.5%	0.0046	a
T9	Q1% - Av 15% - G 0.5%	0.0036	b
T6	Q1% - Av 10% - G 1%	0.0035	bc
T3	Q1% - Av 10% - PVA 0.5%	0.0034	bcd
T4	Q1% - Av 15% - PVA 1%	0.0033	bcde
T2	Q1% - Av 10% - PVA 1%	0.0030	cde
T7	Q1% - Av 10% - G 0.5%	0.0028	de
T8	Q1% - Av 15% - G 1%	0.0025	e

La prueba de Tukey nos indicó que el tratamiento T1 es significativamente diferente con los tratamientos, T9, T6, T3, T4, T2, T7, T8 pero no con el tratamiento T5, ocupando el primer orden; también el tratamiento T9 es significativamente diferente a los tratamientos T2, T7, T8, pero no con los tratamientos T6, T3, T4, ocupando el segundo orden; el tratamiento T6 es significativamente diferente de los tratamientos T7, T8, pero con los T3, T4, T2 ocupando el tercer orden; el tratamiento T3 es significativamente diferente al T8, pero no con el T4, T2, T7, ocupando el cuarto orden, el tratamiento T4 no es significativamente diferente de los tratamientos T2, T7, T8, ocupando el quinto orden. Respecto a la solubilidad.

- **Espesor**

Según se observa en los diferentes tratamientos, el T1 resultaría el menos recomendable para ser utilizado como recubrimiento, debido a su mayor espesor. Así mismo el tratamiento T6 es el que muestra el espesor más recomendable, ya que permitiría cumplir con las propiedades de apariencia de la fruta, intercambio de gases y solubilidad.

La concentración del plastificante tiene influencia en el espesor de la película biodegradable, como se muestra en la gráfica N° 08, y en este caso, se hace más notoria la acción de la glicerina frente al PVA.

Así los tratamientos con glicerina obtuvieron valores más bajos como son 0.0285 y 0.0260 mm, a diferencia de la mezcla que tiene PVA que presento valores de espesor más altos en las concentraciones de 1.0 y 0.5%, con valores de 0.0310 y 0.0312 mm respectivamente. Los valores obtenidos en el presente trabajo son similares a los obtenidos por Adetunji y otros (2014), en donde se concluyó que la mezcla que utiliza quitosano con gel de Aloe vera podría ser utilizada como un recubrimiento para pepino y servir como alternativa a la post-cosecha.

Análisis de varianza para Espesor

Tabla N° 14: Análisis de Varianza del Espesor (mm) de las Películas

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*significancia*
Entre grupos	0.00027593	8	3.4491E-05	0.55460619	0.811701613	2.05488162	ns
Dentro de los grupos	0.0050374	81	6.219E-05				
Total	0.00531332	89					

Los resultados analizados en el ANOVA para el espesor de las películas utilizando un diseño en bloques completamente al azar, indican que no existe diferencia altamente significativa entre los diferentes tipos de tratamientos y también entre sus diferentes concentraciones para el espesor de las películas. Con un valor de F entre tratamientos y bloques de 0.5546 y 2.0548 respectivamente**.**

- **Humedad**

La presencia de un determinado nivel de humedad garantiza que el peso se mantenga constante en la película.

Se observa que el tratamiento 6 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 10% + G 10 ml al 1 %) es el más adecuado puesto que muestra la menor pérdida de peso por disminución de humedad; con lo cual el recubrimiento mantiene la propiedad de proteger a la fruta en lo referente a la conservación de sus propiedades.

Así mismo el tratamiento 4 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 1 %), resulta ser el menos adecuado ya que muestra una mayor pérdida de peso, con lo cual el recubrimiento no estaría cumpliendo la protección a la fruta con su consiguiente disminución de peso.

Tabla N° 15: Análisis de Varianza para la humedad

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*significancia*
Entre grupos	2.4568E-05	8	3.071E-06	7.3928	3.12477E-06	2.1521	Sig.
Dentro de los grupos	1.8693E-05	45	4.1541E-07				
Total	4.3261E-05	53					

En la prueba de análisis de varianza para la humedad, se observa que existe diferencia significativa en el conjunto de tratamientos a un nivel de significancia de 5%.

Tabla N° 16: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la humedad

TABLA RESUMEN PRUEBA TUKEY			
Tratamientos	Concentración de Tratamientos	Humedad (g)	Tukey (5%)
T1	Q1%	0.0048	a
T5	Q1% - Av 15% - PVA 0.5%	0.0045	a
T4	Q1% - Av 15% - PVA 1%	0.0036	a
T9	Q1% - Av 15% - G 0.5%	0.0036	a
T6	Q1% - Av 10% - G 1%	0.0035	b
T3	Q1% - Av 10% - PVA 0.5%	0.0031	c
T2	Q1% - Av 10% - PVA 1%	0.0030	c
T7	Q1% - Av 10% - G 0.5%	0.0030	c
T8	Q1% - Av 15% - G 1%	0.0027	c

La prueba de Tukey nos indicó que el tratamiento T1 es significativamente diferente con los tratamientos, T6, T3, T2, T7 y T8 pero no con los tratamientos T5, T4, T9, ocupando el primer orden; el tratamiento T6 es significativamente diferente a los tratamientos T3, T2, T7, T8, ocupando el segundo orden; además el tratamiento T3 es no es significativamente diferente de los tratamientos T2, T7 y T8 ocupando el tercer orden. Respecto a la humedad.

5.3. Propiedades de biodegradación de la película.

- **Biodegradabilidad anaeróbica (12 cm)**

Es importante que los componentes del recubrimiento tengan un alto índice de biodegradación anaeróbica, con lo cual se asegura que los residuos de la fruta donde esta adherido no generen contaminación significativa del ambiente.

El tratamiento 4 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 1 %), es el que muestra en el periodo de estudio, la combinación más adecuada, ya que permite la mayor biodegradación, con lo cual los residuos de los limones recubiertos serian degradados en un corto tiempo, evitando la generación de contaminación al ambiente y asimilándose al lugar donde son depositados.

En cambio el tratamiento 5 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 0.5 %), en el periodo de estudio, resulta ser el menos apropiado, pues su porcentaje de biodegradación es bajo, lo que significa que los residuos del recubrimiento tardarían en degradarse o no se degradarían, causando la consiguiente contaminación del ambiente donde se depositen.

Análisis de varianza para la Biodegradabilidad anaeróbica (12 cm)

Tabla N° 17: Análisis de Varianza para la Biodegradabilidad anaeróbica (12 cm)

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*significancia*
Entre grupos	0.00066403	8	8.3003E-05	17.163583	0.000135959	3.22958261	Sig.
Dentro de los grupos	4.3524E-05	9	4.836E-06				
Total	0.00070755	17					

En la prueba de análisis de varianza para la Biodegradabilidad anaeróbica (12 cm), se observa que existe diferencia significativa en el conjunto de tratamientos a un nivel de significancia de 5%.

Tabla N° 18: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la Biodegradabilidad anaeróbica (12 cm)

TABLA RESUMEN PRUEBA TUKEY			
Tratamientos	Concentración de Tratamientos	Biodegrad. Anaerobia Pro. (g)	Tukey (5%)
T8	Q1% - Av 15% - G 1%	0.0321	a
T2	Q1% - Av 10% - PVA 1%	0.0309	a
T5	Q1% - Av 15% - PVA 0.5%	0.0280	a
T1	Q1%	0.0277	a
T4	Q1%- Av 15% - PVA 1%	0.0259	a
T9	Q1% - Av 15% - G 0.5%	0.0191	a
T7	Q1% - Av 10% - G 0.5%	0.0168	a
T3	Q1% - Av 10% - PVA 0.5%	0.0154	a
T6	Q1% - Av 10% - G 1%	0.0138	a

La prueba de Tukey nos indicó que los tratamientos no tienen diferencia significativa relevante entre sí.

- **Biodegradabilidad aeróbica (2 cm)**

  Es importante que el recubrimiento tenga un alto índice de biodegradación aeróbica, lo que permite que sus residuos no generen contaminación significativa del ambiente donde es depositado.

  El tratamiento 5 (Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + PVA 10 ml al 0.5 %), resulta ser en el periodo de estudio, la combinación más adecuada, ya que obtiene la mayor biodegradación, lo cual permite que los residuos de los limones recubiertos sean degradados en un corto tiempo, evitando la generación de contaminación al ambiente y asimilándose al lugar donde son depositados.

  En cambio el tratamiento 9 Q 0.7 (g) al 1 % + Av 20 ml al 15% + G 10 ml al 0.5, en el periodo de estudio, es el menos apropiado, debido a su bajo porcentaje de biodegradación, lo que significa que los residuos del recubrimiento tardarían en degradarse aerobicamente, causando la consiguiente contaminación del ambiente donde se depositen.

Análisis de varianza para la Biodegradabilidad aeróbica (2 cm)

Tabla N° 19: Análisis de Varianza para la Biodegradabilidad aeróbica (2 cm)

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*significancia*
Entre grupos	0.00067074	8	8.3843E-05	178.131082	5.40796E-09	3.229582613	Sig.
Dentro de los grupos	4.2361E-06	9	4.7068E-07				
Total	0.00067498	17					

En la prueba de análisis de varianza para la Biodegradabilidad aeróbica (2 cm), se observa que existe diferencia altamente significativa en el conjunto de tratamientos a un nivel de significancia de 5%.

Tabla N° 20: Análisis estadístico de comparación Método de Tuckey para la Biodegradabilidad aeróbica (2 cm)

TABLA RESUMEN PRUEBA TUKEY			
Tratamientos	Concentración de Tratamientos	Biodegrad. aerobia Promedio (g)	Tukey (5%)
T5	Q1% - Av 15% - PVA 0.5%	0.036	a
T4	Q1% - Av 15% - PVA 1%	0.035	a
T7	Q1% - Av 10% - G 0.5%	0.025	b
T8	Q1% - Av 15% - G 1%	0.024	bc
T1	Q1%	0.023	bcd
T6	Q1% - Av 10% - G 1%	0.022	cd
T2	Q1% - Av 10% - PVA 1%	0.021	de
T3	Q1% - Av 10% - PVA 0.5%	0.018	ef
T9	Q1% - Av 15% - G 0.5%	0.018	f

La prueba de Tukey nos indicó que el tratamiento T5 es significativamente diferente a los tratamientos, T7, T8, T1, T6, T2, T3, T9, pero no con el tratamiento T4, ocupando el primer orden, el tratamiento T7 es significativamente diferente a los tratamientos T6, T2, T3, T9, pero no a los tratamientos T8 Y T1 ocupando el segundo orden; el tratamiento T8 es significativamente diferente de los tratamientos T2, T8 y T9 ocupando el tercer orden, el tratamiento T1 es significativamente diferente de los tratamientos T3 y T9, ocupando el cuarto orden, el tratamiento T2, es significativamente diferente al tratamiento T9, pero no al T3, ocupando el quinto lugar, el tratamiento T3 no tiene diferencia significativa con el tratamiento T9, ocupando el sexto lugar. Respecto a la humedad.

Conclusiones.

- ✓ La aplicación de un recubrimiento comestible al limón sutil, utilizando como base estructural quitosano, *Aloe vera* y un plastificante, permite conservar y mantener las características de calidad del limón sutil.

- ✓ De los nueve tratamientos formulados para el recubrimiento se concluye que el tratamiento T_2 (Q1% - Av 10% - PVA 1%) es el más recomendable para su aplicación al limón sutil, debido a que esta combinación permite la menor pérdida de peso.

- ✓ Al evaluar el efecto de la aplicación de cada uno de los nueve tratamientos formulados para el recubrimiento se concluye que el T_8 (Q1% - Av 15% - G 1%) y T_9 (Q1% - Av 15% - G 0.5%) son los más significativos para el caso del °Brix. Así mismo el T_2 (Q1% - Av 10% - PVA 1%) resulta ser el mejor tratamiento que se puede aplicar para conservar el peso de la fruta; y el T_3 (Q1% - Av 10% - PVA 0.5%) es el mejor para el aspecto microbiológico, considerando que presenta inhibición efectiva al hongo *Cladosporium sp.* Así mismo con relación a la acidez titulable se concluye que los tratamientos T_2 y T_3 mantienen constante su valor de ácido cítrico, dándole consistencia al periodo de vida útil del limón.

- ✓ Del análisis microbiológico se concluye que los tratamientos formulados presentan inhibición efectiva al hongo *Cladosporium sp.* el cual es uno de los que proliferan en la superficie del limón y son parte de su deterioro.

Recomendaciones.

- ✓ Para trabajos similares referentes a la formulación y aplicación de recubrimientos limón sutil u otros frutos es recomendable se hagan los análisis de intercambio de gases, acidez titulable y porcentaje de proteínas.

- ✓ Realizar experiencias usando otros tipos de polisacáridos, para la formulación de un recubrimiento a base almidón de yuca, almidón de maíz, almidón de plátano; materiales propios de la región a los cuales se les daría un valor agregado.

- ✓ Realizar pruebas para determinar la temperatura optima de almacenamiento del limón recubierto, considerando que el presente trabajo se realizó a una temperatura promedio de 4 °C y que las condiciones para aplicabilidad comercial son a temperaturas diferentes inclusive a temperatura ambiente.

- ✓ Experimentar con diferentes concentraciones de *Aloe vera* y resinas para determinar la dosis optima de combinación.

- ✓ Realizar la medición del espesor promedio del recubrimiento impregnado en el limón, con la finalidad de precisar el valor óptimo que permita mantener viable el aspecto fisiológico de intercambio de gases.

- ✓ Realizar un análisis económico sobre el proceso de producción de recubrimiento para determinar su viabilidad como futura inversión.

Bibliografías.

Adetunji C. O, Fadiji A.E and Aboyeji O. (2014). Efectos del Recubrimiento de Quitosano Combinado con Gel de Aloe Vera en la Calidad Postcosecha del Pepino, durante el Almacenamiento a Ambiente. Diario de Tendencias en Ingeniería y Ciencias Aplicadas. Nigeria.

Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. LWT – Food science and technology.43, 837 – 842.

Arrieta, Álvaro A. y Palencia, Manuel S. 2016. Estudio electroquímico de un biopolímero compuesto PPy/almidón de cassava. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales. 36(1):26-35.

Báez R., Bringas E. Mendoza A., González A. y Ojeda A.(2000). Recubrimientos de tratamientos especiales en frutos de mango tratados hidrotérmicamente. Segundo Congreso Iberoamericano de Tecnología Poscosecha. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ingeniería Agrícola. Bogotá (Colombia), 71-74.

Baldwin, EA, Nispero-Carriedo MO, Chen X, Hagenmair RD. 1996. Improving storage life of cut apple potato with edible coating. Post. *Biol. Technol*, 9: 151-163.

Ben-Yehoshua, S. (1969). Gas exchange, transportation, and the commercial deterioration in storage of orange fruit. J. Am. Soc. Hort. Sci. 94, 524 – 528.

Carballo Medrano Evelin A. y Martínez Bonilla Emerson S. 2010. Determinación de la permeabilidad al vapor de agua por el método ASTM E96/E 96M-05 en películas de quitosano. Tesis de posgrado. Universidad de El Salvador.

Domínguez, E.; Cortés, V; Avila, R.M.; Olvera., L.; Vernon, J.; Bosquez, E.; Domínguez, J. (2003) Aumento de la vida postcosecha del limón mexicano (Citrus aurantifolia Swingle) producido en Apatzingán, Mich., mediante el uso de recubrimientos naturales a diferentes temperat... Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 5, núm. 2, pp. 128-133 Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México.

Espadín Dávila Andres. 2012. Preparación y caracterización de materiales a base de quitosano biológico-químico y derivados del ácido láctico. Tesis de postgrado. Universidad Autónoma Metropolitana

Embuscado, M., & Huber, K. (2009). *Edible films and coatings for food applications*. NewYork: Springer.

Falguera, V., Quintero, J., Jimenez, A., Muñoz, J., Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. Trends in Food Science & Technology, 22(1), 292-303.

Fernández Valdés, Daybelis; Bautista Baños, Silvia; Fernández Valdés, Dayvis; Ocampo Ramírez, Arturo; García Pereira, Annia; Falcón Rodríguez, Alejandro. , (2015) Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, vol. 24, núm. 3, julio-septiembre, pp. 52-56.

García, J., Sandoval, P., Forero, F., Floriano, J., Salamanca, G., Bernal, J.,…Gomez, G. (2010). Atributos de calidad del mango criollo para la agroindustria. Colombia: Corpoica.

González-Aguilar, G., Gardea, A., & Cuamea-Navarro, F. (2005). Nuevas tecnologias de conservación de productos vegetales frescos cortados. Guadalajara: Logiprint Digital S.

Hernández Jiménez Cecilia, Díaz-Sobac Rafael, Díaz-Vázquez Alma Elena, Durand Niconoff Sergio. y Alma Vázquez-Luna (2015) Elaboración De Peliculas Utilizando Quitosano Y Aceite Esencial De Limón Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana. Av. Luis Castelazo s/n, Col. Industrial Animas, Xalapa, Ver. CP 91190

Kester, J., & Fennema O. (1986). Edible films and coatings: a review. Food Technol, 40(12), 47–59.

Krochta, J. M. y Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. Food Technology, 51(2): 61-74.

Lárez, C. (2003). Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. Revista Iberoamericana de Polímeros. Volumen 4(2).

Lin, D., & Zhao, Y. (2007). Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6 (3), 60–75.

López-Mata Marco A, Saul Ruiz-Cruz, Clarissa Navarro-Preciado, José de Jesús Ornelas-Paz , María I. Estrada-Alvarado , Laura E. Gassos-Ortega , Joaquín Rodrigo-García (2012) . 1 Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de Febrero 818 Sur, CP 85000, Cd. Obregón, Sonora, México. 2 Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Av. Ríos Conchos S/N, Parque Industrial Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua, México. 3 Departamento de Ciencias Básicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Anillo envolvente PRONAF y Estocolmo s/n, 3231, Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

Martin–Belloso, O., Soliva–Fortuny, R., and Baldwin, A. 2005. Conservación mediante recubrimientos comestibles. In: Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. González–Aguilar, G; Gardea, A.; Cuamea–Navarro, F. Editores. Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México p. 558.

Miller, K.S. y Krochta, J.M. 1997. Oxygen and Aroma Barrier Properties of Edible Films: A Review. *Trends Food Sci. Technol.* 8: 228-237.

No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H., Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. International journal of food microbiology, 74, 65 – 72.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION (FAO). Prevención de pérdidas de alimentos, postcosecha: Frutas, hortalizas, raíces y tubérculos. Manual de capacitación. Roma: Ediciones Omega, 1993. Pág. 13.

Ponce, A. G., Roura S. I., del Valle C. E., Moreira M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *in vitro* and *in vivo* studies. Postharvest Biology and Technology, (49) 294 – 300.

Pérez Tamayo, Andrés Felipe (2015) Conservación de mango Tommy atkins mínimamente procesado mediante un recubrimiento comestible de aloe vera (Aloe barbadensis Miller). Maestría tesis, Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín.

Ramos-GarcíaM., Bautista-BañosS., Barrera-NechaL. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso enproductos hortofrutícolas. Revista Mexicana de Fitopatología, 28 (1), 44 –57.

Restrepo, J. (2009). Conservación De Fresa (Fragaria X Ananassa Duch Cv. Camarosa) Mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel de mucilago de penca de sábila (Aloe Barbadensis Miller). (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

Restrepo Jorge I; Aristizábal, Iván . (2010) Conservación De Fresa (Fragaria X Ananassa Duch Cv. Camarosa) Mediante La Aplicación De Recubrimientos Comestibles De Gel Mucilaginoso De Penca Sábila (Aloe Barbadensis Miller) Y Cera De Carnaúba; Vitae, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica Issn 0121-4004 / Issne 2145-2660. Volumen 17 Número 3, Año 2010. Universidad De Antioquia, Medellín, Colombia. Págs. 252-263

Ruiz A. G. (2004). Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. Ingeniería y Ciencia ISSN 1794-9165. Vol. 2, N° 4 Pag. 5-28.

Sanyang, M.L.; Sapuan, S.M.; Jawaid, M.; Ishak, M.R. y Sahari, J. 2015a. Effect of glycerol and sorbitol plasticizers on physical and thermal properties of sugar palm starch based films. In Recent Advances in Environment, Ecosystems and Development. Proceedings of the 13th International Conference on Environment, Ecosystems and Development. April 23-25. (pp. 157-162). Kuala Lumpur, Malaysia.

Villada H., Acosta H., Velasco R. (2008). Investigación de almidones termoplásticos, precursores de productos biodegradables. Información Tecnológica vol. 19 N°2.

Anexos.

Anexo 01: Lista de abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
Q	Quitosano comercial
G	Glicerina
Av	*Aloe vera*
PVA	Alcohol Polivinilico
R	Recubrimiento
M	Goma de Moyuyo
ASTM	Sociedad Americana para Ensayos y Materiales
TS	Fuerza de tensión
WVP	Permeabilidad al vapor de agua
Ti	Tratamiento solo con inóculo

Anexo 02: Tabla de registro de °Brix

GRUPO 1 PRIMERAS PRUEBAS CON LIMONES RECUBIERTOS						
FECHA INICIAL: 13/03/17				FECHA FINAL: 27/03/17		
DETERMINACION DE LOS (°Brix) EN LIMONES						
TRATAMIENTO 0			LIMONES ESTIGOS			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			8			
3				8		
4					8.5	
5						8.5
TRAMIENTO 1			Q 1 g al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7			
3				7.5		
4					7.5	
5						7
TRATAMIENTO 2		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7				
2			7.5			
3				8		
4					8	
5						7.5
TRAMIENTO 3		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7			
3				7		
4					7	
5						7
TRAMIENTO 4		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7	7				
2			7			
3				7.5		
4					7	
5						7
TRAMIENTO 5		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7			
3				7		
4					7	
5						7.5
TRAMIENTO 6		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 1%				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7.5			
3				7		
4					7.5	
5						7
TRAMIENTO 7		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7			
3				7		
4					7.5	
5						8
TRAMIENTO 8		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	8	8				
2			8			
3				7		
4					8	
5						7
TRAMIENTO 9		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7.5			
3				7.5		
4					8	
5						9

Anexo 03: Tabla de registro de pH

GRUPO 1 PRIMERAS PRUEBAS CON LIMONES RECUBIERTOS						
FECHA INICIAL: 13/03/17				FECHA FINAL: 27/03/17		
DETERMINACION DEL pH EN LIMONES						
TRATAMIENTO 0			LIMONES ESTIGOS			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.9	2.05				
2			2.1			
3				2.14		
4					2.17	
5						2.21
TRAMIENTO 1			Q 1 g al 1%			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.85	1.85				
2			1.90			
3				1.94		
4					1.90	
5						1.9
TRAMIENTO 2			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.89	1.88				
2			1.9			
3				1.9		
4					1.92	
5						1.94
TRAMIENTO 3			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 0.5 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.85	1.84				
2			1.86			
3				1.86		
4					1.91	
5						1.93
TRAMIENTO 4			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.85	1.84				
2			1.88			
3				1.9		
4					1.9	
5						1.92
TRAMIENTO 5			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 0.5 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.87	1.87				
2			1.85			
3				1.86		
4					1.88	
5						1.88
TRAMIENTO 6			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 1%			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.89	1.89				
2			1.9			
3				1.89		
4					1.89	
5						1.89
TRAMIENTO 7			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 0.5 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.92	1.91				
2			1.93			
3				1.97		
4					1.98	
5						2.1
TRAMIENTO 8			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.84	1.85				
2			1.85			
3				1.87		
4					1.9	
5						1.9
TRAMIENTO 9			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 0.5 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.83	1.84				
2			1.87			
3				1.84		
4					1.84	
5						1.84

Anexo 04: Tabla de registro de °Brix

GRUPO 2 SEGUNDA PRUEBAS CON LIMONES RECUBIERTOS						
FECHA INICIAL: 13/04/17				FECHA FINAL: 27/04/17		
DETERMINACION DE LOS (°BRIX) EN LIMONES						
TRATAMIENTO 0			LIMONES ESTIGOS			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7				
2			8			
3				8		
4					8	
5						8.5
TRAMIENTO 1			Q 1 g al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7	7				
2			7			
3				7.5		
4					7.5	
5						7
TRATAMIENTO 2		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7			
3				7		
4					7	
5						7
TRAMIENTO 3		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7				
2			7.5			
3				7.5		
4					7	
5						7
TRAMIENTO 4		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			8			
3				8.5		
4					8	
5						8
TRAMIENTO 5		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7	7				
2			7.5			
3				7		
4					7	
5						7.5
TRAMIENTO 6		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 1%				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7.5			
3				7		
4					7.5	
5						7
TRAMIENTO 7		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7.5	7.5				
2			7.5			
3				7.5		
4					7	
5						7.5
TRAMIENTO 8		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7	7				
2			7.5			
3				7.5		
4					7	
5						7
TRAMIENTO 9		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	7	7				
2			7			
3				7.5		
4					7.5	
5						7

Anexo 05: Tabla de registro de pH

GRUPO 2 SEGUNDA PRUEBAS CON LIMONES RECUBIERTOS						
FECHA INICIAL: 13/04/17				FECHA FINAL: 27/04/17		
DETERMINACION DEL pH EN LIMONES						
TRATAMIENTO 0			LIMONES ESTIGOS			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.84	1.85				
2			1.89			
3				2.06		
4					2.11	
5						2.14
TRAMIENTO 1			Q 1 g al 1%			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.87	1.86				
2			1.90			
3				1.9		
4					1.91	
5						1.92
TRAMIENTO 2			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.86	1.88				
2			1.9			
3				1.89		
4					1.92	
5						1.91
TRAMIENTO 3			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 0.5 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.85	1.85				
2			1.85			
3				1.83		
4					1.87	
5						1.9
TRAMIENTO 4			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.85	1.85				
2			1.9			
3				1.91		
4					1.9	
5						1.9
TRAMIENTO 5			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 0.5 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.85	1.85				
2			1.87			
3				1.87		
4					1.87	
5						1.88
TRAMIENTO 6			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 1%			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.9	1.9				
2			1.89			
3				1.9		
4					1.92	
5						1.93
TRAMIENTO 7			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 0.5 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.88	1.87				
2			1.9			
3				1.93		
4					1.93	
5						1.99
TRAMIENTO 8			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.83	1.84				
2			1.87			
3				1.89		
4					1.9	
5						2.1
TRAMIENTO 9			Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 0.5 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	1.85	1.86				
2			1.87			
3				1.89		
4					1.9	
5						1.93

Anexo 06: Tabla de pesos

GRUPO 1 PRIMERA PRUEBA CON LIMONES RECUBIERTOS						
FECHA INICIAL: 13/03/17				FECHA FINAL: 27/03/17		
DETERMINACION DE PERDIDA DE PESO (g) LOS LIMONES						
TRATAMIENTO 0			LIMONES TESTIGOS			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	236.337	232.746				
2			184.128			
3				134.61		
4					92.031	
5						43.908
TRAMIENTO 1			Q 1 g al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	247.501	242.072				
2			199.746			
3				156.29		
4					116.303	
5						76.18
TRATAMIENTO :		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	272.622	268.824				
2			229.039			
3				191.015		
4					155.996	
5						119.782
TRAMIENTO 3		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	231.897	227.394				
2			187.136			
3				147.573		
4					106.881	
5						64.565
TRAMIENTO 4		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	233.547	229.457				
2			191.242			
3				150.986		
4					111.565	
5						70.54
TRAMIENTO 5		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	228.475	224.832				
2			182.82			
3				141.456		
4					101.667	
5						64.189
TRAMIENTO 6		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 1%				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	269.231	267.099				
2			225.753			
3				183.378		
4					141.4	
5						92.837
TRAMIENTO 7		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	249.369	247.896				
2			202.58			
3				156.115		
4					113.746	
5						87.759
TRAMIENTO 8		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	222.452	220.542				
2			185.394			
3				143.03		
4					101.706	
5						61.34
TRAMIENTO 9		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	271.741	268.039				
2			226.061			
3				185.745		
4					146.62	
5						106.124

Anexo 07: Tabla de pesos

GRUPO 2 SEGUNDA PRUEBA CON LIMONES RECUBIERTOS						
FECHA INICIAL: 13/04/17				FECHA FINAL: 27/04/17		
DETERMINACION DE PERDIDA DE PESO (g) LOS LIMONES						
TRATAMIENTO 0			LIMONES TESTIGOS			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	269.231	264.346				
2			215.728			
3				167.492		
4					118.135	
5						66.814
TRAMIENTO 1			Q 1 g al 1 %			
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	283.648	279.345				
2			236.077			
3				195.953		
4					150.829	
5						109.571
TRATAMIENTO 2		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	238.909	233.965				
2			202.845			
3				174.698		
4					143.667	
5						108.567
TRAMIENTO 3		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + PVA 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	217.149	214.619				
2			173.032			
3				137.884		
4					97.725	
5						61.085
TRAMIENTO 4		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	243.864	240.661				
13			197.007			
3				148.86		
4					113.712	
5						64.589
TRAMIENTO 5		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + PVA 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	275.234	272.951				
2			230.587			
3				189.322		
4					144.163	
5						92.918
TRAMIENTO 6		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 1%				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	229.657	226.753				
2			180.384			
3				135.07		
4					84.044	
5						49.032
TRAMIENTO 7		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 10 % + G 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	276.789	273.267				
2			233.721			
3				188.352		
4					142.227	
5						91.758
TRAMIENTO 8		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 1 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	238.341	235.456				
2			194.807			
3				154.543		
4					112.531	
5						68.853
TRAMIENTO 9		Q 0.7 g al 1% + Av 20 ml al 15 % + G 10 ml al 0.5 %				
LIMONES	DIA 1	DIA 3	DIA 6	DIA 9	DIA 12	DIA 15
1	266.264	262.151				
2			224.015			
3				188.891		
4					149.913	
5						109.811

Anexo 08: Tabla de % de acidez títulable

TRATAMIENTOS	Primer día	Sexto día	Doceavo día	Promedio
	% de Ac. Cítrico	% de Ac. Cítrico	% de Ac. Cítrico	% de Ac. Cítrico
Ts.	5.8	5.7	5.5	5.7
T1	6.1	6.0	5.8	6.0
T2	6.5	6.5	6.8	6.6
T3	6.8	5.8	6.1	6.3
T4	6.2	5.7	5.8	5.9
T5	6.0	5.0	4.7	5.2
T6	5.8	5.1	5.6	5.5
T7	4.2	6.0	3.9	4.7
T8	4.5	6.0	4.6	5.0
T9	4.4	4.4	4.0	4.3

TRATAMIENTOS	% de Ac. Cítrico
Testigo	5.7
T1	6.0
T2	6.59
T3	6.25
T4	5.90
T5	5.23
T6	5.53
T7	4.69
T8	5.03
T9	4.27

Anexo 09: Análisis de varianza para la prueba hedónica

Característica	**Color**									
Tratamientos / Panelistas	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	5	7	8	7	6	7	5	5	7	9
2	5	6	7	7	7	7	7	3	5	6
3	3	7	8	8	7	7	7	6	7	7
4	5	6	6	8	7	6	6	5	7	6
5	6	8	8	8	5	7	6	8	6	7
6	5	8	8	7	9	7	6	5	7	8
7	6	8	7	8	8	8	7	8	5	7
8	4	6	7	7	7	8	7	6	8	7
9	5	7	6	8	6	8	1	6	9	9
	4	8	7	7	6	5	7	6	5	8

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	significancia
Entre grupos	12.49	9	1.38778	0.72072	0.68870	1.98559	NS.
Dentro de los grupos	173.3	90	1.92556				
Total	185.79	99					

Anexo 10: Análisis de varianza para la prueba hedónica

Característica	**Olor**									
Tratamientos / Panelistas	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	7	8	6	6	6	7	5	5	7	9
2	6	9	7	5	8	7	7	9	5	6
3	3	7	8	8	7	7	7	6	7	7
4	5	6	6	8	6	7	7	6	7	6
5	8	6	8	7	6	7	7	5	5	5
6	5	6	5	5	6	6	5	6	6	6
7	3	5	8	7	5	2	5	9	3	2
8	5	6	6	7	7	7	6	6	8	7
9	9	5	9	7	5	5	5	8	6	4
10	6	8	6	7	7	6	4	6	6	6

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*Significancia*
Entre grupos	31.05	9	3.45	1.788	0.081	1.986	NS.
Dentro de los grupos	173.7	90	1.93				
Total	204.75	99					

Anexo 11: Análisis de varianza para la prueba hedónica

Característica	**Textura**									
Tratamientos / Panelistas	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	3	7	7	9	6	7	5	7	7	9
2	3	5	7	7	7	7	4	3	7	6
3	7	7	7	7	7	7	6	6	6	7
4	3	6	6	8	6	6	5	5	7	5
5	4	8	6	8	6	6	6	6	6	6
6	6	9	7	6	8	6	7	8	8	7
7	6	8	5	6	2	8	8	4	8	8
8	4	6	7	7	7	8	7	7	8	8
9	1	2	8	9	1	9	3	9	8	8
10	3	6	6	8	8	7	7	6	6	7

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*Significancia*
Entre grupos	25.85	9	2.8722	0.927	0.506	1.986	NS
Dentro de los grupos	278.9	90	3.0989				
Total	304.75	99					

Anexo 12: Análisis de varianza para la prueba hedónica

Característica	**Acidez (sabor)**									
Tratamientos / Panelistas	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	3	4	7	9	6	5	6	6	8	7
2	4	4	9	9	6	4	6	7	7	7
3	3	4	7	7	6	5	7	6	7	8
4	4	4	8	9	6	4	6	6	6	7
5	5	4	7	8	6	7	6	7	6	8
6	4	6	7	8	6	2	5	3	8	1
7	4	6	8	7	7	5	2	3	8	2
8	5	7	8	7	8	7	7	7	8	7
9	2	6	9	5	1	5	7	8	9	4
10	4	5	7	9	6	4	6	8	6	7

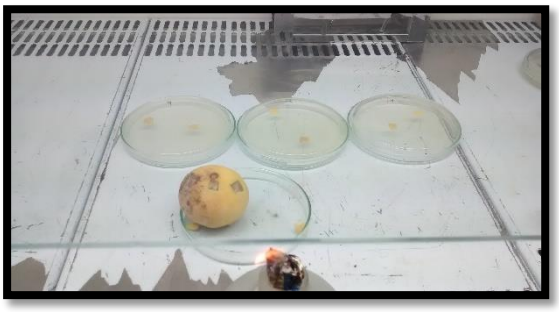
ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	*Suma de cuadrados*	*Grados de libertad*	*Promedio de los cuadrados*	*F*	*Probabilidad*	*Valor crítico para F*	*Significancia*
Entre grupos	33.09	9	3.68	1.015	0.434	1.986	NS
Dentro de los grupos	325.9	90	3.62				
Total	358.99	99					

Anexo 13: Registro fotográfico

Laboratorio de Microbiología Molecular

Corte y siembra de cascara del limon.

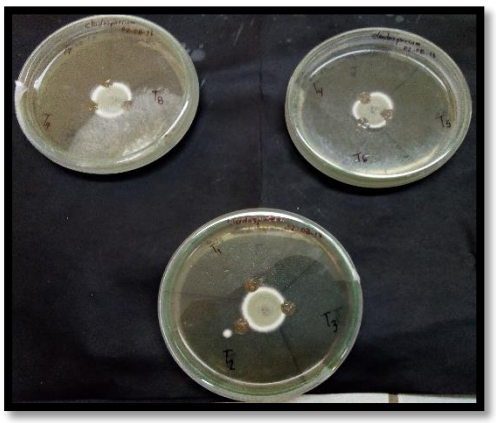


Proliferacion e identificacion en placa de los hongos

Purificacion en tubos

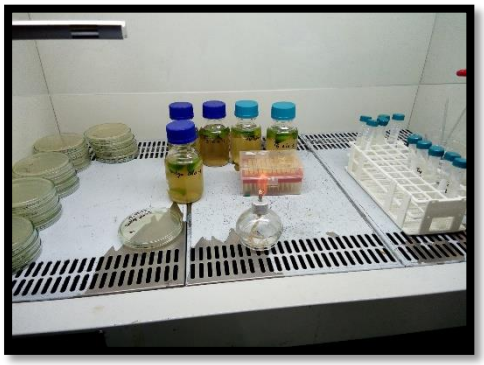
Pruebas preliminares de inhibicion en placa preti para los hongos *cladosporium sp* y *penicillium sp.*

Cladosporium sp.



Penicillium sp.

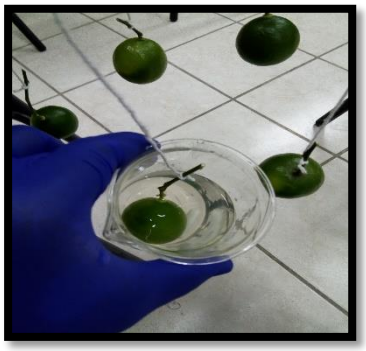
Inhibicion y conteo de UFC del limon recuierto



Anexo 14: Registro fotográfico

Laboratorio de forestal y medio ambiente

Preparacion de material para el recubrimiento

Formulaion del recubrimiento

Aplicacion del recubrimiento en el limón sutil.