



UNIVERSIDAD VERACRUZANA
MAESTRIA EN CIENCIAS ALIMENTARIAS



INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS

Conservación poscosecha de fresa utilizando recubrimientos
formulados con quitosano-quínoa

TESIS

Que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS ALIMENTARIAS

Presenta:

Q.F.B. Diana Iveth Caudillo Contreras

Director:
Dr. Rafael Díaz Sobac
Co-Director:
Dra. Alma Vázquez Luna

Xalapa, Veracruz

Agosto, 2016



Universidad Veracruzana



MAESTRIA EN
CIENCIAS
ALIMENTARIAS

La presente tesis titulada

**“Conservación poscosecha de fresa utilizando recubrimientos
formulados con quitosano-quinoa”**

Realizada por la

Q.F.B. DIANA IVETH CAUDILLO CONTRERAS

Ha sido aprobada por el comité de evaluación de tesis, y aceptada como
requisito parcial para la obtención del grado de:

Maestro en Ciencias Alimentarias

Otorgando su autorización como jurado para ser presentada y defendida
oralmente el 31 de agosto de 2016.

Dr. Maribel Jiménez Fernández

Dra. Rosa Isela Guzmán Gerónimo

Dr. Francisco Fuentes Carmona

DEDICATORIAS

A Dios por todas las bendiciones y darme la oportunidad de conseguir esta meta profesional y seguir adelante.

A mis padres por sus consejos e impulsar mi superación profesional día a día con su ejemplo de perseverancia.

A mis hermanas Itzel y Mariela por su apoyo y amor en este tiempo, a Dieguito y a toda mi familia por su apoyo.

A mis abuelitos por enseñarme valores y humildad para enfrentar las adversidades.

A Richard por todo el apoyo en mi formación profesional y personal, por ser parte de mi vida.

Al Dr. Rafa y Dra. Alma por su amistad y apoyo incondicional.

A Mari y Amy por sus regaños, consejos y amistad.

A mi equipo de laboratorio y amigos... La maestra Gloria, Jessi, Karem y Mary Paz.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por los apoyos otorgados:

CVU: 635885

BECA NACIONAL; número de becario: 337350

BECA MIXTA; número de convocatoria: 291062, para realizar una estancia de investigación en Chile (Marzo-Julio 2016).

A la **Universidad Veracruzana** por su apoyo para hacer posible la estancia de investigación en el extranjero, a través del **Instituto de Ciencias Básicas** y el **Dr. Josué Cortés Zárate**.

AGRADECIMIENTOS

A mis Directores de tesis, **Dra. Alma Vázquez Luna** y **Dr. Rafael Díaz Sobac** por su apoyo, confianza y tiempo en éste trabajo.

Al **Departamento de Ingeniería química y Bioprocesos** con la **Dra. Wendy Franco Melazzini** y a la **Facultad de Agronomía** con el **Dr. Francisco Fuentes Carmona** profesores de la **Pontificia Universidad Católica de Chile**, por su apoyo en la estancia.

Al **Dr. Sergio Benavidez Valenzuela** y **Dra. Ma. José Paredes** por sus consejos para éste trabajo, por su tiempo, paciencia, asesorías, y sobre todo por compartirme su experiencia profesional y amistad.

A mis Sinodales, **Dra. Maribel Fernández Jiménez**, **Dra. Rosa Isela Guzmán** y **Dr. Francisco Fuentes Carmona**; por el tiempo dedicado en la revisión de este trabajo y sus aportaciones

A **Brenda**, por su amistad y todo el apoyo brindado en los trámites de documentos.

ÍNDICE

| | |
|--|------|
| ÍNDICE | I |
| ÍNDICE DE CUADROS | V |
| ÍNDICE DE FIGURAS | VI |
| ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS..... | VIII |
| RESÚMEN | IX |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. MARCO DE REFERENCIA | 3 |
| 2.1 Fresa: ficha botánica | 3 |
| 2.2 Clima | 4 |
| 2.3 Siembra | 4 |
| 2.4 Cosecha | 4 |
| 2.5 Producción Nacional | 6 |
| 2.6 Propiedades | 6 |
| 2.7 Procesamiento mínimo..... | 8 |
| 2.8 Factores pos cosecha que afectan la calidad del fruto..... | 8 |
| 2.8.1 Respiración | 9 |
| 2.8.2 Transpiración o pérdida de agua..... | 10 |
| 2.8.3 Etileno | 10 |
| 2.9 Tecnologías emergentes para la conservación pos cosecha..... | 11 |
| 2.9.1 Irradiación..... | 11 |
| 2.9.2 Campos eléctricos pulsantes de alta densidad (CEPAI) | 12 |
| 2.9.3 Pulsos de Luz..... | 12 |

| | |
|---|----|
| 2.9.4 Campos magnéticos..... | 12 |
| 2.9.5 Atmósferas controladas..... | 13 |
| 2.10 Recubrimientos y películas comestibles..... | 13 |
| 2.10.1 Recubrimientos comestibles a base de carbohidratos | 13 |
| 2.10.2 Recubrimientos comestibles a base proteínas | 14 |
| 2.10.3 Recubrimientos comestibles a base de lípidos..... | 14 |
| 2.10.4 Aditivos-plastificantes | 15 |
| 2.11 Materiales utilizados en la investigación..... | 17 |
| 2.11.1 Quitosano | 17 |
| 2.11.12 Quínoa..... | 18 |
| 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA/JUSTIFICACIÓN | 22 |
| 4. HIPÓTESIS | 23 |
| 5. OBJETIVOS | 23 |
| 5.1 Objetivo general | 23 |
| 5.2 Objetivos específicos | 23 |
| 6. MATERIALES Y MÉTODOS | 24 |
| 6.1 Materia prima | 24 |
| 6.2 Obtención de harina de quínoa | 24 |
| 6.2.1 Caracterización química de la harina de quínoa | 25 |
| 6.3 Extracción de aceite esencial de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) | 26 |
| 6.4 Formulación del recubrimiento comestible | 26 |
| 6.5 Aplicación del recubrimiento..... | 27 |
| 6.6 Diseño experimental..... | 27 |
| 6.7 Evaluación de vida poscosecha | 28 |
| 6.7.1 Selección de formulación de recubrimiento comestible..... | 28 |

| | |
|--|----|
| 6.7.2 Pérdida de peso | 28 |
| 6.7.3 pH..... | 28 |
| 6.7.4 Sólidos solubles totales | 28 |
| 6.7.5 Acidez total..... | 29 |
| 6.7.6 Color..... | 29 |
| 6.7.7 Apariencia física | 30 |
| 6.8 Evaluación de compuestos bioactivos..... | 30 |
| 6.8.1 Elaboración de extractos | 30 |
| 6.8.2 Ácido ascórbico | 30 |
| 6.8.3 Determinación de carotenos totales | 31 |
| 6.8.4 Flavonoides | 32 |
| 6.8.5 Polifenoles..... | 32 |
| 6.8.6 Antocianinas..... | 32 |
| 6.8.7 Actividad antioxidante..... | 33 |
| 6.8.8 Determinación microbiológica | 33 |
| 7. Análisis estadístico..... | 34 |
| 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 35 |
| 8.1 Caracterización de harina de quínoa..... | 35 |
| 8.2 Evaluación de pérdida fisiológica de peso..... | 35 |
| 8.3 Determinación pH..... | 37 |
| 8.4 Determinación de sólidos solubles totales..... | 38 |
| 8.5 Determinación acidez titulable..... | 39 |
| 8.6 Determinación de color..... | 40 |
| 8.7 Apariencia física | 44 |
| 8.8 Análisis de compuestos bioactivos..... | 46 |

| | |
|--|----|
| 8.8.1 Carotenos..... | 47 |
| 8.8.2 Ácido ascórbico | 49 |
| 8.8.3 Flavonoides | 50 |
| 8.8.4 Polifenoles..... | 53 |
| 8.8.5 Antocianinas..... | 54 |
| 8.8.6 Actividad antioxidante..... | 55 |
| 8.8.7 Población microbiana | 56 |
| 9. CONCLUSIONES PARCIALES..... | 58 |
| 10. BIBLIOGRAFÍA | 59 |
| 11. ANEXOS | 66 |
| ANEXO 1. NMX-FF-062-SCFI-2002 Especificaciones de calidad: Requerimientos mínimos..... | 66 |
| ANEXO 2. Extracción de aceite esencial de naranja..... | 68 |
| ANEXO 3. Apariencia comercial de fresas recubiertas con quitosano-quinoa y sin tratamiento. | 71 |
| ANEXO 4. ANOVA compuestos fenólicos y actividad antioxidante..... | 72 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Superficie sembrada de fresas en 2012, hectáreas..... | 6 |
| Cuadro 2. Contenido de antocianidinas, flavonoles y ácidos fenólicos expresados en $\mu\text{g/g}$ de fresa fresca..... | 7 |
| Cuadro 3. Valores máximos y mínimos de la composición del grano de quínoa..... | 19 |
| Cuadro 4. Valor nutricional de la quínoa comparado con otros cereales..... | 20 |
| Cuadro 5. Identificación de compuestos fenólicos libres en de especie de quínoa blanca (mg/kg)..... | 21 |
| Cuadro 6. Formulaciones propuestas para recubrimientos comestibles (RC)..... | 26 |
| Cuadro 7. Diseño experimental factorial..... | 27 |
| Cuadro 8. Composición química de harina de quínoa promedios \pm D.E..... | 35 |
| Cuadro 9. Parámetros de color en superficie de fresas recubiertas F1, F2 y C..... | 40 |
| Cuadro 10. Ángulo de color y tono en superficie de fresas recubiertas F1, F2 y C..... | 40 |
| Cuadro 11. Parámetros de color en el interior de fresas recubiertas F1, F2 y C..... | 42 |
| Cuadro 12. Ángulo de color y tono en el interior de fresas recubiertas F1, F2 y C..... | 42 |
| Cuadro 13. Identificación de compuestos fenólicos libres en especie de quínoa blanca..... | 52 |
| Cuadro 14. Conteo de colonias en fresas con recubrimiento y control..... | 57 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Cuerpo de la planta de fresa..... | 3 |
| Figura 2. Maduración del fruto de la fresa a través de cambios de coloración. NMX..... | 5 |
| Figura 3. Harina de quínoa..... | 17 |
| Figura 4. Estructura química de quitosano..... | 17 |
| Figura 5. Planta de quínoa..... | 18 |
| Figura 6. Sección Longitudinal media del grano de Quínoa (<i>Chenopodium quínoa Wild</i>)..... | 20 |
| Figura 7. Fresas barnizadas con recubrimiento comestible..... | 27 |
| Figura 8. Geometría del modelo de color CIE-L*a*b*..... | 29 |
| Figura 9. Separación de capa etérea para extracción de carotenos..... | 31 |
| Figura 10. Porcentaje de pérdida de peso en fresas con RC (F1, F2) y control (C); almacenadas a 10±2 °C | 36 |
| Figura 11. Determinación de pH en fresas con recubrimiento (F1, F2) y control (C) almacenadas a 10 ± 2 °C..... | 37 |
| Figura 12. Determinación de sólidos solubles en fresas con recubrimiento (F1, F2) y control (C) almacenadas a 10 ± 2 °C | 38 |
| Figura 13. Determinación de acidez titulable en fresas con recubrimiento (F1, F2) y control (C) almacenadas a 10 ± 2°C | 39 |
| Figura 14. Cinética de degradación de color en superficie de fresas recubiertas F1, F2 y control (C), almacenadas a 10 ± 2°C | 41 |
| Figura 15. Cinética de degradación de color en interior fresas recubiertas F1, F2 y control (C), almacenadas a 10 ± 2°C..... | 43 |
| Figura 16. Aspecto de la superficie de fresas recubiertas F1, F2 y control (C), almacenadas a 10 ± 2°C | 44 |
| Figura 17. Aspecto del interior de fresas recubiertas F1, F2 y control (C), almacenadas a 10 ± 2°C | 45 |

| | |
|---|----|
| Figura 18. Degradación de carotenos totales en fresas recubiertas con quitosano-quínoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ | 47 |
| Figura 19. Estructura química de β -caroteno y vitamina A..... | 48 |
| Figura 20. Degradación de ácido ascórbico en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ | 49 |
| Figura 21. Contenido quercetina en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ | 50 |
| Figura 22. Corte sección del borde del fruto donde se observa las glándulas oleíferas seccionadas muy cercanas a la epidermis..... | 51 |
| Figura 23. Contenido de ácido gálico en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ | 53 |
| Figura 24. Porcentaje de degradación de antocianinas en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ | 54 |
| Figura 25. Capacidad antioxidante en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ | 55 |
| Figura 26. Crecimiento microbiano en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ | 56 |

ABREVIATURAS, SIGLAS Y SÍMBOLOS

| | |
|------------|---|
| a_w | Actividad de Agua |
| °Brix | Grados Brix, cociente total de materia seca disuelta en un líquido. |
| °C | Grados Celsius |
| C_2H_4 | Etileno |
| CO_2 | Dióxido de carbono |
| cm | Centímetros |
| Croma* | Cromaticidad en escala $L^*a^*b^*$ |
| DPPH* | 1,10-difenil-2-picril-hidrazil |
| ϵ | Coefficiente de extinción molar |
| FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura |
| H_2O | Agua |
| H^* | Ángulo de color en escala Cie $L^*a^*b^*$ |
| L^* | Luminosidad en escala Cie $L^*a^*b^*$ |
| mL | Mililitros |
| μL | Microlitros |
| μM | Micromoles |
| nm | Nanómetros |
| O_2 | Oxígeno |
| | Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y |
| SAGARPA | Alimentación |
| UV | Ultravioleta visible |

RESÚMEN

Palabras clave: fresa, recubrimiento comestible, quínoa

Los frutos de fresa (*Fragaria x ananassa*) son apreciados por su contenido de compuestos antioxidantes y fibra; sin embargo, son susceptibles al deterioro por su elevada respiración y carencia de barrera exterior. Una alternativa son los recubrimientos comestibles (RC), a base de polisacáridos, proteínas y lípidos, generalmente. La harina de quínoa (*Chenopodium quinua Wild*) es un grano de origen andino; con abundantes componentes poliméricos, almidón (50-60%), proteína (14.69%) y lípidos (8.24%), por lo que tiene potencial de aplicación como biomaterial para la elaboración de RC. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de un recubrimiento comestible formulado con quitosano-quínoa, sobre la calidad poscosecha, nutricional y funcional de fresa. Para lo cual se realizaron dos formulaciones para el RC (F1 y F2) y un control (C) sin tratamiento, como materia prima se utilizó harina de quínoa, quitosano y aceite esencial de naranja como plastificante. Un total de 60 fresas con las formulaciones F1, F2 y C fueron almacenados por 20 días a $10\pm 2^{\circ}\text{C}$, evaluando cada 5 días la pérdida de peso, pH, °Brix, acidez titulable, color, y apariencia física. La mejor formulación fue (F2) con un $18\pm 0.33\%$ en pérdida de peso a los 10 días comparado con control $36.00\pm 0.24\%$ y buena apariencia física, en comparación de F1. En el fruto recubierto con F2 se evaluó el contenido de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenos durante su almacenamiento, mostrando una degradación de ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenos significativamente menor ($p < 0.05$), en comparación al grupo control. Asimismo, la formulación F2 tuvo un incremento significativo sobre todo en flavonoides, desde el primer día de análisis ($p < 0.05$) esto se atribuyó a la composición de RC formado por aceite esencial y harina de quínoa principalmente, que a su vez incremento la actividad antioxidante; se observó una inhibición en el crecimiento de colonias a comparación del control durante 15 días. El RC formulado con quitosano-quínoa logra conservar la fresa en poscosecha protegiendo y confiriendo compuestos de alto valor biológico como ácido gálico y quercetina.

SUMMARY

Keywords: strawberry, edible coating, quinoa

The fruits of strawberry (*Fragaria x ananassa*) are prized for their antioxidant content and fiber compounds; however, they are susceptible to deterioration by high breathing and outer barrier deficiency. An alternative are the edible coatings (RC), based on polysaccharides, proteins and lipids, generally. Flour quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) is a grain of Andean origin; abundant polymer components starch (50-60%), protein (14.69%) and lipids (8.24%), so it has potential application as biomaterial for preparing RC. The aim of this study was to evaluate the effect of an edible coating formulated with chitosan-quinoa on postharvest, nutritional and functional quality of strawberry. For which two formulations for RC (F1 and F2) and a control (C) untreated raw material quinoa flour, chitosan and orange essential oil was used as a plasticizer were conducted. A total of 60 strawberries with F1, F2 and C formulations were stored for 20 days at 10 ± 2 ° C, evaluating every 5 days weight loss, pH, Brix, acidity, color, and physical appearance. The best formulation was (F2) with a $18 \pm 0.33\%$ in weight loss at 10 days compared with $36.00 \pm 0.24\%$ Control and good physical appearance, compared to F1. In the fruit coated F2 content of ascorbic acid, carotenoids and phenolic compounds was evaluated during storage, showing a degradation of ascorbic acid and phenolic compounds carotenes significantly lower ($p < 0.05$) compared to the control group. Also, the F2 formulation had a significant increase especially in flavonoids, from the first day of analysis ($p < 0.05$) this was attributed to the composition of RC consists of essential oil and flour Quinoa mainly that in turn increase the activity antioxidant; inhibition was observed in comparison colony growth control for 15 days. The RC formulated with chitosan-quinoa manages to maintain postharvest strawberry protecting and giving compounds of high biological value as gallic acid and quercetin.

1. INTRODUCCIÓN

Los cambios en el estilo de vida que la gente experimenta en los últimos años, así como su mayor consciencia de la importancia de ingerir alimentos saludables, han causado un incremento en el consumo de alimentos listos para comer, en especial de frutas con procesamiento mínimo (García *et al.*, 2011). El consumir frutas presenta beneficios a la salud debido a que además de aportar nutrientes, contienen antioxidantes.

En este sentido el mercado de bayas creció en todo el mundo 44% entre los años 1995-2005, y se espera que esta tendencia continúe hasta el año 2016 en países como Estados Unidos, México, Chile, China, Rumania y Polonia (Strik *et al.*, 2007). Hay un creciente interés en frutas de baya debido a su alto contenido de compuestos antioxidantes (Krüger *et al.*, 2011). Estudios recientes han evidenciado que el consumo de frutos rojos reducen el riesgo a padecer enfermedades crónico degenerativas (Rastrepo *et al.*, 2010). La fresa (*Fragaria x annanasa*) es una de los frutos rojos con mayor aceptación mundial y una fuente rica en ácido ascórbico, fibra, minerales, flavonoides y carotenoides (López *et al.*, 2012). Sin embargo, aunque es un fruto muypreciado es altamente perecedero debido a su elevada tasa de respiración y la carencia de barrera exterior que limita la retención de agua, y lo hace susceptible a ataque microbiológico (Min *et al.*, 2005). Por lo tanto, cualquier intento por mantener la calidad de las fresas frescas por períodos largos de tiempo es una prioridad para productores y consumidores (Ribeiro *et al.*, 2007).

Una de las tecnologías utilizadas para la preservación poscosecha de los frutos es la aplicación de recubrimientos comestibles (RC) a partir de fuentes renovables, como lípidos, polisacáridos y proteínas, así como mezclas de estos. Los RC disminuyen la tasa de respiración, retrasan la pérdida de peso por deshidratación, prolongan su pérdida de firmeza y pigmentación, causado por microorganismos.

Además inhiben el pardeamiento enzimático, las reacciones metabólicas asociadas con la maduración y se promueve la conservación de propiedades mecánicas, manteniendo en mayor grado las características sensoriales e incrementando la vida útil de la fruta. Lo anterior debido a que los RC proporcionan una barrera semi-permeable a los gases y al vapor de agua, además pueden actuar como portadores de ingredientes funcionales como agentes antimicrobianos y antioxidantes.

En la industria alimentaria se han utilizado los RC de quitosano como una barrera estructural semipermeable al (CO_2 , O_2 y H_2O), cuando se aplica a frutos (Hernández *et al.*, 2006, 2008) Sin embargo, su naturaleza hidrofílica, impide que funcione adecuadamente como una barrera contra la humedad. No obstante la biocompatibilidad que tiene el quitosano con diversos compuestos es utilizada para incorporar compuestos hidrofóbicos como los aceites esenciales (Lin y Zhao, 2007).

Recientemente se ha utilizado harina de cereales como biomaterial para la formación de RC (Morales, 2014), donde la mezcla de compuestos provenientes de una sola matriz confiere características y propiedades de barrera al alimento. La quínoa es un pseudocereal de origen andino que actualmente se encuentra en expansión hacia otros países debido a su adaptabilidad a suelos y climas además de ser considerado por su valiosa calidad nutritiva, inocuidad y para la seguridad alimentaria mundial (FAO, 2013). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de un recubrimiento comestible formulado con quitosano-quínoa, sobre la calidad nutrimental, funcional y sensorial poscosecha de la fresa.

2. MARCO DE REFERENCIA

2.1 Fresa: ficha botánica

El género *Fragaria*, pertenece a la familia de las Rosáceas, se compone de ocho especies y es de distribución cosmopolita. Las fresas son plantas herbáceas perennes con estolones (brotes laterales) superficiales, que enraízan en los nudos, donde nacen unas rosetas de hojas trisectas (hojas que se componen de tres segmentos cada una), con largos pecíolos (rabitos) y bordes dentados. Son de color verde brillante y tienen los nervios muy marcados (Figura 1). Las florecillas son blancas, con cinco pétalos y numerosos estambres. Como es sabido, el llamado fruto de la fresa no lo es tal desde el punto de vista botánico: se trata en realidad del eje del receptáculo floral engrosado y carnoso. Los verdaderos frutillos son pequeñas núculas o nuecesillas que están adheridas en el exterior de la fresa. El género *Fragaria* aparece en estado silvestre en América, Asia y Europa. Los cultivares comerciales de frutilla (*Fragaria x ananassa Duch.*), son derivados de dos especies, *Fragaria chiloensis (L.) Duch* y *Fragaria virginiana Duch* (Navarro y Morales, 1997).

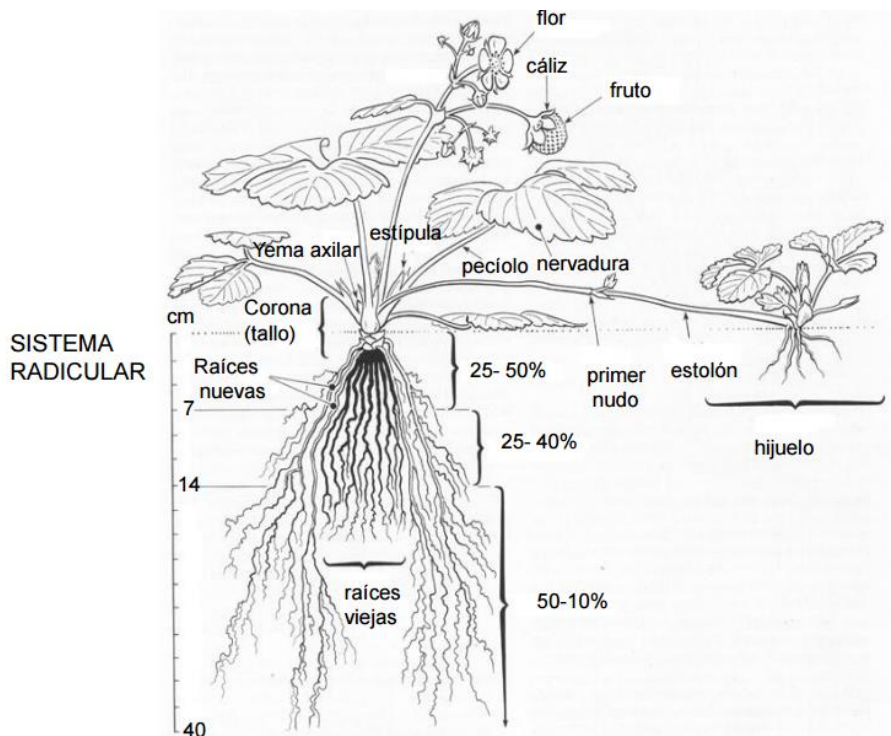


Figura 1. Cuerpo de la planta de fresa

2.2 Clima

La planta de fresa es termo y fotoperiódica, o sea que su crecimiento depende de las condiciones temperatura y luz. Las altas temperaturas y los días largos (más de doce horas de luz) provocan crecimiento vegetativo excesivo; las bajas temperaturas y días cortos inducen la floración. La zona apta para producción de fruta se ubica entre los 1,300 y 2,000 msnm. En condiciones, donde todos los días tienen menos de 12 horas de luz, el factor determinante para producir fruta, es la temperatura óptima que en promedio de 14°C, pero se adapta bien entre los 10 y 20°C (SAGARPA, 2012).

2.3 Siembra

Se puede sembrar en eras o en lomillos. Sin embargo, por el tipo de tecnología que se aplica al cultivo, como es la utilización de coberturas y riego, lo más recomendable es hacerlo en eras de 70 a 80 cm de ancho y de 20 cm de altura. En cada era se colocan dos hileras de plantas, separadas 40 cm entre sí y las plantas a 30 cm, con este sistema se obtiene una densidad entre 50,000 y 55,000 plantas por hectárea. La separación entre eras debe ser de por lo menos 40 cm, la planta debe sembrarse a una profundidad tal que el cuello de la raíz quede a nivel de suelo, de manera que no queden raíces expuestas ni la corona enterrada (SAGARPA, 2012).

2.4 Cosecha

La recolección es manual, debido a que la fruta es altamente perecedera, debe cosecharse cada tres días y manejarse con mucho cuidado. Se debe empezar a manejar la fruta desde antes de su formación y su desarrollo, para que llegue en buenas condiciones a la cosecha. A partir del momento de la cosecha, se inicia otro proceso de gran importancia, como es el de seleccionar la fruta, empacarla, transportarla y almacenarla adecuadamente. Una fruta de fresa cosechada en plena maduración y mantenida a temperatura ambiente, se deteriora en un 80% en sólo 8

horas. La selección de la fruta se hace de acuerdo con el mercado al que se dirige, lo mismo que el empaque. Estas labores se inician en el momento de la cosecha, cuando se separan las frutas de acuerdo con la calidad y se empaican en el mismo lugar (SAGARPA, 2012).

Los frutos de fresa se deben cosechar cuando presenten como máximo el 50 % de su superficie un color rojo tenue rosa o en su caso, considerar los requisitos del mercado de destino.



Figura 2. Maduración del fruto de la fresa a través de cambios de coloración.
Fuente: NMX-FF-062-1987

2.5 Producción Nacional

México es uno de los principales exportadores de fresa en el mundo. En el cuadro 1 se muestran los principales estados productores según datos de SAGARPA 2012, se sembraron cerca de 6500 ha de fresa en el país, obteniéndose una producción de 208 mil 932.25 toneladas métricas, por lo que alcanzó un rendimiento promedio de 33.86 toneladas por hectárea.

Cuadro 1. Superficie sembrada de fresas en 2012.

| Estado | % Producción total hectáreas |
|-----------------|---------------------------------|
| Michoacán | 52.01 |
| Baja California | 27.35 |
| Guanajuato | 10.58 |
| México | 3.57 |
| Jalisco | 3.35 |

Fuente: Anuario Agrícola 2012, SAGARPA.

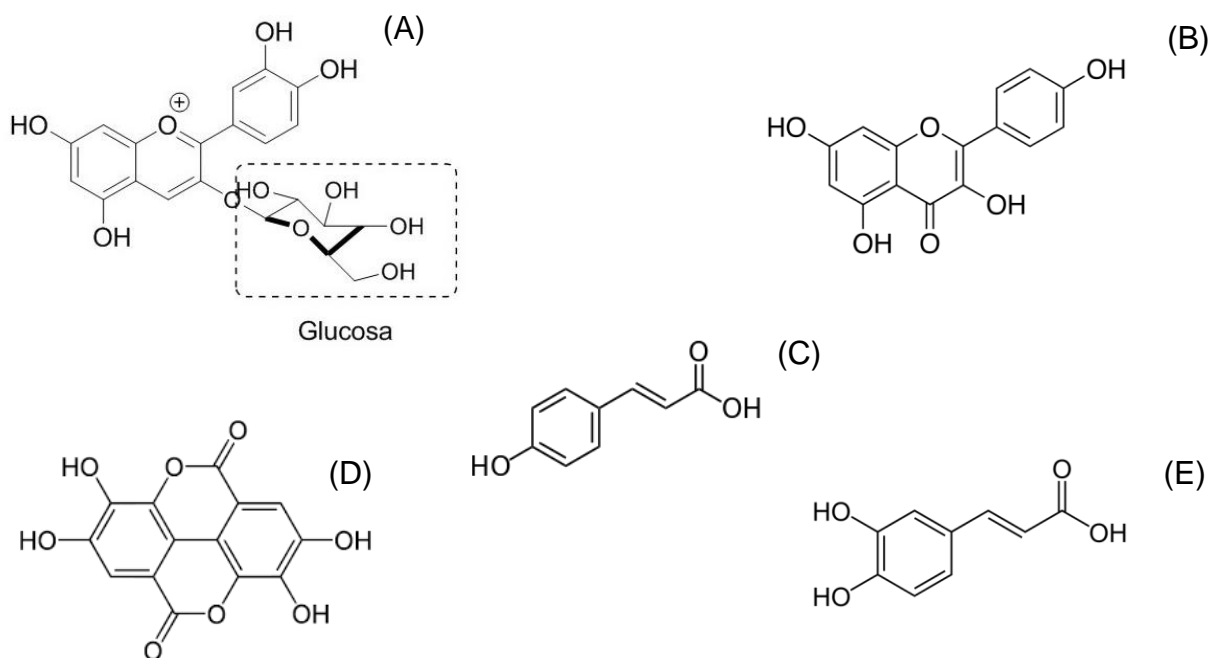
2.6 Propiedades

La fresa es uno de los frutos más apreciados en el mundo por su color, su sabor, y por su riqueza en vitaminas y minerales. Los frutos de la fresa son una excelente fuente de fibra y compuestos bioactivos, en particular carotenoides, fenoles, ácidos fenólicos, flavonoides y metabolitos endógenos. Las antocianidinas son cuantitativamente los más importantes polifenoles en esta fruta y son responsables de su color. De este grupo, el compuesto más abundante es la pelargonidina-3-glucosido (Hernández *et al.*, 2008; Villegas, 2012). Los ácidos fenólicos y sus derivados además pueden desempeñar un papel importante en las diferencias genotípicas y en la composición fitoquímica de la fresa parámetros que influyen en su la calidad, dado que contribuyen a sus atributos

sensoriales y a su valor nutricional y funcional (Villegas, 2012). En el cuadro 2, se muestran los compuestos antioxidantes con mayor importancia en la fresa.

Cuadro 2. Contenido de antocianidinas, flavonoles y ácidos fenólicos expresados en $\mu\text{g/g}$ de fresa fresca.

| Compuesto | Concentración |
|---------------------------------------|---------------|
| Antocianidinas | |
| Pelargonidinas-3-glucosido (A) | 12-248 |
| Flavonoles | |
| Kaempferol (B) | 6-39 |
| Ácidos Fenólicos | |
| Ácido p-cumárico (C) | 1.22-170 |
| Ácido elágico (D) | 27-49 |
| Ácido caféico (E) | 0.5-14 |



Fuente: Villegas, 2012

2.7 Procesamiento mínimo

Las ventajas que exhiben las frutas con un procesamiento mínimo, es que presentan características organolépticas y nutricionales similares a las frutas frescas y son fáciles de manejar por el consumidor. Su mínimo procesamiento consiste en operaciones de clasificación como, lavado, pelado y reducción de tamaño, por lo cual se comercializan como productos para consumo directo o para preparaciones culinarias rápidas. Un mínimo de procesamiento en frutas puede ser considerado como una alternativa a la comida rápida, atendiendo la demanda de alimentos sanos y convenientes (Vázquez *et al.*, 2013).

El daño a la calidad de frutas mínimamente procesadas aumenta durante el procesamiento, principalmente debido a la ruptura del tejido por daños mecánicos, por ejemplo durante las operaciones de lavado, pelado y cortado, que pueden acelerar procesos fisiológicos naturales; este daño mecánico desencadena procesos bioquímicos y físicos, que pueden provocar la degradación de color, textura, sabor y aroma del producto, así como alteraciones de origen microbiano disminuyendo la vida útil. Las frutas con procesamiento mínimo se consumen crudas, lo que obliga a extremar buenas condiciones de manipulación y a aplicar otras técnicas que permitan cierta inactivación microbiana (Vázquez *et al.*, 2013).

2.8 Factores poscosecha que afectan la calidad del fruto

Los procesos fisiológicos que más inciden en el deterioro de las frutas durante la poscosecha son la respiración y la transpiración, los cuales son acelerados por condiciones de temperatura y humedad a las que se somete el producto durante las fases de cosecha. Las frutas una vez cosechadas cuentan únicamente con las reservas de nutrientes almacenados y como ya no puede reponerlos, en la medida en que se van agotando tales reservas, se produce el proceso de senescencia o envejecimiento (Badui, 2013).

2.8.1 Respiración

La respiración es un proceso central en las células de las frutas y vegetales después de cosechados, que produce la liberación de energía a través de la ruptura de los compuestos de carbono y la formación de esqueletos necesarios para el mantenimiento y reacciones sintéticas durante la maduración poscosecha (Díaz, 2003). Por tanto, involucra reacciones complejas que en condiciones normales requiere de la presencia de (O_2) para la degradación de los compuestos (respiración aeróbica). Sin embargo, cuando los niveles de oxígeno son muy bajos, la respiración se desplaza hacia la ruta anaeróbica, generándose compuestos volátiles como el acetaldehído y etanol, que pueden dar origen a malos sabores. Basándose en los patrones de respiración y producción de etileno (C_2H_4) durante la maduración, los frutos se clasifican en climatéricos y no climatéricos.

1.- No climatéricos: los frutos maduran en la planta. Su calidad como alimentos disminuye si se recolecta antes de que maduren plenamente, pues su contenido en azúcares y en ácidos no sigue aumentando. Su ritmo de respiración va reduciéndose gradualmente durante el crecimiento y después de la cosecha. El pleno desarrollo y la maduración constituyen en ellos un proceso gradual. Ejemplo; limón, sandía y piña.

2.- Climatéricos: los frutos pueden cosecharse cuando han alcanzado su pleno desarrollo pero no han empezado a madurar. Esos productos pueden madurarse natural o artificialmente. El comienzo del proceso de maduración se acompaña de un rápido aumento de la velocidad de respiración, llamado climaterio respiratorio. Tras el climaterio el proceso de respiración se vuelve más lento, al tiempo de que el fruto madura y adquiere mayor calidad como alimento. Ejemplo; aguacate, mango y plátano.

La fresa está considerada como una fruta no climatérica, no presentan crisis climatérica, es decir, se debe recolectar casi en su punto de madurez comercial ya que una vez cortada de la planta no mejoraran sus características organolépticas (sabor, aroma y color).

2.8.2 Transpiración o pérdida de agua

El agua es el componente principal de las células vivas es también el de los alimentos: la forma, frescura y jugosidad de los alimentos viene determinada en gran parte por los diversos modos de coordinarse el agua con las materias insolubles. La transpiración es la principal causa de la pérdida de agua de las frutas y vegetales ocasionando pérdidas de peso, deterioro en la apariencia (marchitamientos y arrugamientos), disminución de firmeza (ablandamiento, pérdida de turgencia), cambios en la calidad nutricional, además de una mayor susceptibilidad a determinadas alteraciones tanto fisiológicas como patológicas (Contreras, 2010; Pérez, 2012).

La transpiración es un proceso por el cual los tejidos vegetales pierden agua en forma de vapor desde las células del interior hacia la atmósfera que los rodea. Las diferentes formaciones epidérmicas son las que regulan el flujo de vapor de agua hacia el exterior de los productos. El vapor de agua sale hacia el exterior desde los espacios intercelulares existentes entre las células del parénquima poroso, pasa a través de estomas, lenticelas, o epidérmicas representan la principal vía de pérdida de agua, mientras que la transpiración a través de la cutícula representa alrededor del 5-10% de la pérdida total (Contreras, 2010).

2.8.3 Etileno

El etileno (C_2H_4), es un gas natural que es producido por las plantas en forma constante. Su concentración en los frutos es muy baja y aumenta ligeramente antes de iniciar el proceso de maduración. Su producción aumenta cuando la planta está bajo mucho estrés, cuando ha sido maltratada físicamente, o cuando sufre algún ataque por microorganismos. Hay algunas frutas que producen más etileno que otras. El etileno constituye un importante factor desencadenante del proceso de maduración de los frutos (Pérez, 2012).

2.9 Tecnologías emergentes para la conservación pos cosecha.

Entre los retos más importantes de la industria alimentaria se encuentra la conservación y el procesamiento de alimentos, el proveer de ellos en cualquier época del año; la recolección de la fresa se centra en los meses de primavera, por lo que la posibilidad de comerla fresca se reduce a un periodo de 3 meses. La congelación es el principal método de conservación que permite su consumo durante todo el año, sin embargo este procedimiento provoca un importante deterioro físico y organoléptico (Martinez *et al.*, 2001).

Con el desarrollo de las técnicas avanzadas de producción de alimentos, el desafío es la forma de conservarlos con el fin de alargar su vida útil sin que se dañen sus características nutricionales y organolépticas. Se han identificado diferentes técnicas para extender la vida útil de estos vegetales: desinfección, absorbedores de etileno, irradiación, recubrimientos comestibles, inmersión en baños químicos, atmósferas modificadas y controladas, tratamientos térmicos leves y radiación ultravioleta (UV-C). La reacción positiva a uno o varios tratamientos depende de la matriz vegetal que se esté empleando y de esta forma producir una barrera que permita prolongar su vida de anaquel (Artés y Allende, 2005; Bico *et al.*, 2009; Denoya *et al.*, 2012).

2.9.1 Irradiación

Irradiar o ionizar un alimento consiste en exponerlo a una fuente de energía con finalidades como: reducción de la biocarga, especialmente de microorganismos patógenos, eliminación de insectos en tratamientos de cuarentena de cereales o frutos, inhibición de brotes en tubérculos y bulbos, retraso en los procesos fisiológicos poscosecha en vegetales frescos, mejora en las propiedades tecnológicas (Escobar *et al.*, 2014).

2.9.2 Campos eléctricos pulsantes de alta densidad (CEPAI)

La pasteurización con CEPAI involucra la utilización de pulsos eléctricos de alto voltaje en el alimento colocado entre dos electrodos. El tratamiento se realiza a temperatura ambiente o por debajo de ésta, en milésimas de segundos, y las pérdidas de energía por calor son minimizadas. Esta tecnología es considerada superior al tratamiento térmico convencional, debido a que reduce grandemente los cambios que ocurren en las propiedades sensoriales (sabor, color), y físicas (textura, viscosidad) de los alimentos. La aplicación de los CEPAI está restringida a aquellos productos alimenticios que puedan soportar campos eléctricos de alta densidad, la constante dieléctrica del alimento está estrechamente relacionada con su estructura física y su composición química (Escobar *et al.*, 2014).

2.9.3 Pulsos de Luz

Estos nuevos procesos son denominados por su nombre en inglés “Pure Bright”; los utilizan rayos de luz de corta duración en el espectro amplio de luz blanca para matar un amplio número de microorganismos incluyendo esporos y hongos. Cada pulso de luz dura solamente millonésimas de segundos. Durante cada pulso que pasa la intensidad de la luz es de unas 200.000 veces la intensidad de la luz en la superficie terrestre (Fernández *et al.*, 2001).

2.9.4 Campos magnéticos

La utilización de campos magnéticos oscilantes para la inactivación de microorganismos tiene el potencial de pasteurizar alimentos con una mejora en la calidad y en la vida de anaquel, en comparación con los procesos convencionales de pasteurización. Los campos magnéticos pueden ser estáticos (CMS) u oscilantes (CMO). En el magnético estático la intensidad del campo magnético es constante con el tiempo, mientras que en un campo magnético oscilante se aplica en forma de pulsos se aplica en forma de pulso; el campo magnético puede ser homogéneo o heterogéneo. La exposición a los campos magnéticos causa inhibición en el crecimiento y reproducción

de los microorganismos, un simple pulso de intensidad de 5 a 10 tesla y frecuencia de 5 a 500 kHz se aplica generalmente para reducir el número de microorganismos por lo mínimo en dos ciclos logarítmicos (Fernández *et al.*, 2001).

2.9.5 *Atmósferas controladas*

Atmosferas modificadas es una técnica física que no deja residuos químicos en los alimentos y se refiere básicamente a cualquier atmósfera con un contenido gaseoso diferente a la del aire normal (20-21% de O₂, 0.03% de CO₂, 78-79% de N₂ y trazas de otros gases). Las atmosferas controladas se refieren aquellas atmosferas estrictamente controladas durante todo el periodo de almacenamiento, empaque o transporte. El uso de estas tecnologías proporciona grandes ventajas para el manejo de frutas como son: el retardo de la maduración y senescencia, el alivio y/o control de algunos desórdenes fisiológicos como es el daño por frío, el control de insectos.

2.10 Recubrimientos y películas comestibles

Un recubrimiento comestible se puede definir como una matriz delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento del alimento o estará ubicada entre los componentes del mismo. Los recubrimientos comestibles en frutas crean una atmosfera modificada en el interior de estas, reduciendo la velocidad de respiración y retrasando el proceso de senescencia, debido a que crean una barrera a gases (O₂, CO₂ y vapor de agua). Esto retrasa el deterioro de la fruta causado por la deshidratación, mejorando las propiedades mecánicas, ayuda a mantener

2.10.1 *Recubrimientos comestibles a base de carbohidratos*

Los RC a base de polisacáridos tienen baja permeabilidad al oxígeno, lo que puede reducir la tasa de respiración de los productos mínimamente procesados. El almidón es el polisacárido más importante utilizado en la formulación de películas biodegradables y recubrimientos comestibles. Aunque el almidón es un material barato

y abundante, capaz de formar una matriz de polímero continúa; presenta un carácter hidrófilico que constituyen barreras pobres al vapor de agua. La adición de lípidos puede reducir la permeabilidad al vapor de agua, pero también afectan la transparencia y las propiedades mecánicas de los recubrimientos (Santiago, 2015).

2.10.2 Recubrimientos comestibles a base proteínas

Los recubrimientos elaborados con matriz estructural de proteínas, consisten en redes macromoleculares continuas, relativamente ordenadas y de baja humedad, presentan gran permeabilidad al vapor de agua, 2 o 4 veces más que los empaques de plásticos comerciales, son buenas formadoras de películas y se adhieren a las superficies hidrofílicas. Sin embargo, pueden aumentar su resistencia a la transmisión de vapor de agua mediante la combinación de proteínas con materiales hidrofóbicos. Estos recubrimientos compuestos, ofrecen una mayor expectativa de aplicación. Las principales proteínas que pueden ser empleadas en la elaboración de películas compuestas comestibles son: caseína, colágeno, gelatina, proteína de leche, proteína de soya, proteínas derivadas de los cereales (Santiago, 2015).

2.10.3 Recubrimientos comestibles a base de lípidos

Entre los materiales lípidos que se han empleado para la elaboración de formulaciones destinadas a productos mínimamente procesados, se encuentran las ceras de abejas, monoglicéridos acetilados, ácido esteárico, ácido láurico y ésteres de ácidos grasos (Jiménez *et al.*, 2012). 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 películas y recubrimientos quebradizos (Hernández, 2010).

2.10.4 Aditivos-plastificantes

Un plastificante se define como una sustancia estable, no volátil y con alto punto de ebullición, la cual ha sido adicionada a otro material y cambia las propiedades físicas y/o mecánicas de ese material. La adición de un plastificante permite la obtención de una película menos frágil, más flexible, más dócil, más dura, y resistente (Rooney, 1995; Piringer y Baner, 2000; Aguilar, 2005). Los recubrimientos y películas han sido usados por muchas décadas para proteger a los alimentos del ataque microbiológico y para prevenir la pérdida de agua durante el almacenamiento. El gran interés que han mostrado los consumidores de esta generación por la calidad de los alimentos que están consumiendo ha intensificado la investigación en esta área. El desarrollo de envases o recubrimientos biodegradables se justifica debido a su eficiencia para reducir la carga microbiana, la transferencia de masa entre el alimento y el medio donde se encuentra almacenado, y hacer empaques que no generen contaminación en el medio ambiente.

Muchas materias primas de origen biológico, incluyendo polisacáridos, proteínas, y lípidos, solos o en mezclas, han sido propuestas para la preparación de *films* comestibles o recubrimientos (Viroben., 2000). Los polisacáridos (almidón, carragenatos, pectina, quitosano), son capaces de formar una matriz estructural, algunos de estos también funcionan como plastificantes y en cuanto a la permeabilidad, las películas elaboradas con polisacáridos generalmente presentan buenas barreras a la humedad y propiedades mecánicas moderadas. Las proteínas (colágeno, gelatina, gluten de trigo, aislados proteicos de soya, proteínas de la leche), presentan barreras más débiles que los polisacáridos al vapor de agua, aunque desarrollan muy buenas propiedades de barrera al oxígeno y propiedades mecánicas que son muy favorables para recubrir alimentos. Por último, los lípidos (acetoglicéridos, ceras, surfactantes) son de gran ayuda para proteger al alimento.

El almidón es considerado un polímero con alto potencial para aplicaciones en plásticos y cubiertas biodegradables, debido a su disponibilidad en la naturaleza y bajo costo. Sin embargo, el almidón no reúne todas las propiedades necesarias que se requieren en la industria de empaques como son resistencia mecánica y poca transmisión de gases y agua. El carácter hidrofílico del almidón es el responsable de estas desventajas (Guerra *et al.*, 2008). Para mejorar las propiedades de las películas y recubrimientos a base de almidón, se han realizado diversos estudios en los cuales se ha evaluado la adición de otros biopolímeros como polisacáridos no amiláceos (pectinas, gomas, quitosano), proteínas y lípidos (Dias *et al.*, 2010).

Actualmente, se ha puesto mayor énfasis en el desarrollo de películas provenientes de fuentes renovables, debido principalmente a la creciente demanda de parte de los consumidores por preservar la calidad de los alimentos, la preocupación ambiental causada por la eliminación de materiales no renovables de embalaje y las oportunidades para abrir nuevos mercados para las materias primas que forman las películas a partir de productos agrícolas no tradicionales.

El emplear una mezcla natural de polisacáridos, proteínas y lípidos obtenidos de fuentes agrícolas, como las harinas tiene la ventaja de contener estos componentes en su medio ambiente original, sin necesidad de aislarlos y después mezclarlos, lo cual podría proporcionar un nuevo material para la elaboración de películas o recubrimientos comestibles. Adicionalmente, la separación de los componentes implica costos de producción, que produce un incremento en los precios de películas o recubrimientos (Mariniello *et al.*, 2003; Rodríguez *et al.*, 2013). El uso de las harinas permite obtener películas y recubrimientos con buenas propiedades mecánicas y de barrera, ya que las interacciones que se dan entre las diferentes macromoléculas dan una matriz que mejora estas características en las películas (Rodríguez *et al.*, 2013).

Recientemente se ha reportado que harinas como las de tubérculos, frutos como el plátano y semillas como el arroz, amaranto y quínoa (Figura 3) se han empleado para la fabricación de películas y recubrimientos comestibles, mejorando propiedades importantes para la preservación de los alimentos (Tapia *et al.*, 2005; Dias *et al.*, 2010; Acosta, 2011; Rodríguez *et al.*, 2013; Morales, 2014) .



Figura 3. Harina de quínoa

2.11 Materiales utilizados en la investigación

2.11.1 Quitosano

El quitosano fue descubierto por Rouget en 1859, es producido por la desacetilación alcalina parcial de la N quitina (Figura 4), la cual se extrae comercialmente de los caparazones de crustáceos como los camarones y cangrejos; aunque también se puede encontrar en la naturaleza en las paredes celulares de los hongos de la clase Zygomycete y en las cutículas de insectos. Químicamente es una molécula lineal de alto peso molecular heteropolisacarido policatiónico que comprende copolímeros de 1,4 D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina (Raafat *et al.*, 2008).

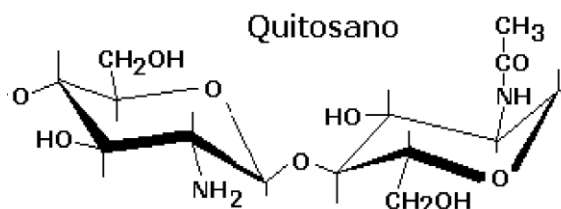


Figura 4. Estructura química de quitosano.
Fuente: Raafat *et al.*, 2008

En los últimos años, el quitosano y sus derivados han atraído la atención como agentes antimicrobianos contra hongos, bacterias, virus y a su vez como inductores de defensa de las plantas (Chirkov, 2012). Una aplicación comercial muy importante del quitosano es como biomaterial en la industria alimentaria para la preservación de alimentos. En general asumiendo la naturaleza catiónica del quitosano (pKa 6.3), transmitido por grupos NH_3 con carga positiva en las glucosaminas, podría ser un factor fundamental que contribuye a su interacción con la superficie de la célula microbiana cargada negativamente deteriorando las actividades bacterianas vitales (Raafat *et al.*, 2008). Gran parte del interés comercial en el quitosano surge de la combinación de características biológicas únicas que permiten una amplia gama de aplicaciones, incluyendo biodegradabilidad, biocompatibilidad, y no toxicidad;(Dodane y Vilivalam., 1998). Ha surgido como un nuevo biomaterial para la alimentación.

2.11.12 Quínoa

La quínoa (*Chenopodium quinoa Wild*) se cultiva en zonas áridas y semiáridas de los Andes (Figura 5). Tiene una gran adaptabilidad, tanto en latitud como en altitud, encontrándose desde el nivel del mar hasta los 4 000 metros de altura. Por sus características nutricionales, contenido de proteínas, vitaminas y minerales, este pseudocereal constituye una de las bases en la alimentación del poblador andino. La quínoa posee una proteína de alto valor biológico, por su elevado contenido de lisina y su balance de aminoácidos esenciales, resulta comparable a la proteína de origen animal. Se usa ampliamente, tanto en la alimentación humana, como animal, empleándose las hojas y tallos tiernos como verdura de hojas, y el grano maduro, directamente o procesado (Meyhuay, 2006).



Figura 5. Planta de quínoa. Fuente: Padrón *et al.*, 2014

La quínoa es uno de los pocos alimentos de origen vegetal que es nutricionalmente completo, es decir que presenta un adecuado balance de proteínas, carbohidratos y minerales, necesarios para la vida humana. En el cuadro 3 se muestra la composición proximal del grano de quínoa dentro de amplio rango de variabilidad.

Cuadro 3. Valores máximos y mínimos de la composición del grano de quínoa

| | | |
|----------------------|-------------|-------------|
| Proteína | 11.0 | 21.3 |
| Grasa | 5.3 | 8.4 |
| Carbohidratos | 53.5 | 74.3 |
| Fibra | 2.1 | 4.9 |
| Cenizas | 3.0 | 3.6 |
| Humedad (%) | 9.4 | 13.4 |

Fuente: Junge, 1975. Citado en "Quínoa, el grano de los Andes".

El intervalo de contenido proteico va de 11 a 21,3%, los carbohidratos varían de 53,5 a 74,3%, la grasa varía del 5,3 a 8,4%. Se encuentran apreciables cantidades de minerales, en especial potasio, fósforo y magnesio. En el cuadro 4, se compara el valor nutricional de la quínoa con los de otros cereales importantes utilizados en la alimentación humana.

Los granos contienen entre 58 y 68% de almidón y 5% de azúcares (Figura 6). Los gránulos de almidón son pequeños, contienen cerca del 20% de amilosa, y gelatinizan entre 55 y 65 °C. El valor biológico de los granos se debe a la calidad de la proteína, es decir a su contenido de aminoácidos. Se encuentran cantidades significativas de todos los aminoácidos esenciales, particularmente de lisina, triptófano y cisteína.

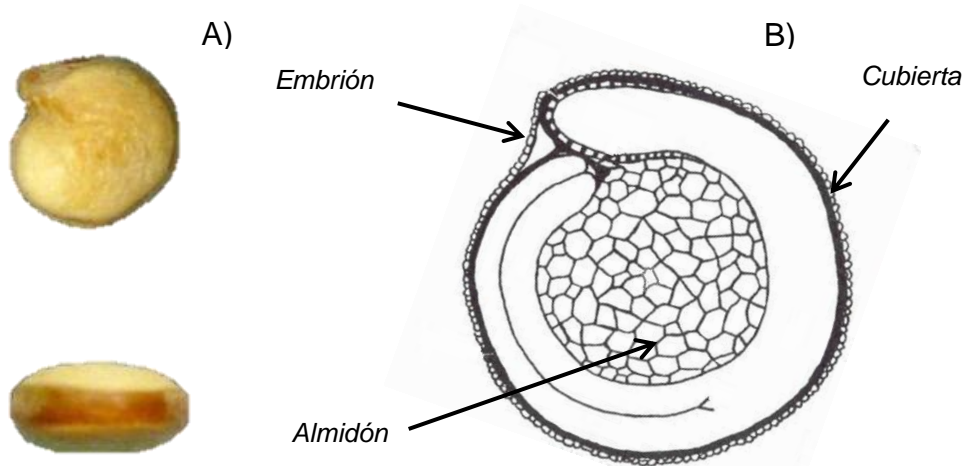


Figura 6. A) Fotografía de grano de quínoa (*Chenopodium quinoa Wild*) en posición horizontal y vertical, B) Sección Longitudinal media del grano de quínoa
 Fuente: Padrón *et al.*, 2014; Prego *et al.*, 1998. Seed Structure and Localization of Reserves in *Chenopodium quinoa*

Cuadro 4. Valor nutricional de la quínoa comparado con otros cereales.

| | Quínoa | Trigo | Arroz | Maíz |
|-----------------------------------|---------------|--------------|--------------|-------------|
| Valor energético Kcal/100g | 350.00 | 305.00 | 353.00 | 338.00 |
| Proteína g/100g | 13.81 | 11.50 | 7.40 | 9.20 |
| Grasa g/100g | 5.01 | 2.00 | 2.20 | 3.80 |
| Hidratos de Carbono g/100g | 59.74 | 59.40 | 74.60 | 65.20 |
| Agua g/100g | 12.65 | 13.20 | 13.10 | 12.50 |
| Ca mg/100g | 66.60 | 43.70 | 23.00 | 150.00 |
| Mg mg/100g | 408.30 | 406.00 | 325.00 | 256.00 |
| K mg/100g | 1 040.00 | 502.00 | 150.00 | 330.00 |
| Fe mg/100g | 10.90 | 3.30 | 2.60 | - |
| Mn mg/100g | 2.21 | 3.40 | 1.10 | 0.48 |
| Zn mg/100g | 7.47 | 4.10 | - | 2.50 |

Fuente: "Quínoa el Grano de los Andes". Comité de Exportación de Quínoa. La Paz-Bolivia.

La quínoa es uno de los granos más nutritivos, tanto por su composición química, como por la cantidad y calidad de sus proteínas, ha sido seleccionado por la FAO como uno de los cultivos destinados a ofrecer seguridad alimentaria, debido a su calidad nutritiva, su amplia variedad genética, su adaptabilidad y su bajo costo de producción (FAO, 2011).

Este grano no solo se caracteriza por la calidad nutritiva que aporta sino también por su contenido de compuestos fenólicos que otorga a la dieta, en el cuadro cinco se presentan los flavonoides y ácidos fenólicos identificados en quínoa acorde a información recopilada por (Taylor *et al.* 2014). Estudios recientes sugieren que muchos bioactivos en alimentos (proteínas y péptidos, ácidos grasos poliinsaturados, fibra, fenólicos, carotenoides, probióticos y prebióticos) pueden ejercer efectos antioxidativo, antitrombótico, hipocolesterolémico, antimicrobiano e inmunomodulador (Padrón *et al.*, 2014).

Cuadro 5. Identificación de compuestos fenólicos libres en de especie de quínoa blanca (mg/kg).

| Compuesto fenólico | Quínoa blanca |
|--|----------------------|
| Quercetina | 5.27±0.82 |
| Kaempferol | 2.56±0.08 |
| Epigallocatequina | 1.55±0.03 |
| Epicatequina | 14.62± 0.12 |
| Biochanina A | 0.67±0.27 |
| Vainillina | 4.19±0.09 |
| Ácido ferúlico | 37.52±2.61 |
| Ácido <i>p</i>-cumárico | 13.01±0.58 |
| Ácido cafeico | 4.39±0.02 |
| Ácido <i>p</i>- hidroxibenzoico | 5.84±0.72 |
| Ácido isoferúlico | 8.21±0.26 |

n = 3. Los valores son promedios ± D.E.

Fuente: Padrón *et al.*, 2014

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA/JUSTIFICACIÓN

La fresa es un fruto que se deteriora de 2 a 3 días en condiciones naturales, por lo que es necesaria la aplicación de métodos para su conservación. En la actualidad los consumidores demandan productos naturales con el menor procesamiento posible y el uso mínimo de productos químicos, es por esto que se ha prestado atención a la búsqueda de procesos alternativos, sustancias antimicrobianas y antioxidantes capaces de actuar como alternativa de conservación natural.

Existen distintas alternativas de conservación para retardar la degradación de las fresas, las más utilizadas son la refrigeración y la congelación, sin embargo, estas técnicas suelen ser deficientes en cuanto a las características nutricionales y sensoriales de los alimentos. Otra técnica recientemente aplicada es la aplicación de recubrimientos comestibles los cuales son una opción de conservación y se definen como una o varias capas delgadas de un material que puede ser consumido por los seres vivos y que a la vez puede actuar como barrera a la transferencia de agua, gases y solutos de alimentos.

La aplicación de recubrimientos comestibles, no solo se puede utilizar para la conservación de la vida de anaquel de los alimentos como las fresas, sino también como acarreadores de sustancias que están confinadas en una matriz polimérica, tales como antioxidantes y macromoléculas de valor nutrimental, que intervienen en las propiedades mecánicas y de barrera. Las harinas como la de quínoa son fuentes naturales, tienen la ventaja de contener estos componentes en su medio original, sin necesidad de aislarlos lo cual podría proporcionar un nuevo material para la elaboración de películas o recubrimientos comestible, biodegradables y por ser un recubrimiento directamente en el fruto implica una cubierta protectora adicional que actúa como barrera física y proporciona defensa a daños mecánicos, físicos y biológicos durante el transporte o almacenamiento de los productos.

4. HIPÓTESIS

La aplicación de un recubrimiento formulado con quitosano-quínoa constituirá una alternativa para prolongar la vida poscosecha de la fresa

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de un recubrimiento comestible formulado con quitosano-quínoa, sobre la calidad nutrimental, funcional y sensorial poscosecha de fresa.

5.2 Objetivos específicos

- Establecer las condiciones para la obtención de la harina de la semilla de quínoa, además de determinar su composición química.
- Determinar las proporciones de los materiales que se emplearán para las formulaciones del recubrimiento comestible.
- Establecer las condiciones para la aplicación del recubrimiento a las fresas.
- Evaluar las propiedades de calidad; pérdida de peso, color, pH, °Brix, acidez titulable, actividad antioxidante, antocianinas, flavonoides, vitamina C y análisis microbiológico durante el almacenamiento de la fresa.
- Determinar si el recubrimiento comestible afecta las características organolépticas de la fresa mediante una prueba triangular.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materia prima

Se utilizaron fresas de la variedad Albión, provenientes de Peribán de Ramos, Michoacán, México, las cuales fueron adquiridas en la central de abastos de la ciudad de Xalapa Ver. Los granos de quínoa fueron adquiridos en el centro semillero de la ciudad de Xalapa Ver., para su posterior procesamiento. También se utilizó quitosano (SIGMA 85% desacetilado a partir de caparazones de jaiba). Para la obtención del aceite esencial de naranja por hidrodestilación, se ocuparon los desechos orgánicos de juguerías de la ciudad de Xalapa, Ver.

6.2 Obtención de harina de quínoa

Se le realizó a los granos adquiridos un control de humedad por triplicado de acuerdo a la metodología descrita por la AOAC. Para la extracción de la harina se utilizó el método descrito por (Parker, 2005). La semilla no procesada trae consigo impurezas propias de la cosecha, entre las que se encuentran: restos de hojas, piedras, etc. La eliminación se realizó en forma manual, posteriormente se procedió a lavar la semillas con agua fría con el propósito de eliminar las saponinas. Hasta que la producción de espuma cesó; las semillas se dejaron estilar por algunos minutos en una bandeja confeccionada con una rejilla de acero galvanizado de 30 mallas. La semilla húmeda se colocó en la bandeja con un espesor no superior a 2 cm para optimizar el secado, el cual se realizó en una estufa con circulación de aire a una temperatura de 50°C hasta alcanzar una humedad del $15 \pm 2\%$.

La molienda se realizó en una licuadora de uso comercial por 10 min de la cual se obtuvo la harina la cual posteriormente fue tamizada con un tamaño de malla No.80, se obtuvo un polvo fino.

6.2.1 Caracterización química de la harina de quínoa

La composición proximal de la harina se realizó según los procedimientos de la A.O.A.C. (1990 y 1996) y A.O.C.S. (1993).

Determinación del contenido de humedad

Para los análisis de humedad se utilizó el método descrito por Pearson (1976) en el cual, la muestra es sometida a una temperatura de 155°C durante 15 minutos, hasta peso constante. La humedad se determinó por diferencia de peso, en base seca.

Determinación del contenido de cenizas

Esta determinación se realizó según el método oficial de la A.O.A.C 923.03 (1996) para cenizas en harinas. Se pesó una muestra de entre 2 y 3 gramos de harina en cápsula de porcelana, se flameo por algunos minutos a llama directa hasta que no desprendió humo. Posteriormente, se colocó en una mufla a 550°C por un lapso de 8 horas y se determinó gravimétricamente, el porcentaje de cenizas.

Determinación del contenido de proteínas

Esta determinación se realizó por el método oficial de la A.O.A.C (1990), Kjendahl. La muestra se digiere a través de una hidrólisis ácida liberando amonio, cuya cantidad fue determinada por una titulación, convirtiendo este valor en cantidad de proteína a través de un factor que depende de la muestra a analizar, en este caso el factor utilizado fue de 5.7, el cual corresponde a cereales.

Determinación del contenido de materia grasa

El contenido de materia grasa de la muestra se realizó a través del método oficial A.O.C.S Ab 3-49 (1993) método de Soxhlet. Se extrajo la materia grasa de la muestra con un solvente orgánico, el cual posteriormente fue evaporado para y se determinó la cantidad de grasa por gravimetría.

Determinación del contenido de fibra cruda

Se determinó mediante el método oficial A.O.A.C (1996), el cual consistió en someter la muestra seca y desgrasada a una hidrólisis ácida y luego a una hidrólisis alcalina. Se calculó gravimétricamente el contenido de fibra de la muestra, una vez que ésta fue calcinada.

6.3 Extracción de aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*)

En un matraz balón de 2 L, se colocó 1 kg de cáscara fresca y se agregaron 250 mL de agua destilada de acuerdo a lo descrito por (Yañez *et al.*, 2007), se adaptó una trampa de clewenger al sistema de destilación, para tener una mejor separación del aceite. Se extrajo los residuos de agua del aceite esencial recolectado con 10 mg de sulfato de sodio anhidro por mL de aceite, posteriormente se mantuvo en agitación por 10 min y se centrifugó a 3500 rpm, el aceite se mantuvo en refrigeración a 4 °C, en frasco ámbar, (anexo 2).

6.4 Formulación del recubrimiento comestible

Para el recubrimiento comestible se realizaron 2 formulaciones distintas que se describen a continuación en el cuadro 6.

Cuadro 6. Formulaciones propuestas para recubrimientos comestibles.

| MATERIA PRIMA | FORMULACIÓN RC1 | FORMULACIÓN RC2 |
|---------------------------|-----------------|-----------------|
| HARINA DE QUINOA (p/v) | 2% | 2.5% |
| QUITOSANO* | 2% | 2% |

(*) El quitosano se disolverá en la misma proporción con ácido cítrico monohidratado (p/p).

6.5 Aplicación del recubrimiento

Se probaron 3 metodologías diferentes para la aplicación del recubrimiento: aspersión, inmersión y barnizado con un pincel de cerdas finas para evitar estrés en la fruta por daño mecánico; debido a que las fresas no tiene una superficie uniforme la aspersión y la inmersión no cubrían por completo las inclusiones donde se encuentra la semilla, por otro lado el barnizado de las fresas se aseguró de que el recubrimiento fuera uniforme en toda la fresa. Una vez elegida la técnica para la impregnación del recubrimiento se procedió a barnizar un total de 20 fresas por tratamiento. Esto con la finalidad de realizar los exámenes por duplicado, Las fresas se almacenaron durante 20 días a 10 ± 2 °C. Los análisis se realizaron cada 5 días hasta finalizar el tratamiento.

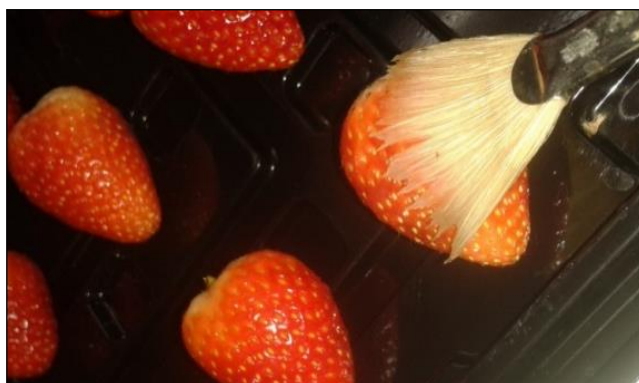


Figura 7. Fresas barnizadas con recubrimiento comestible

6.6 Diseño experimental

En el cuadro 7 se muestra el diseño de bloques del análisis estadístico, si existen diferencias significativas se llevó a cabo el análisis de medias por el método de Tukey.

Cuadro 7. Diseño experimental de bloques

| | |
|-------------------------------|--|
| Tratamientos | Control, Recubrimiento comestible 1 y 2 |
| Bloques | Días 0, 5, 10, 15 y 20 |
| Variables de respuesta | Pérdida de peso, pH, °Brix, Acidez titulable, color, apariencia física, ácido ascórbico, carotenos totales, flavonoides, polifenoles, antocianinas, actividad antioxidante, y población microbiana |

6.7 Evaluación de vida poscosecha

6.7.1 Selección de formulación de recubrimiento comestible

En esta primera parte del proyecto, el objetivo fue elegir la mejor formulación para el recubrimiento comestible, que cumpliera con el propósito de incrementar la vida poscosecha de la fresa, para lo cual se evaluó a cada tratamiento la pérdida de peso, determinación de color y apariencia física.

6.7.2 Pérdida de peso

Se pesaron los frutos individualmente en una balanza con 0.0001 g de sensibilidad, cada 5 d durante el tiempo de seguimiento del tratamiento para determinar la pérdida de peso. Se utilizaron guantes de látex y se desinfectó la balanza con alcohol al 70% entre cada pesada para evitar contaminación cruzada. Se determinó la fracción peso de acuerdo a la ecuación:

$$\% \text{ Pérdida de Peso} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} * 100$$

6.7.3 pH

Los frutos fueron molidos en un mortero hasta que se obtuvo una mezcla homogénea. El pH se determinó en la muestra pulverizada con un potenciómetro marca HANNA modelo HI 4521.

6.7.4 Sólidos solubles totales

Los frutos fueron molidos con mortero hasta que se obtuvo una mezcla homogénea. La determinación de sólidos solubles se realizó de acuerdo a la NMX-F-103-1982, con un refractómetro manual (ATAGO ATC-1. Tokio Japan).

6.7.5 Acidez total

La acidez fue determinada por el método 942.15 AOAC. En 10 g de muestra pulverizada y se homogenizaron con 90 mL de agua destilada, la mezcla se filtró al vacío y el filtrado se le agregaron 3 gotas de una solución indicadora de fenolftaleína al 1% en alcohol etílico al 60% marca Golden Bell. Se tituló con una solución valorada de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N hasta que se obtuvo un vire de incoloro a rosa. Para su cuantificación se utilizó la siguiente ecuación el resultado se expresó en g de ácido cítrico/100 g de muestra.

$$\text{g Ácido Cítrico} = \frac{(\text{mL NaOH})(0.1\text{N})(\text{Meq. Ac. Cítrico})}{100 \text{ g}} * 100$$

6.7.6 Color

El color se determinó con un colorímetro marca Color Flex, Hunter Lab; durante el almacenamiento cada 5 días. Las mediciones se realizaron para cada uno de los frutos, determinando las coordenadas CIE- L*, a*, b*, hue (h*) y croma (C*). Se realizaron 3 mediciones de tres cuadrantes diferentes del fruto para obtener un promedio; esto con la finalidad de cubrir la mayor superficie ya que no es homogénea. Se realizaron mediciones de color exterior e interiormente, este último se realizó con un corte horizontal obteniendo dos caras internas las cuales se promediaron, para obtener un parámetro de calidad interno.

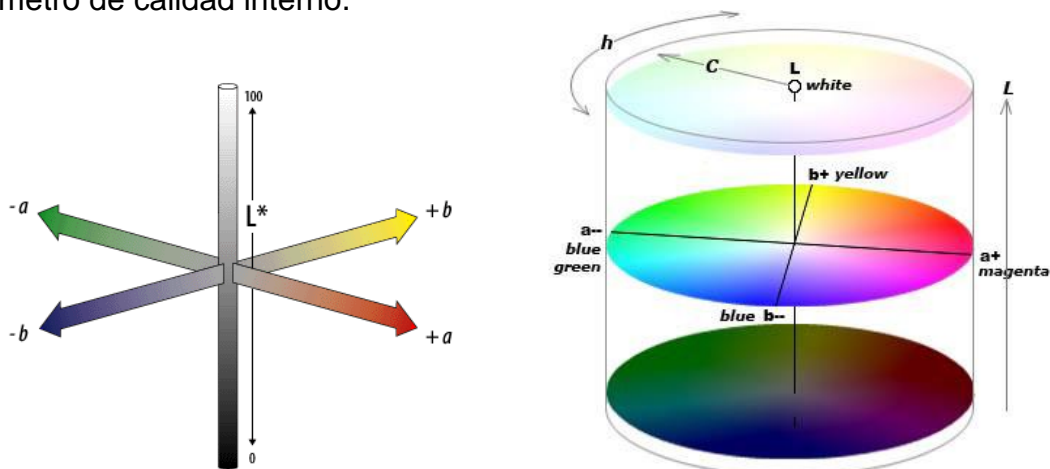


Figura 8. Geometría del modelo de color CIE-L*a*b*

6.7.7 Apariencia física

Se tomaron imágenes con una cámara fotográfica para monitorear la apariencia física de las fresas durante su almacenamiento, y los cambios visuales que presentaron, sobre todo daños por frío y crecimiento microbiológico.

6.8 Evaluación de compuestos bioactivos

6.8.1 Elaboración de extractos

Los extractos metanolicos se realizaron a partir de una mezcla de metanol acuoso (80:20 v:v) y 20% de ácido clorhídrico 1M, a este se le denominó metanol acidificado (MA). Posteriormente 2 g de macerado de fresas, se homogenizaron con 20 mL de MA por en agitación con ayuda de una parrilla magnética por 1 hora, esto con el objetivo de realizar la hidrólisis en los enlaces glucosídicos a los que están ligados este tipo de compuestos y así tener una cuantificación certera de los compuestos libres, posteriormente se filtró con papel filtro Whatman para separar el sobrenadante; los extractos se almacenaron en frascos ámbar a 4°C para su análisis.

6.8.2 Ácido ascórbico

Para la determinación de ácido ascórbico se realizó por método espectrofométrico de la segunda derivada descrito por (Pfundt *et al.*, 2003). Mediante una curva estándar de ácido ascórbico en el rango de UV-Vis a 280 nm. Se tomaron 5 g de muestra homogenizada y se llevaron a aforo con 25 mL de HCl 1M, posteriormente se centrifugó a 5000rpm durante 10 min. El sobrenadante se leyó a 280 nm, el blanco fue la solución de HCl 1M.

6.8.3 Determinación de carotenos totales

La cuantificación de carotenos totales se realizó a los descrito por (Domínguez, 1997) con modificaciones, se maceraron 2 g de fruta con 10 mL de acetona hasta que la muestra quedó transparente, los extractos se filtraron para pasar a un embudo de separación, donde se le agregaron 5 mL de éter de petróleo y se mezclaron, posteriormente se añadieron 15 mL de agua destilada y se observó separación de capas (Figura 9 capa superior etérea), se mantuvo en reposo por 5 minutos.

Se realizó la separación de capas y la capa inferior se extrajo nuevamente con 5 mL de éter de petróleo y 15 mL de agua. Los extractos se lavaron 3 veces con 10 mL de agua. Posteriormente se realizó la lectura espectrofotométrica a 450 nm usando como blanco éter de petróleo. Se aplicó la siguiente formula;

$$\text{Carotenos (mg): } \frac{L \times 3.857 \times 100}{M}$$

Donde:

L= Lectura de absorbancia

M= Peso de la muestra



Figura 9. Separación de capa etérea para extracción de carotenos

6.8.4 Flavonoides

La determinación de flavonoides totales se realizó por triplicado con el método descrito por (Zhishen y Mengcheng, 1999), con algunas modificaciones. A 250 μL de extracto MA de fresa se le adicionaron 1250 μL de agua destilada, 75 μL de NaNO_2 al 5%, se homogenizó por 5 min y posteriormente se añadieron 150 μL de AlCl_3 al 10%, se incubó por 5 min y se adicionaron 500 μL de NaOH 1M. Se aforó a 3 mL con agua destilada y se leyó absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. La concentración de flavonoides totales se calculó con base en una curva estándar de quercetina, y los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina por 100g de peso de muestra (mg EQ).

6.8.5 Polifenoles

La determinación de polifenoles totales se realizó por triplicado con el método de Folin Cicalteau, se utilizó el ácido gálico como estándar y se realizó una curva a partir de una solución patrón con una concentración de 50 mg/mL. En 50 μL del extracto MA se añadieron 200 μL de agua destilada y 250 μL de reactivo de Folin Cicalteau 50% v/v, esta mezcla se agitó en vortex por 3 minutos y posteriormente se adicionaron 500 μL de Na_2CO_3 (7.5% p/v), se homogenizó y se incubó por 15 minutos a 45 °C. La absorbancia se midió a 765 nm, el blanco fue MA y se reportó como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por 100 g de muestra.

6.8.6 Antocianinas

Se determinaron las antocianinas monoméricas por método espectrofotométrico de pH diferencial, para esto se realizó un barrido de 700 a 420 nm. Se diluyó 2.5 mL del extracto MA en 25 mL de agua destilada, posteriormente se tomaron alícuotas de 600 μL y se les adicionó soluciones amortiguadoras de pH 1 y 4.5, finalmente se realizó el barrido. Y se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas Monoméricas} = \frac{(A) (PM) (FD) (1000) (10 g)}{\epsilon \times l}$$

Dónde:

A= [(A máx – A 700 nm) pH1] – [(A máx – A 700 nm) pH 4.5]

PM= 449.2 de cianidina-3 glucósido

ϵ = 26 900

6.8.7 Actividad antioxidante

La capacidad de captación de radicales fue determinada usando el radical 1,10-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) descrito por Williams *et al.*, (1995). La decoloración del radical se determinó a 517 nm y en para la cuantificación se utilizó una solución patrón de trolox (0-800 μ M). Los volúmenes utilizados fueron 1.25 mL de DPPH y 0.75 mL del extracto metanólico. Las lecturas de absorbancia se realizaron en el minuto 30. Los resultados fueron expresados como capacidad antioxidante en equivalentes de trolox (TEAC).

6.8.8 Determinación microbiológica

Asépticamente se tomaron 10 g de muestra por triplicado y se homogenizaron por un minuto en 90 mL de solución amortiguadora de fosfatos. Del homogenizado se tomó 1 mL de la muestra y se inoculó por duplicado sobre placas de papa dextrosa acidificado con ácido tartárico al 10% (p/v), para hongos y levaduras, se incubaron por 3-5 días a 25°C de acuerdo a lo establecido en la (NOM-111-SSA1-1994). Los resultados se expresaron como Log UFC/g.

7. Análisis estadístico

Se llevó a cabo el ANOVA de dos vías ($\alpha = 0.05$), donde los tratamientos fueron representados por una formulación quitosano-quínoa y un control, además de los días que tardaron las fresas en almacenamiento. Las variables de respuesta fueron los parámetros de conservación poscosecha: pérdida de peso, pH, °Brix, acidez titulable, color, vitamina C, carotenos totales, flavonoides, polifenoles, antocianinas, actividad antioxidante, y población microbiana. El análisis de medias fue por la prueba de Tukey. Los resultados obtenidos fueron procesados con el software estadístico (SigmaStat), versión 3.5.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Caracterización de harina de quínoa

Para la caracterización de la harina de quínoa se obtuvieron los siguientes datos que se muestran en el cuadro 8, los cuales fueron similares a los reportados por la FAO en 2013, excepto los carbohidratos específicamente el almidón, el cual tuvo valores por arriba del reportado, constituyéndose en un componente esencial para la formulación de recubrimientos comestibles.

Cuadro 8. Composición química de harina de quínoa, promedios \pm D.E.

| PARAMETRO | % en 100g* | FAO |
|---------------|------------------|------------|
| HUMEDAD | 11.55 \pm 0.40 | 9.4-13.40 |
| CENIZAS | 3.25 \pm 0.02 | 3.0-3.60 |
| EXT. ETÉREO | 7.2 \pm 0.45 | 5.3-8.40 |
| PROTEINA | 16.3 \pm 0.12 | 11.0-21.30 |
| CARBOHIDRATOS | 60.8 \pm 0.10 | 53.5-74.30 |
| ALMIDÓN | 58.0 \pm 0.03 | 50.0 |
| GLUTEN | ND | ND |
| FIBRA | 3.5 \pm 0.30 | 2.1-4.90 |

*bs

8.2 Evaluación de pérdida fisiológica de peso

Durante el estudio, el grupo de fresas recubierto con la formulación (F2) se destacó desde el quinto día de almacenamiento en comparación de (F1 y C), mostrando valores mínimos de pérdida de peso, [$F_{2,14}=5.838$, $p<0.05$], C: 19.04 \pm 0.19%, F1: 21.53 \pm 0.45% y F2: 8.37 \pm 0.02% (Figura 10).

La pérdida de peso se observó en todos los grupos durante el almacenamiento, sin embargo; la pérdida fue significativamente en menor tiempo para el grupo control (C), presentando en el décimo día una pérdida de $36.00 \pm 0.24\%$ de su peso inicial, lo cual demuestra su alta tasa de respiración y que como consecuencia el decaimiento en general de la fruta. Entre los grupos tratados con recubrimiento también se observaron diferencias significativas [$F_{4,14}=6.418$, $p<0.05$], la mejor formulación fue F2, el recubrimiento confirió la menor pérdida de peso.

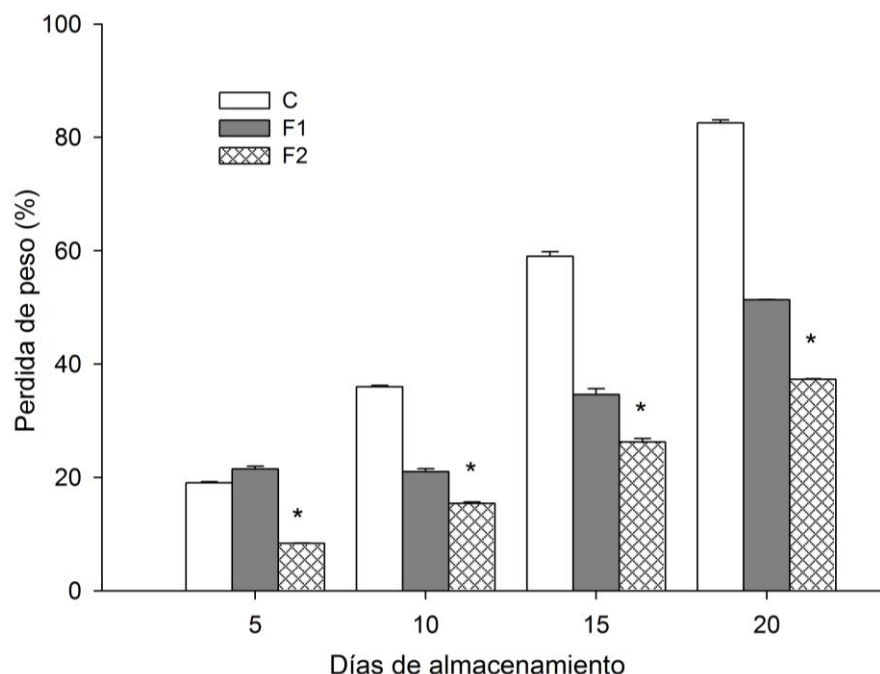


Figura 10. Porcentaje de pérdida de peso en fresas con recubrimiento (F1, F2) y control (C) almacenados a $10 \pm 2^\circ\text{C}$. Datos expresados como promedios \pm D.E. ($\alpha=0.05$).

Trejo *et al.*, (2007) evaluaron fresas recubiertas con gelatina por 10 días almacenadas a 5°C . Los primeros 6 días no mostraron diferencias significativas en pérdida de peso, sin embargo, posterior al séptimo día se observó disminución en pérdida de peso en fresas tratadas no así en el grupo control; por otro lado Rastrepo *et al.*, (2010) utilizaron recubrimientos comestibles a base de gel mucilaginoso de penca de sábila, el análisis no mostró diferencias estadísticas ($p>0.05$) en la pérdida de peso de las fresas recubiertas con respecto al control los 3 y 5 de almacenamiento; sin embargo las diferencia se observaron en los días 7 y 10.

Bajo este contexto el tratamiento con quitosano-quínoa mostró diferencias significativas en pérdida de peso, las cuales se logran observar desde el quinto día, en contraste con los autores antes mencionados el almacenamiento se realizó con +5°C, esto expone al fruto a un incremento en la tasa de respiración y por consecuencia aceleramiento de su vida útil, sin embargo esto demuestra la efectividad del recubrimiento en condiciones extremas para el fruto. Lo anterior reafirma que el proceso fisiológico más importante que inciden en el deterioro de las fresas durante la etapa poscosecha es la pérdida de agua, misma que se disipa en forma de vapor de agua a consecuencia de la respiración, este proceso da como resultado la pérdida de firmeza y acelera el decaimiento en general del fruto.

8.3 Determinación pH

La determinación de pH no mostró cambio significativos de las medidas iniciales entre los tratamientos ($p < 0.05$), sin embargo, después del día 15 se originaron diferencias significativas destacables [$F_{4,14} = 9.197$, $p < 0.05$], entre el control y las muestras recubiertas (Figura 11), lo cual es explicado por el propio efecto de senescencia del fruto.

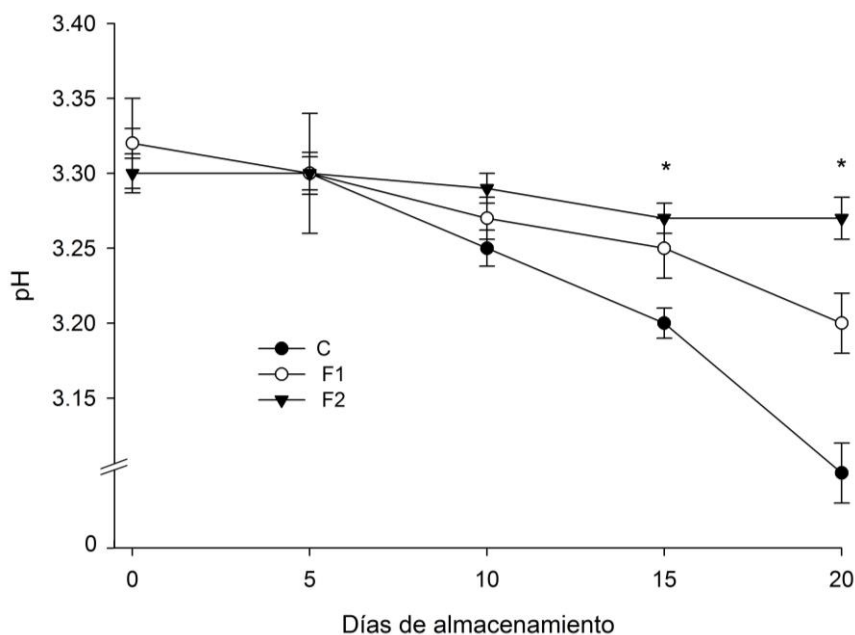


Figura 11. Determinación de pH en fresas con recubrimiento (F1, F2) y control (C) almacenados a $10 \pm 2^\circ\text{C}$. Datos expresados como promedios \pm D.E. (*) $\alpha = 0.05$.

8.4 Determinación de sólidos solubles totales

En la Figura 12 se presentan los resultados obtenidos para sólidos solubles totales, los primeros cinco días no se observaron diferencias, fue hasta el día diez donde los tratamientos muestran diferencias significativas con respecto al grupo control [$F_{2,14}=6.925$ $p<0.05$], ya que los grados brix muestran el grado de madurez de la fruta esto se correlaciona con la pérdida de peso y el aumento de sólidos solubles que por lo general son ácidos orgánicos provenientes de los azúcares lo cual provoca a su vez la disminución de pH.

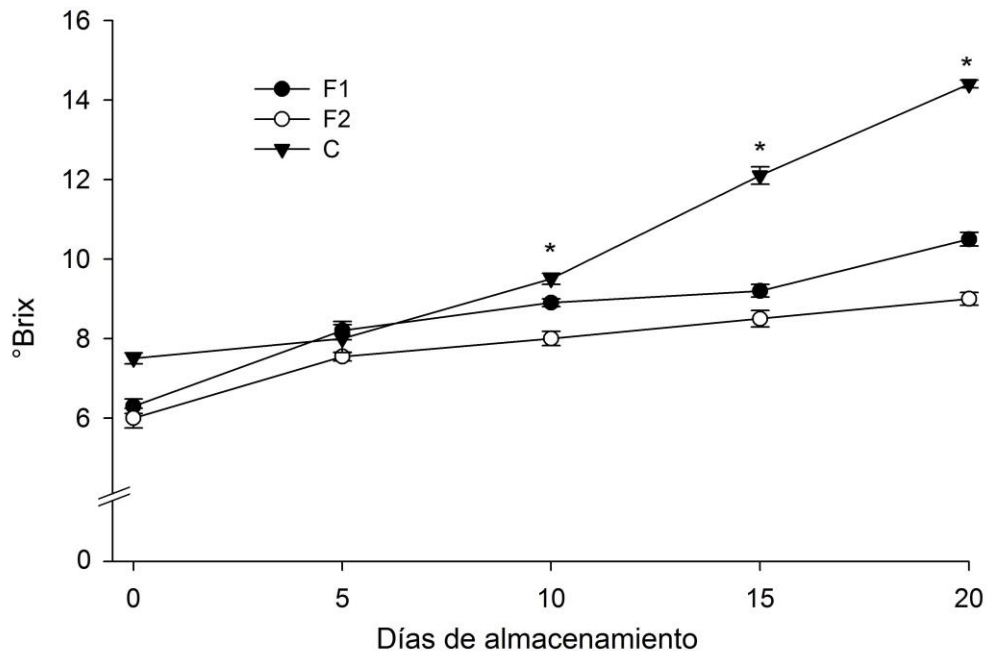


Figura 12. Determinación de sólidos solubles en fresas con recubrimiento (F1, F2) y control (C) almacenados a $10 \pm 2^\circ\text{C}$. Datos expresados como promedios \pm D.E. ($\alpha=0.05$).

Rastrepo *et al.*, (2010) observó diferencias significativas ($p<0.05$) en el día 9 de almacenamiento en los grupos de fresas recubiertas con mucilago de sábila con respecto al grupo control. En este experimento no se observó variación en los sólidos solubles totales en los primeros 5 días del ensayo.

8.5 Determinación acidez titulable

En cuanto a la determinación de acidez (Figura 13), no se encontraron diferencias significativas en las formulaciones y el grupo control ($F_{4,14} = 0.742$ $p > 0.05$) a través de los días de almacenamiento.

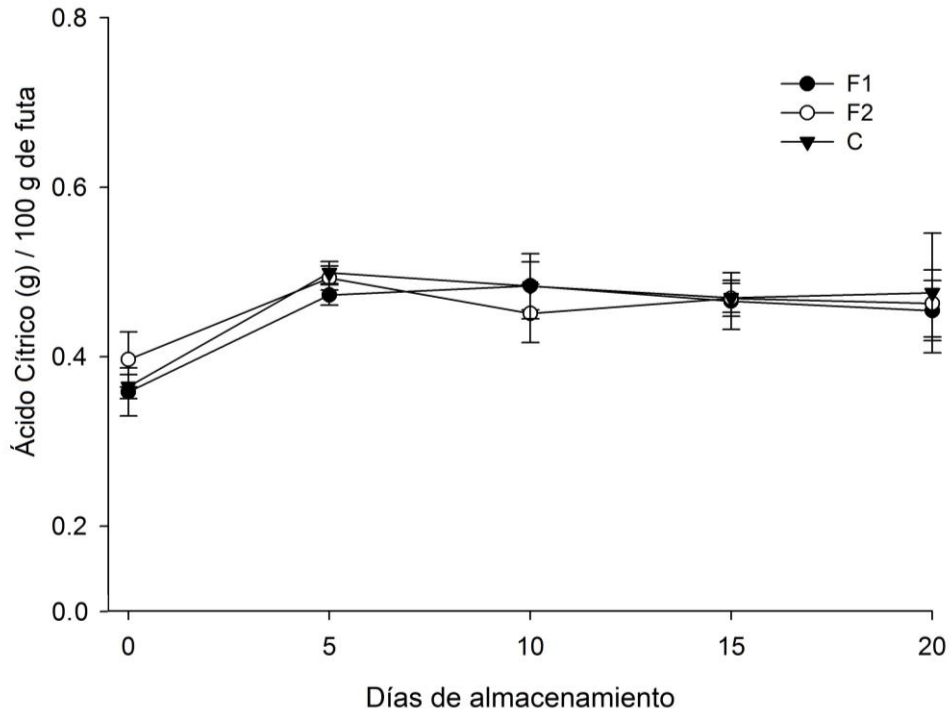


Figura 13. Determinación de acidez titulable en fresas con recubrimiento (F1, F2) y control (C) almacenados a $10^{\circ}\text{C} \pm 2$. Datos expresados como promedios \pm D.E. ($\alpha=0.05$).

En los últimos años se han incrementado los ensayos de poscosecha aplicando recubrimientos formulados con quitosano debido principalmente a su biocompatibilidad con otras sustancias como antioxidantes que pueden enriquecer al recubrimiento, proporcionando un aporte extra al alimento. En caso particular de la fresa Hernández *et al.*, (2008), realizaron ensayos con recubrimientos comestibles elaborados con quitosano y calcio almacenados a 10°C durante una semana, evaluaron pérdida de peso. En el día 5 las fresas tratadas perdieron menos de 20% de su peso original, esto concuerda con nuestro ensayo, en donde el quitosano forma parte de la formulación del recubrimiento.

8.6 Determinación de color

Los alimentos, tanto en forma natural como procesada, presentan un color característico y bien definido mediante el cual el consumidor lo identifica. Los colores de los alimentos se deben a distintos compuestos, principalmente orgánicos, como los pigmentos naturales. El color es el primer contacto que tiene el consumidor con los productos y posteriormente los juzga por su textura, sabor, etc. Esto es contundente ya que en innumerables pruebas se ha comprobado que cuando el color de un fruto cambia se obtiene una respuesta de rechazo por parte de los consumidores, o incluso, de los catadores entrenados; el color influye en la percepción de las características nutricias del alimento (Badui, 2013). El Cuadro 9 y 10 muestra los parámetros colorimétricos obtenidos para las fresas.

Cuadro 9. Parámetros de color en superficie de fresas recubiertas F1, F2 y C.

| Día | C | | | F1 | | | F2 | | |
|-----|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| 0 | 35.19±0.55 | 35.01±0.36 | 26.34±1.59 | 34.605±0.67 | 30.49±0.42 | 30.22±0.03 | 31.55±0.67 | 34.27±0.53 | 28.66±0.48 |
| 5 | 32.2±1.60 | 31.33±0.47 | 23.59±2.96 | 30.675±2.10 | 29.44±1.17 | 23.41±1.16 | 29.98±0.82 | 31.23±1.08 | 27.23±0.95 |
| 10 | 27.23±3.53 | 28.15±1.77 | 25.85±2.67 | 30.055±1.40 | 28.56±0.23 | 20.37±2.05 | 28.76±0.28 | 31.49±1.13 | 24.56±1.56 |
| 15 | 27.2±0.28 | 23.25±1.12 | 17.77±1.44 | 29.06±0.55 | 27.61±0.02 | 21.69±1.73 | 27.96±1.37 | 30.08±1.41 | 21.3±5.28 |
| 20 | 26.18±1.15 | 19.98±1.59 | 16.83±0.87 | 28.805±1.16 | 21.16±0.45 | 17±0.60 | 27.65±0.93 | 29.54±0.11 | 22.45±0.19 |

Promedios ±D.E.

Cuadro 10. Ángulo de color y tono en superficie de fresas recubiertas F1, F2 y C.

| Días | F1 | | F2 | | C | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | h* | C* | h* | C* | h* | C* |
| 0 | 0.639 | 39.23 | 0.641 | 37.53 | 0.645 | 35.56 |
| 5 | 0.605 | 35.80 | 0.594 | 38.01 | 0.645 | 39.21 |
| 10 | 0.780 | 42.92 | 0.693 | 38.41 | 0.742 | 38.21 |
| 15 | 0.688 | 34.57 | 0.723 | 39.21 | 0.652 | 29.26 |
| 20 | 0.676 | 27.14 | 0.733 | 39.58 | 0.700 | 26.12 |

De acuerdo a la imagen 8, se muestra el parámetro representado con la letra (a^*), muestra tonalidades que van de colores verdes ($-a^*$) a rojos ($+a^*$), Todos los grupos se ubicaron en ($+a^*$) que corresponde a coloraciones rojizas, sin embargo conforme al paso del almacenamiento este valor fue disminuyendo en todas las formulaciones, se observó una disminución menor para F2 en comparación de F1 y C.

Para linealizar los valores obtenidos de los parámetros colorimétricos se eligió lo propuesto por (Ahmed *et al.*, 2000) donde los valores de L^* , a^* , y b^* al tiempo cero se dividieron entre los parámetros iniciales (Figura 10), obteniendo una cinética de orden cero, que representa la degradación de color en el superficie de las fresas conforme al almacenamiento.

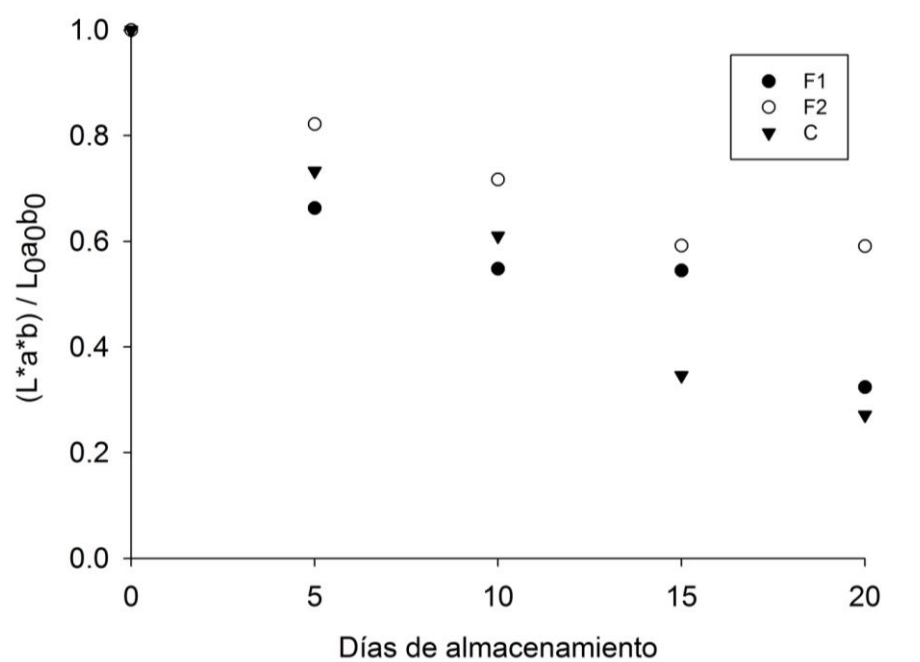


Figura 14. Cinética de degradación de color en superficie de fresas recubiertas (F1, F2) y control (C), almacenados a $10 \pm 2^\circ\text{C}$

La determinación de color se realizó de la misma forma para el interior del fruto, en el cual a diferencia de la superficie que es rojo escarlata, por dentro predominan colores blanquecinos y rosáceos. En el cuadro 11 y 12 se muestran los parámetros correspondientes; esta medición se realizó con la intención de observar si el RC preservó el tejido interno.

Cuadro 11. Parámetros de color en el interior de fresas recubiertas F1, F2 y C.

| Día | C | | | F1 | | | F2 | | |
|-----|------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| 0 | 56.66±3.86 | 27.90±0.88 | 24.32±1.88 | 51.18±2.31 | 25.01±2.70 | 26.47±1.99 | 57.09±1.37 | 26.08±3.13 | 27.02±3.55 |
| 5 | 48.00±0.21 | 23.13±8.52 | 22.70±3.63 | 50.10±3.71 | 23.60±0.43 | 26.60±0.54 | 53.20±0.14 | 25.30±0.22 | 25.66±2.10 |
| 10 | 47.75±9.03 | 23.02±2.26 | 22.60±2.43 | 49.84±1.67 | 21.92±4.39 | 24.30±0.66 | 47.90±1.61 | 18.35±3.64 | 25.36±0.98 |
| 15 | 40.01±4.58 | 19.52±0.28 | 19.70±0.98 | 48.63±1.11 | 21.00±4.75 | 22.67±1.24 | 45.90±0.89 | 18.02±1.03 | 24.14±0.35 |
| 20 | 36.28±1.28 | 16.18±12.21 | 19.50±2.26 | 46.43±2.10 | 19.70±0.75 | 21.34±0.84 | 45.13±0.28 | 15.51±0.35 | 22.18±1.69 |

Promedios ±D.E.

Cuadro 12. Ángulo de color y tono en el interior de fresas recubiertas F1, F2 y control.

| Días | F1 | | F2 | | C | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | h* | C* | h* | C* | h* | C* |
| 0 | 0.802 | 37.56 | 0.773 | 34.96 | 0.852 | 35.15 |
| 5 | 0.778 | 36.10 | 0.807 | 35.57 | 0.761 | 38.55 |
| 10 | 0.956 | 31.39 | 0.803 | 31.57 | 0.883 | 32.58 |
| 15 | 0.921 | 30.31 | 0.825 | 30.76 | 0.744 | 33.46 |
| 20 | 0.960 | 27.07 | 0.872 | 28.24 | 0.823 | 29.22 |

La cinética de degradación de color interno, manifestó un comportamiento de orden cero (Figura 15), similar en la superficie de la fruta. Los grupos tratados con recubrimiento manifestaron una pérdida de color lenta en el interior de la fruta a comparación del control; sin embargo, esta disminución fue significativa para F2.

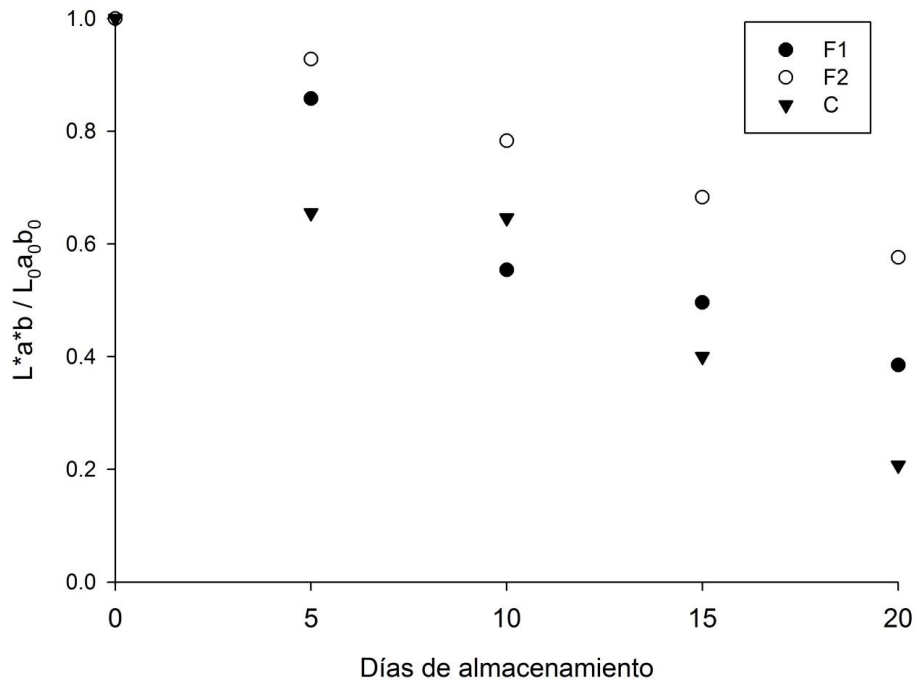


Figura 15. Cinética de degradación de color en interior fresas recubiertas (F1, F2) y control (C), almacenados a $10 \pm 2^\circ\text{C}$.

Los parámetros más importantes para esta cuantificación fueron (a^*) y (L^*), como se mencionó anteriormente en la superficie de la fruta predomina la coloración rojiza, por otro lado en el interior es blanquecina, esto otorga mayor luminosidad, con el tiempo en almacenamiento se vuelven marrones en el interior y exterior, esto ocurre debido al oscurecimiento enzimático. La medición al interior del fruto se realizó con la finalidad de comprobar la permeabilidad de los recubrimientos ya que este debe actuar como una barrera semipermeable a gases y no ser totalmente una barrera hidrófoba que estrese a la fruta y perezca rápidamente.

8.7 Apariencia física

Se tomaron fotografías de las fresas para evaluar el aspecto físico en la superficie de la fruta (Figura 16), así como en su interior (Figura 17), durante el almacenamiento; se observó en los grupos tratados una disminución de oscurecimiento por frío en dermis, a diferencia del grupo control que presentó esta pigmentación. Sin embargo entre las formulaciones se observó desprendimiento de RC y oscurecimiento en el día 20 para F1. Por otro lado en los grupos tratados el crecimiento microbiano fue nulo en comparación al control, el cual se observa crecimiento al día 15 de almacenamiento, esto se le atribuye a que los componentes de las formulaciones de RC contienen dentro de su matriz polimérica quitosano y aceite esencial de naranja, ambos con propiedades antimicrobianas.

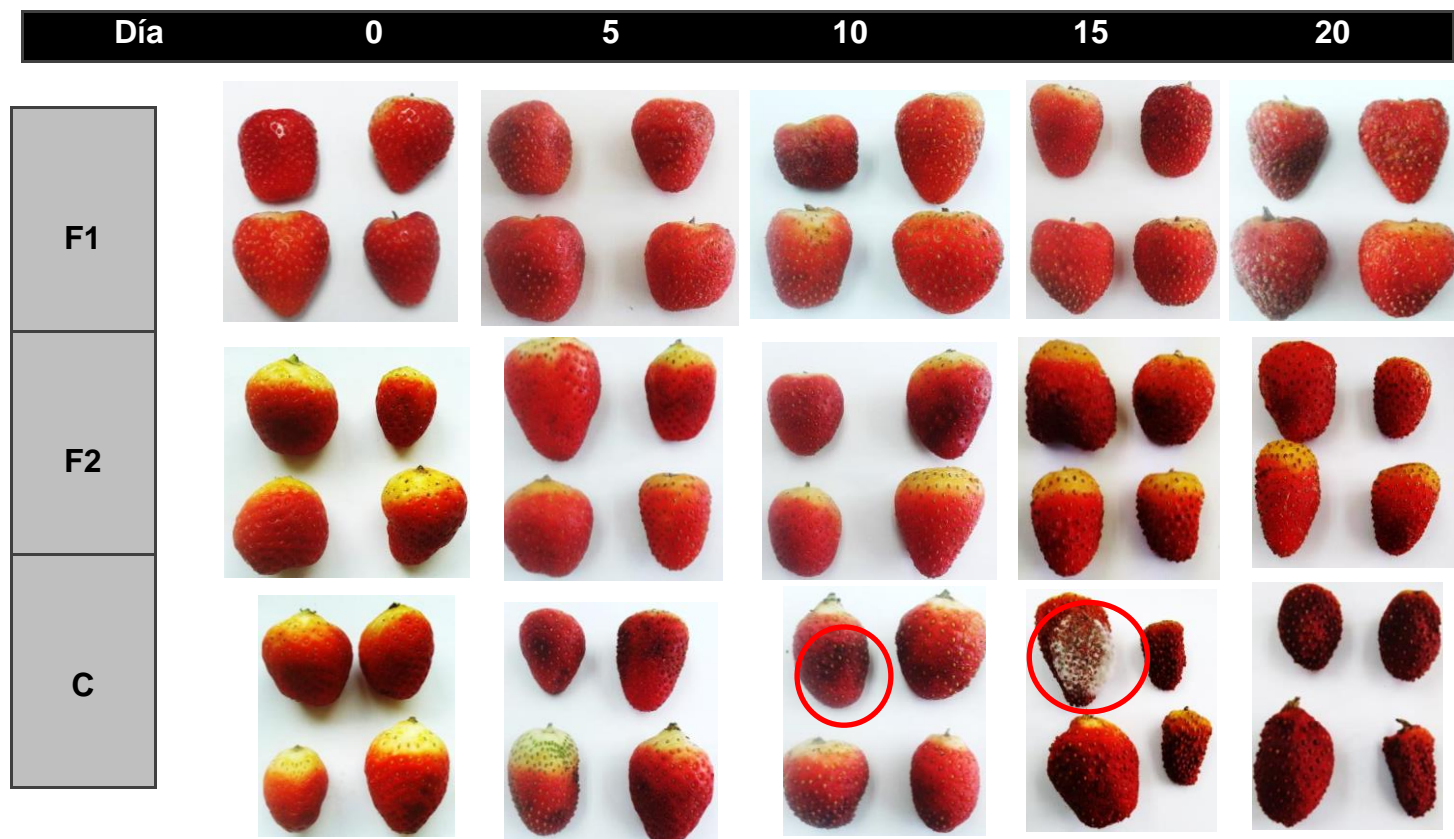


Figura 16. Aspecto de la superficie de fresas recubiertas F1, F2 y control (C), almacenados a $10^{\circ}\text{C} \pm 2$, durante 20 días.

Las principales causas de la reducción o terminación de la vida comercial de las fresas y frutas en general cosechadas son: deshidratación, pérdida de peso, desarrollo de sabores y olores desagradables, cambios de color, ablandamiento y daño por frío en el almacenamiento con refrigeración. La pérdida de peso durante el almacenamiento constituye el factor determinante del deterioro poscosecha, aunque este parámetro físico afecta principalmente a la piel y no a la pulpa de la fruta. El exocarpo o piel, es una característica de calidad comercial visible, su apariencia es tan importante económicamente como el sabor de la pulpa. El aumento de la tasa de respiración provoca la reducción de la vida comercial de las fresas, por lo que el uso de un recubrimiento adecuado favorece a la preservación de las cualidades deseables del fruto (Badui., 2013).

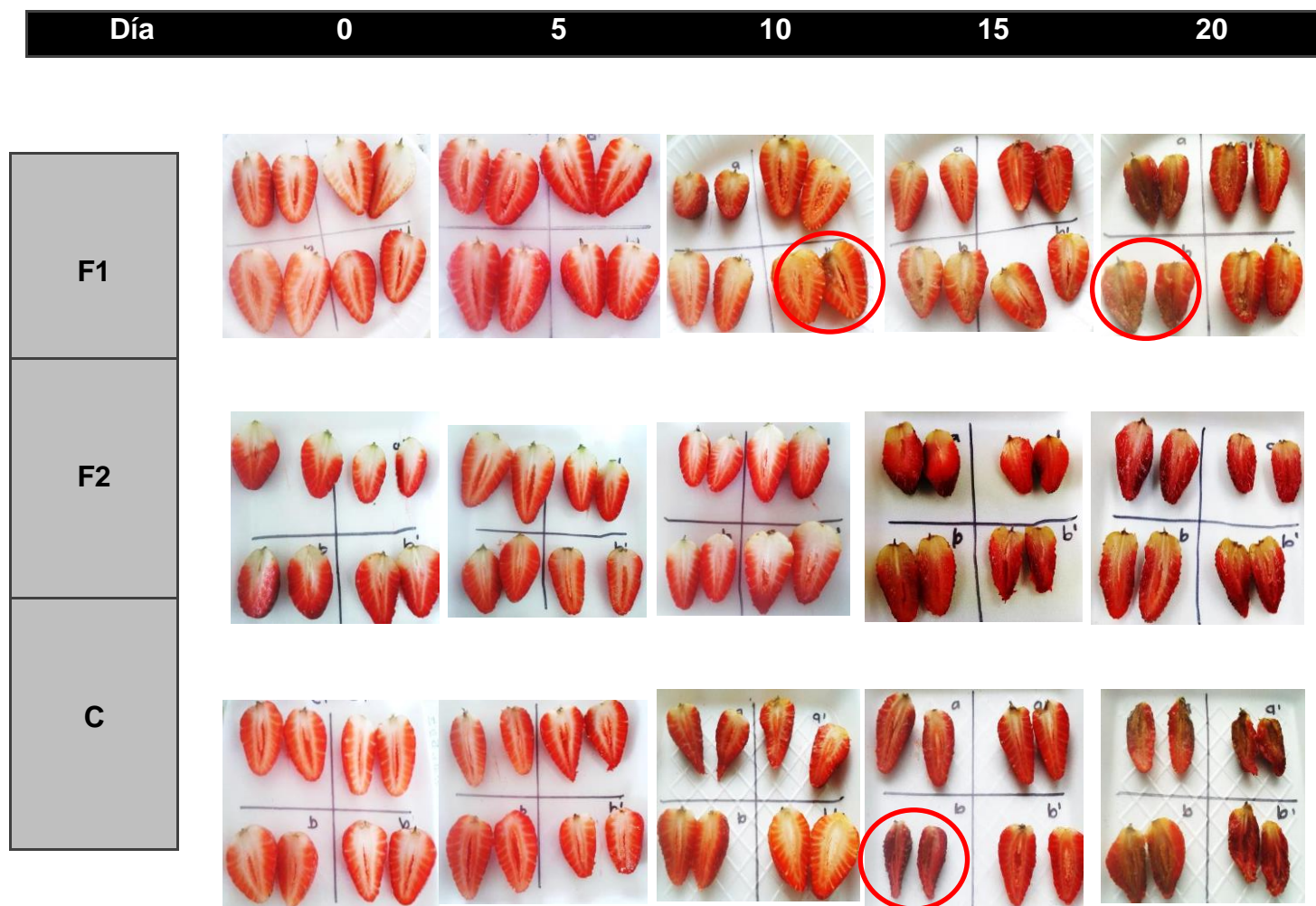


Figura 17. Apariencia del interior de fresas recubiertas F1, F2 y control (C), almacenados a $10 \pm 2^\circ\text{C}$, durante 20 días.

En cuanto al interior del fruto, el grupo control presenta deshidratación y oscurecimiento más perceptible en el día 10, esto debido al proceso de maduración y senescencia de la fruta (Hernández et al., 2006), en comparación de las fresas con recubrimiento, donde se observaron centros claros y brillantes, predominantemente en F2. Esto corrobora que el recubrimiento protege la dermis de daños por frío y microbiológicos que a su vez se refleja en el interior de las fresas.

De acuerdo a los resultados y evidencia obtenidos en las pruebas anteriores se decidió utilizar la formulación (F2) para el recubrimiento comestible de frutos de fresa, y prosiguiendo con un análisis sobre compuestos bioactivos y su presencia durante el almacenamiento.

8.8 Análisis de compuestos bioactivos

El uso de recubrimientos sobre frutas y vegetales prolonga el tiempo de almacenamiento poscosecha, ya que forman una barrera semipermeable a la humedad y gases principalmente teniendo como consecuencia una mejora en sus propiedades organolépticas, así como reducir la deshidratación del fruto (Krochta *et al.*, 1997).

Uno de los procesos fisiológicos que más inciden en el deterioro de los frutos durante la etapa poscosecha son la respiración y pérdida de agua, estos procesos son acelerados por incremento de la temperatura obteniendo como resultado la pérdida de firmeza y desagrado del consumidor; con la aplicación del recubrimiento estos factores logran aminorarse para postergar la vida poscosecha de la fresa.

Un punto importante en la preservación de la fruta es mantener la firmeza y ser visualmente atractiva para el consumidor; el aporte y la preservación de compuestos bioactivos son de vital importancia con respecto a la calidad nutritiva, el objetivo principal de este trabajo, es la preservación poscosecha de la fresa sin embargo a su vez se busca mantener compuestos de interés que proporcionen un beneficio a la salud, tales como carotenos, vitamina C, polifenoles, flavonoides y antocianinas.

8.8.1 Carotenos

El contenido de carotenos se determinó espectrofotométricamente; se cuantificó la degradación por efecto natural de senescencia a lo largo del almacenamiento, (Figura 18) se observaron diferencias significativas desde el día 5 [$F_{1,9}=9.945$, $p<0.05$] por efecto del tratamiento, (Día 0- C: 4.12 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruta, RC 4.06 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruta al día 5 registró en el grupo C: 2.23 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruta mientras que en el grupo RC: 1.38 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruta).

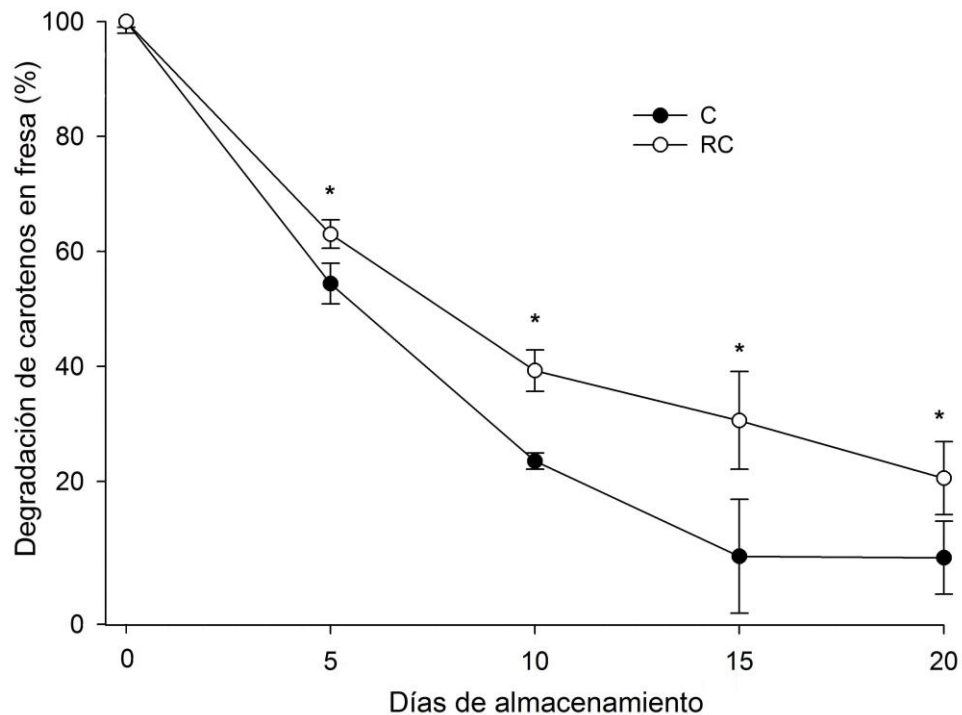


Figura 18. Degradación de carotenos totales en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10^{\circ}\text{C} \pm 2$. Datos expresados en porcentaje \pm D.E.

Los carotenos son compuestos orgánicos liposolubles, responsables de coloraciones rojizas, amarillas y naranjas, en las fresas el caroteno más abundante es el β -caroteno. El color de estos se debe a la conjugación de enlaces, y a la presencia de anillos en los extremos de la estructura, la mayoría de estas estructuras se presentan en configuración *trans*, que es la más estable en la naturaleza, sin embargo también pueden presentarse en *cis* por efecto de factores externos de degradación,

cabe destacar que al sufrir modificaciones estructurales presenta también cambios en el color, y al mismo tiempo afecta el valor nutritivo, por lo que disminuir su degradación es prioridad para que puedan ser aprovechados. Su actividad biológica provitamina A se deriva precisamente por la similitud entre estructuras químicas (Figura 19), sobre todo se centra en el anillo de β -ionona aunque la estructura presenta múltiples enlaces provocando fácilmente la isomerización y como consecuencia una oxidación irreversible de este compuesto.

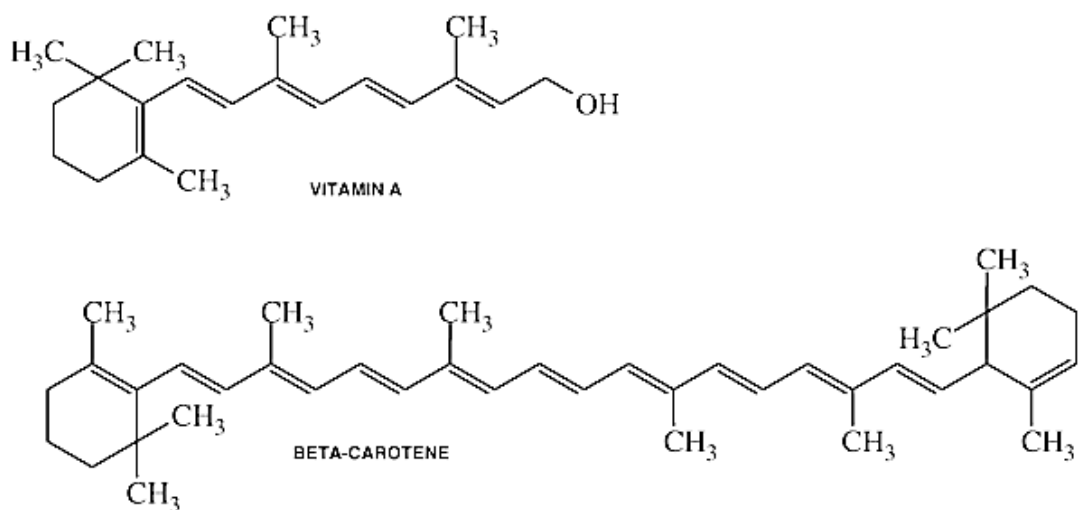


Figura 19. Estructura química de β -caroteno y Vitamina A.
Fuente: Badui, 2013

La degradación de estos compuestos se da principalmente por su oxidación la cual se acelera efecto de la temperatura, presencia de la luz y disponibilidad del oxígeno, este proceso es semejante a la auto oxidación de las grasas insaturadas. El principio de los RC es formar una barrera que proteja al alimento y a los compuestos bioactivos retardando su degradación, por factores externos (Badui, 2013).

8.8.2 Ácido ascórbico

Junto con los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico es el otro gran compuesto antioxidante de la fresa, algunos autores le atribuyen entorno a un 25% de la capacidad antioxidante total, se cuantificó la degradación de esta vitamina durante el almacenamiento (Figura 20), el análisis mostró diferencias significativas por tratamiento desde el día 5 [$F_{1,9}=26.81$ $p<0.05$].

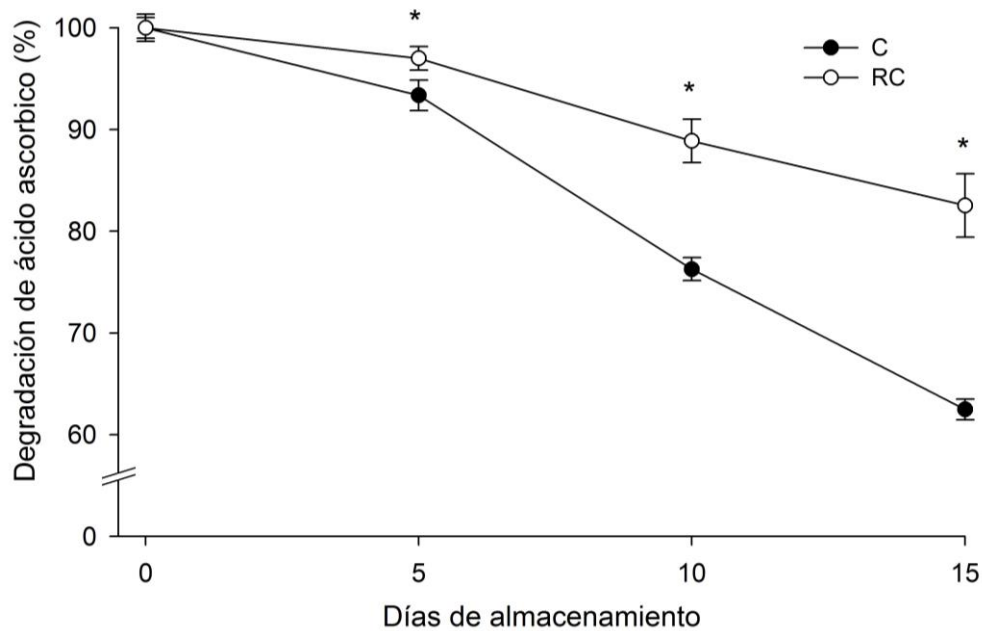


Figura 20. Degradación de ácido ascórbico en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^\circ\text{C}$. Datos expresados en porcentaje \pm D.E.

Algunas frutas como las fresas, sintetizan el ácido ascórbico paralelamente a los pigmentos, aun cuando éste disminuye una vez que son recolectadas. El contenido de vitamina C en fresas oscila entre 40-60 mg/100g de fruta, el consumo diario recomendado en México de 40 mg para niños y 60 mg para un adulto; para obtener este aporte se debería consumir aproximadamente de 6 a 7 fresas diarias (FAO 2003).

La degradación de esta vitamina depende de muchos factores como temperatura y luz principalmente, el ácido ascórbico se oxida produciendo ácido L-ascórbico y L-deshidroascórbico a estos isómeros se les atribuye su actividad biológica sin embargo si continua la oxidación se producen compuestos furfurales que confieren olores desagradables y melanoidinas al fruto, provocando desagrado al consumidor.

8.8.3 Flavonoides

Se cuantificó espectrofotométricamente el contenido de flavonoides durante los días de almacenamiento y fueron expresados como miligramos equivalentes de quercetina (mg EQ) por 100g de fruta (Figura 19), los resultados fueron significativos desde el primer día [$F_{1,9}=97.5$ $p<0.05$].

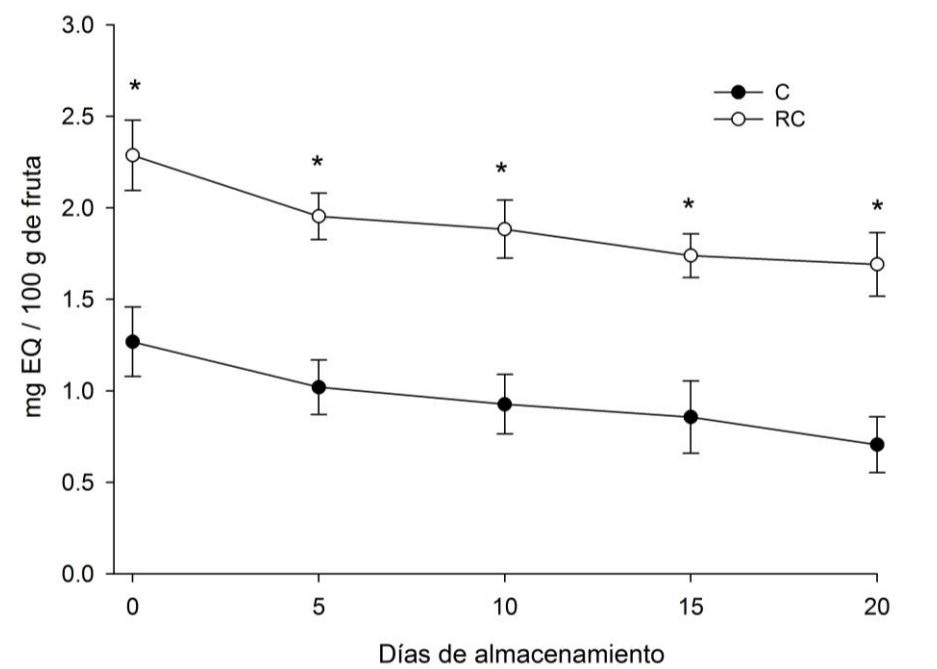


Figura 21. Contenido quercetina en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10^{\circ}\text{C} \pm 2$. Datos expresados en promedio \pm D.E.

Este efecto pudiera atribuirse a la composición del recubrimiento, ya que se ha demostrado que la quínoa tiene un aporte significativo de compuestos fenólicos (FAO 2003), por otro lado el aceite esencial de naranja es obtenido de la cascara o flavedo del fruto, que es donde se encuentran los depósitos oleosos, y donde se almacena la mayor cantidad de compuestos fenólicos en la naranja, lo que pudiese darle ese incremento tan denotado en la fresa recubierta (Giuseppe *et al.*, 2007).

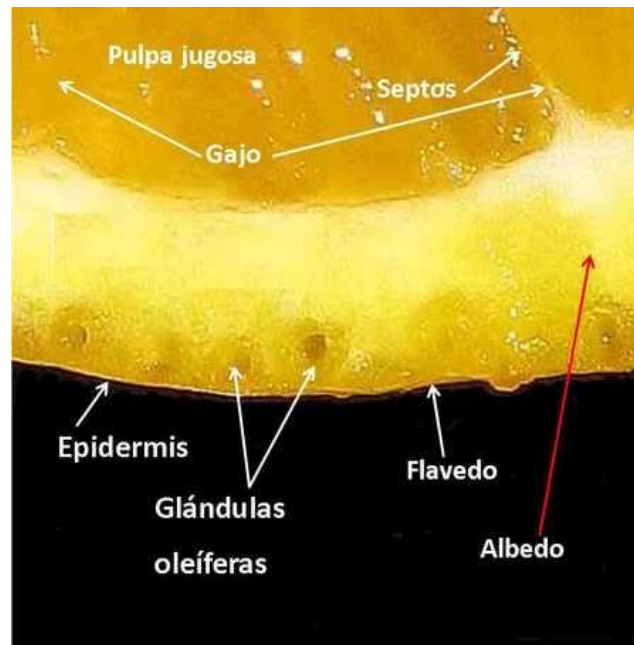


Figura 22. Corte sección del borde del fruto donde se observa las glándulas oleíferas seccionadas muy cercanas a la epidermis.
Fuente: Giuseppe *et al.*, 2007

Otro de los componentes de la formulación fue la harina de quínoa, cantidades significativas de componentes bioactivos han sido identificados en granos de quínoa (Cuadro 13); factores genéticos, procesos agrotécnicos y condiciones medioambientales pueden influenciar la presencia de compuestos fenólicos y generar variación en la capacidad antioxidante (Fuentes y Paredes, 2014).

Con base a resultados de polifenoles totales y los potenciales antioxidantes estudiados en cereales y pseudocereales por (Gorinstein *et al.*, 2007), estos autores dieron soporte a otros que mostraron que alto contenido de polifenoles totales incrementa el potencial antioxidante y hay una correlación lineal entre el contenido de fenólicos y el potencial antioxidante.

Cuadro 13. Identificación de compuestos fenólicos libres en mg/kg de especie de quínoa blanca.

| Compuesto fenólico | Quínoa blanca |
|--|----------------------|
| Quercetina | 5.27±0.82 |
| Kaempferol | 2.56±0.08 |
| Epigallocatequina | 1.55±0.03 |
| Epicatequina | 14.62± 0.12 |
| Biochanina A | 0.67±0.27 |
| Vainillina | 4.19±0.09 |
| Ácido ferúlico | 37.52±2.61 |
| Ácido <i>p</i>-cumárico | 13.01±0.58 |
| Ácido cafeico | 4.39±0.02 |
| Ácido <i>p</i>- hidroxibenzoico | 5.84±0.72 |
| Ácido isoferúlico | 8.21±0.26 |

n = 3. Los valores son promedios ± la desviación estándar
Fuente: Padrón *et al.*, 2015

Estudios sugieren que muchos bioactivos en alimentos (proteínas y péptidos, ácidos grasos poliinsaturados, fibra, fenólicos, carotenoides, probióticos y prebióticos) pueden ejercer efectos antioxidativo, antitrombótico, hipocolesterolémico, antimicrobiano e inmunomodulador. Un “nutracéutico” es cualquier sustancia que pueda ser considerada un alimento o parte de un alimento y proporciona beneficios médicos o para salud, incluyendo la prevención y tratamiento de la enfermedad (Padrón *et al.*, 2015).

En este sentido en los últimos años la industria alimentaria se ha enfocado en los frutos rojos sobre todo del tipo berry; esto debido al impacto de los flavonoides y su actividad antioxidante en la salud humana, sobre todo en padecimientos crónicos degenerativos que involucran estrés oxidativo e inflamación celular; en este sentido el compuesto más representativo es la quercetina, este flavonoide ha demostrado efecto significativos en modelos animales que involucran padecimientos autoinmunes y ensayos en líneas celulares cancerígenas (Abrego *et al.*, 2016).

8.8.4 Polifenoles

Se cuantificó espectrofotométricamente el contenido de polifenoles (Figura 23), los resultados obtenidos fueron significativos [$F_{1,9}=5.535$, $p<0.05$]. Se observó un incremento en las fresas recubiertas con respecto a las fresas control que se mantiene durante los días de almacenamiento. Este efecto se le podría atribuir a la formulación del recubrimiento, como se mencionaba anteriormente se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos en aceite esencial de naranja y la harina de quínoa (Giuseppe *et al.*, 2007; Padrón *et al.*, 2015).

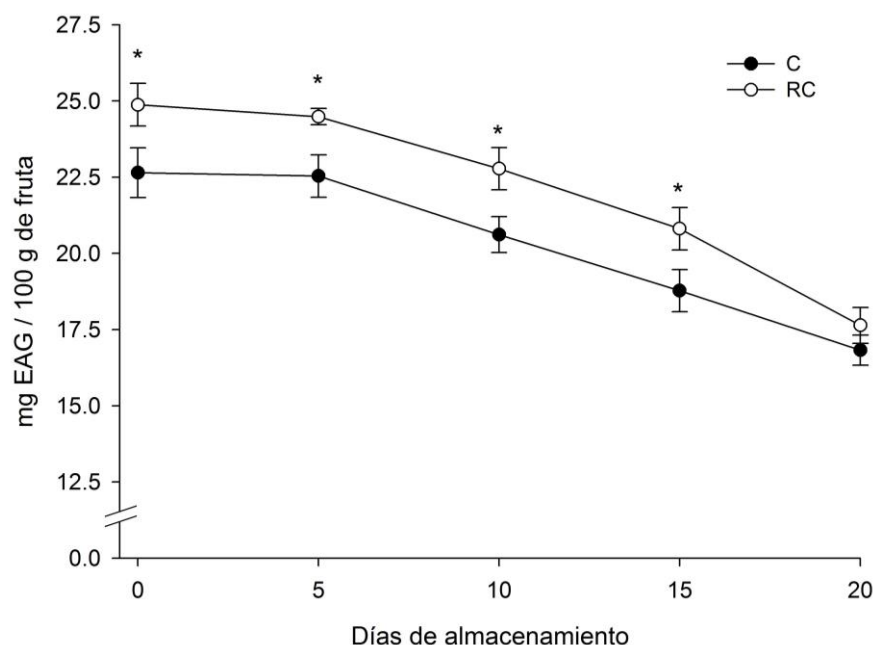


Figura 23. Contenido de polifenoles en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10^{\circ}\text{C} \pm 2$. Datos expresados en promedio \pm D.E.

8.8.5 Antocianinas

Se cuantificó espectrofotométricamente el porcentaje de degradación de antocianinas a partir del extracto MA durante los días de almacenamiento (Figura 24), los resultados fueron significativos desde el quinto día $RC=41.39\pm 3.45$, $C=20.8033\pm 3.55$; $[F_{1,9}=9.416 p<0.05]$.

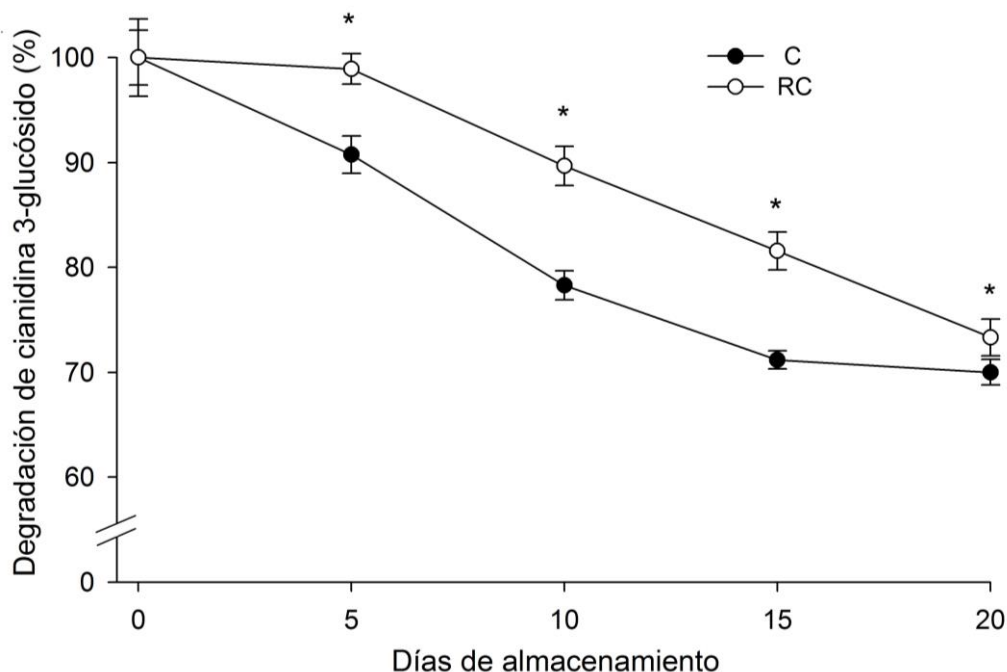


Figura 24. Porcentaje de degradación de antocianinas en fresas recubiertas con quitosano-quinoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10^{\circ}\text{C} \pm 2$. Datos expresados en promedio \pm D.E.

Las antocianinas al igual que los compuestos fenólicos, se caracterizan por el color que proporciona a las frutas, en el caso de las fresas brindan tonalidades que van de rosado a rojo escarlata; estos compuestos se encuentran distribuidos en su mayoría en la dermis de las fresas, sin embargo son susceptibles a radiaciones uv, altas temperaturas, oxígeno y pH. En este sentido el recubrimiento forma parte de la protección a la degradación de estos compuestos, como se observa en la (Figura 22), el grupo control pierde cerca del 10% de este compuesto en el día 5, sin embargo el grupo de fresas recubiertas se mantiene hasta el día 10 donde se observa 10% de degradación, comprobando así que la barrera que forma alrededor de la fresa protege de manera significativa colorantes naturales como lo son las antocianinas.

8.8.6 Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos de fresa se cuantificó midiendo el grado de decoloración y absorción de la luz de una disolución metanólica de DPPH• (Figura 23). Se observaron diferencias significativas desde el día cero [$F_{1,9}=56.30$ $p<0.05$], este comportamiento se le atribuye a la composición del recubrimiento, ya que como se menciona anteriormente son fuentes ricas de compuestos fenólicos, que incrementan la respuesta de la capacidad antioxidante de la fruta por sí sola.

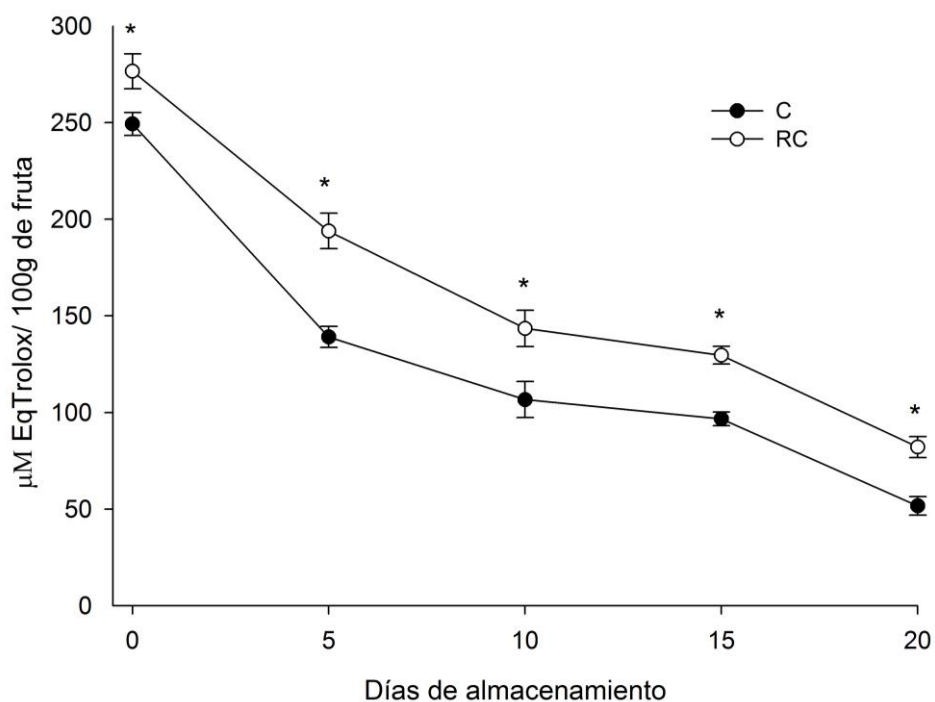


Figura 25. Capacidad antioxidante en fresas recubiertas con quitosano-quinóia (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10\pm 2^\circ\text{C}$. Datos expresados en promedio \pm D.E.

Los consumidores día a día exigen que los alimentos frescos y mínimamente procesados estén exentos de sustancias de síntesis química, y buscan aquellos enriquecidos con sustancias de origen natural que traigan beneficios para la salud y que mantengan las características nutritivas y sensoriales de los productos adquiridos

La capacidad de los RC para acarrear compuestos es utilizada en el desarrollo de productos innovadores o la potenciación de los productos frescos y mínimamente procesados. En este sentido el recubrimiento formulado con quitosano-quínoa juega un papel crucial no tan solo por ser la barrera semipermeable si no por la capacidad para poder integrar en su matriz estructural compuestos con actividad biológica, proporcionando un valor agregado a la fresa obteniendo así productos innovadores mínimamente procesados. Por lo tanto se ha presentado una mayor atención en la búsqueda de nuevas sustancias de origen natural que permitan actuar como posibles fuente alternativas de antioxidantes y antimicrobianos.

8.8.7 Análisis microbiológico

Se realizó el análisis de microbiológico de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, a partir de la pulpa de la fresa tratada y control (Figura 26), el crecimiento microbiano se observó en el día 5 para el grupo control, no así en el grupo tratado con el recubrimiento el cual mostró crecimiento de colonias en el día 15.

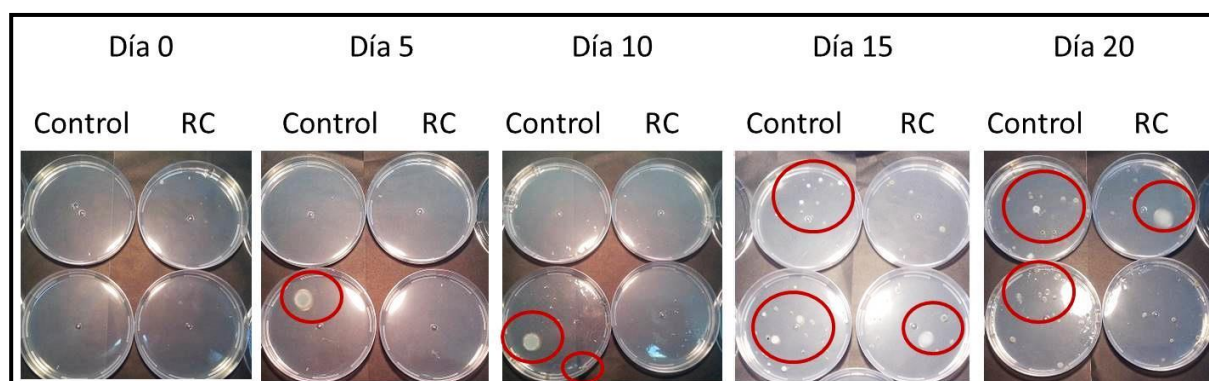


Figura 26. Crecimiento microbiano en fresas recubiertas con quitosano-quínoa (RC) y controles (C) en almacenamiento a $10 \pm 2^\circ\text{C}$. Datos expresados en promedio \pm D.E.

Cuadro 14. Conteo de colonias en fresas con recubrimiento y control

| Días de almacenamiento | Control UFC/g* | Recubrimiento Comestible UFC/g* |
|-------------------------------|---------------------------|--|
| 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0 | 0 |
| 10 | 60 | 0 |
| 15 | 170 | 70 |
| 20 | 210 | 80 |

(*) UFC/g de mohos en agar papa - dextrosa acidificado, incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 5 días.

Se presentó el ataque fúngico en las fresas control a partir del quinto día de almacenamiento. Al final del almacenamiento, el daño fue superior al 50% (Cuadro 14). En contraste las fresas con recubrimiento comestible el día 15 se observó crecimiento de colonias fúngicas; lo cual indica que el recubrimiento comestible mostró alta efectividad en la inhibición del crecimiento de éste hongo así como la presencia de otros microorganismos ofreciendo una barrera protectora.

Los recubrimientos comestibles son estructuras que no solo son capaces de transportar compuestos bioactivos en su matriz polimérica sino también sustancias con propiedades antimicrobianas que coadyuvan en la estabilidad y control de crecimiento microbiano en el alimento. En este sentido el aceite esencial de naranja ha sido estudiado por sus efectos microbianos en frutos perecederos. La aplicación de recubrimientos comestibles es una de las principales herramientas que se utiliza para el control microbiológico principalmente utilizados en este tipo de hongo.

9. CONCLUSIONES

- Las fresas tratadas con las formulaciones quitosano-quínoa perdieron menos peso durante el almacenamiento con respecto a las fresas control. Entre las dos formulaciones de RC la formulación 2 confirió mejores propiedades de barrera corroboradas con la menor pérdida de peso, color y mejor calidad comercial durante su almacenamiento a 10 ± 2 °C durante 20 días.
- La disminución de color se presentó en todos los tratamientos, sin embargo F2 presentó menor pérdida de color y cinética de degradación de orden cero a diferencia del grupo control que presentó mayor pérdida de color.
- El recubrimiento retardó la degradación de pigmentos liposolubles como los carotenos e hidrosolubles como las antocianinas y de ácido ascórbico.
- El recubrimiento mantuvo significativamente el contenido de flavonoides y polifenoles, así como la actividad antioxidante.
- El uso de aceite esencial y quitosano en la formulación final, evitó el crecimiento de mohos y levaduras durante el almacenamiento a 10°C por 15 días.
- La aplicación de un recubrimiento formulado con quitosano-quínoa constituye una alternativa para prolongar la vida poscosecha de la fresa.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta D.L. 2011.** Películas comestibles nanoestructuradas de almidón de camote (*Ipomea batata*). Tesis de Maestría. Universidad Veracruzana, México. 67 p.
- Artés, F.; y A. Allende. 2005.** Minimal fresh processing of vegetables, fruits and juices. DA-WEN, Sun. Emerging technologies for food processing. San Diego, California: Elsevier Academic Press 677 – 716.
- Badui D.S. 2013.** Química de alimentos. 5ª ed. Ed. Pearson, México. 723 p.
- Bertuzzi M.A., E.F. Castro V., M. Armada and J.C. Gottifredi. 2007.** Water vapour permeability of edible starch based films. Journal of Food Engineering 80:972-978.
- Bico, S. L. S.; M. F. J. Raposo; M. S. C. Morais; y M. M. B. Morais 2009.** Combined effects of chemical dip and/or carrageenan coating and/ or controlled atmosphere on quality of fresh-cut banana. Food Control 20(5):508 – 514.
- Burt S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology. 94:223-253.
- Navarro C., R. Morales. 1997.** Las fresas y el fresón. Plantas y cultura popular: La etnobotánica en España. Quercus 135:36-37.
- Chirkov, S. N. 2002.** The antiviral activity of chitosan. Applied Biochemistry Microbiology. 38:1–8. (In Russian.)
- Costa G.L., P.L. Mendes, S.C.I.G de Luca and H.M. Dupas. 2010.** Selection of anedible starch coating minimally processed strawberry. Food Bioprocess Technology. 3:384-842.
- Dias, A.B., Müller, C.M.O., Larotonda, D.S.F and Laurindo, J.B. 2010.** Biodegradables films based on rice and rice flour. Journal of Cereal Science 51: 213-219.

- Díaz S.R. 2003.** Evaluación de la morfología y permeabilidad al vapor de agua de recubrimientos formulados con polisacáridos para ser aplicados como tratamiento fitosanitario en mango (*Mangifera indica* cv. manila). Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana, México. 81 p.
- Dodane, V., and V. D. Vilivalam. 1998.** Pharmaceutical applications of chitosan. Pharm. Sci. Technol. Today 1:246–253.
- FAO. 2011.** La quínoa:cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. Recuperado de http://www.fao.org/alc/file/media/pubs/2011/cultivo_quinoa_es.pdf (Octubre, 2015).
- FAO/INFOODS. 2013.** FAO/INFOODS Food Composition Database for Biodiversity Version 2.1 BioFoodComp2.1. Retrieved from http://www.fao.org/infoods/infoods/tables_and_databases/faoinfoods_databases/en/
- García M.A., M. Ventosa., R. Díaz., A. Casariego. 2011.** Efecto de coberturas de alginato de sodio enriquecidas con aloe vera en la calidad de zanahoria mínimamente procesada. Ciencia y Tecnología de Alimentos. 21 (3): 62-67.
- Giuseppe G., D. Barreca, C. Gargiulli, U. Leuzzi and Corrado Caristi. 2007.** Flavonoid Composition of Citrus Juices Dipartimento di Chimica Organica e Biologica, Università di Messina, Salita Sperone 31, I-98166. Messina, Italy. Molecules. 12: 1641-1673.
- Guerra D., L.A. Bello, R.A González., J. Solorza y G. Arámbula 2008.** Effect of reaction time on the acetylation of plantain starch. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 7: 283-291.
- Hernández M.P., E. Almenar, M.J. Ocio and R. Gavara. 2006.** Effect of calcium dips and chitosan coating on postharvest life of strawberry (*Fragaria x ananassa*). Postharvest Biology and Technology. 39(3):247-253.

- Hernández M.P., E. Almenar, V. Del Valle, D. Vélez and R. Gavara 2008.** Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*. 110:428-435.
- Hernández V.I. 2010.** Efectos de un recubrimiento de quitosano sobre la calidad poscosecha de limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Tamaulipas, México. 81 p.
- Jiang Y.L. 2001.** Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chem*. 73 (2):139-43.
- Jiménez A., M.J. Fabra, P. Talens and A. Chiralt. 2012.** Edible and biodegradable starch films: a review. *Food and Bioprocess Technology* 5:2058-2076.
- Krochta JM. y De Mulder-Johnston, C. 1997.** Endicte coatongs and films to improve food quality. Lancaster, Pa. Technomic publishing Co., Inc. 305-350.
- Krüger E., H. Dietrich, E. Schöppllein, S. Rasim, and P. Kürbel. 2011.** Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biol Technol* 60:31–37.
- Le Corre D., J. Bras and A. Dufresne. 2010.** Starch nanoparticles: a review. *Biomacromolecules* 11(5):1139-1153.
- Li D. and Y. Zhao 2007.** Innovations in the development and application of edible coating for fresh and minimally processed fruit and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 6:60-75.
- Lira D.M. 2007.** Guía para la evaluación sensorial de alimentos. Instituto de Investigación Nutricional. Lima 2007. 44p.

- López M.M., S. Ruiz., C. Navarro., J. Ornelas., M. Estrada., L. Gassos y J. Rodrigo. 2012.** Efecto de recubrimiento comestible de quitosano en la reducción microbiano y conservación de la calidad de fresas. *BIOTecnia XIV* (1): 33-43.
- Mariniello L., P. Di Pierro, C. Esposito, A. Sorrentino, P. Masi and R. Porta. 2003.** Preparation and mechanical properties of edibles soy flour films obtained in the absence of transglutaminase. *Journal of Biotechnology* 102:191-198.
- Martínez N.N., G. Moraga., M.J. Martínez., F. Botella., N. Tirado., A. Chiralt. 2001.** Mechanical and Color Changes Associated to Dehydrofreezing of Strawberry. In J. Welti-Chanes, G.V. Barbosa-Canvas, J.M. Aguilera (Eds.), *Proceedings of the Eighth International Congress on Engineering and Food* 8: 793-797.
- Meyhuay M. 2006. QUINUA,** Operaciones de Poscosecha. Compendio de poscosecha. INPho FAO. 36 p
- Min Z., X. Giognian, P. Jian, and M. Vilas 2005.** Effect of single and combined atmosphere packages on preservation of strawberries. *International Journal of Food Engineering*. 1(4):1-11.
- Morales Y.E. 2014.** Caracterización de películas, elaboradas a partir de harina de Quinoa (*Chenopodium quinoa Wild*), almidón modificado de yuca (*Manihot esculata*) y montmorillonita. Tesis de Licenciatura. Escuela Politécnica Nacional. Quito. 154p
- Vázquez B.S. y J.A Guerrero. 2013.** Recubrimiento de frutas con biopelículas. *Temas selectos de ingeniería de alimentos* 7(2): 5-14.
- Villegas C.N. 2012.** Determinación de compuestos con actividad antioxidante en productos untables de fresa (vc. camarosa). Tesis de Maestría. Universitat Politècnica de Valencia.

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA. 1995. México. Consultado Octubre 2015 <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NOM-092-SSA1-1994.PDF>

Norma Mexicana NMX-F-103-1982. ALIMENTOS. FRUTAS Y DERIVADOS. DETERMINACIÓN DE GRADOS BRUX. Diario Oficial de la Federación. 1982. México. Consultado Octubre 2015 de la página <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-103-1982.PDF>

Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS. Diario Oficial de la Federación. 1994. México. Consultado Octubre 2015 de la página <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>

Padrón P.C., R. O. González y A.M. Hernández. 2015. Semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willdenow): composición química y procesamiento. Aspectos relacionados con otras áreas. Revisión. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 5 (2): 166-218

Parker P.J.L. 2005. Obtención y caracterización de la harina integral de Quinoa. Tesis de Licenciatura. Universidad de Chile. 45p.

“Perfiles nutricionales por países-México”. Agosto 2003. FAO, Roma, Italia.

Pfendt L. B., V.L. VukaĐinovic´, N. Z. Blagojevic´; M. P. Radojevic. 2003. Second order derivative spectrophotometric method for determination of vitamin C content in fruits, vegetables and fruit juices. Eur Food Res Technol 217:269–272

Prego I., Maldonado S. and M. Otegui 1998. Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. Annals of Botany 82:481-488

- Raafat D., von K. Barga, A. Hass and S. Has-Georg 2008.** Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound. *Applied Environmental Microbiology*. 74(12):3764-3773.
- Rastrepo A., M. Cortes, y B. Rojando .2010.** Potenciación de la capacidad antioxidante en fresa (*Fragaria ananassa*) por incorporación de vitamina E utilizando la técnica de impregnación al vacío. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 17(2): 135-140.
- Ribeiro C., A. Vicente, J. Teixeira and C. Miranda .2007.** Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biol Technol* 44:63-70.
- Rodríguez M.L., L.A. Bello P., H. Yee-Madeira y R.A. González. 2013.** Propiedades mecánicas y de barrera de películas elaboradas con harina de arroz y plátano reforzadas con nanopartículas estudio con superficie de respuesta. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 12(1):165-176
- Romero B.C., P.B. Zamudio F. y L.A. Bello P. 2011.** Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano: Efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructura, propiedades mecánicas y de barrera. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10(3):445-453.
- Santiago S.M. 2015.** Elaboración de películas a partir de almidón nano estructurado de maíz. Tesis de Maestría. Universidad Veracruzana, México. 97p.
- Strik B., J. Clark, C. Finn and M. Bañados 2007.** Worldwide blackberry production. *HortTechnol* 17:205–213.
- Tapia, M. 1997.** “Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación”. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago. Chile.

Tapía D., P.J. Sobral, F.C. Menegalli. 2005. Development and characterization of biofilms based on amaranth flour (*amaranthuscaudatus*). *Journal of Food Engineering* 67, 215-223.

Taylor J., P. Belton., and G. Kwaku. 2014. Increasing the utilization of sorghum, millets and pseudocereals: developments in the science of their phenolic phytochemicals, bifortification and protein functionality. *Journal of Cereal Science*. 59(3):257-275

Yáñez R. X., M. Lugo, y P.D. Parada 2007. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia) *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, vol. 5, núm. 1, pp. 3-8

Zhishen J., T. Mengcheng 1999. The determination of flavonoids content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. 64:555-559.

11. ANEXOS

ANEXO 1. NMX-FF-062-SCFI-2002 Especificaciones de calidad: Requerimientos mínimos.

- a) Estar sanas y de aspecto fresco;

- b) Estar enteras y bien desarrolladas;
- c) Al menos con tres cuartas partes de la superficie mostrando un color rosa o rojo tenue;
- d) Estar limpias, exentas de materia extraña visible;
- e) Ser de forma, sabor y olor característicos de la variedad;
- f) Tener consistencia firme;
- g) Tener pedúnculo con una longitud máxima de 1,5 cm antes del envase;
- h) Estar prácticamente exentas de magulladuras;
 - i) Exentas de daños por sol;
 - j) Exentas de polvo, tierra o materia orgánica
 - k) Exentas de daños causados por plagas;
 - l) Libres de descomposición, pudrición y moho causado por microorganismos;
 - m) Estar exentas de daños por refrigeración y variaciones en la temperatura; y
 - n) Estar exentas de humedad exterior anormal, salvo la condensación consiguiente a su remoción de una cámara frigorífica.

Tabla A1. Clasificación de daños permitidos para fresa fresca en función de su origen e incidencia.

| Origen del defecto | Tipo de defecto | | |
|----------------------|--|--|--|
| | Menor | Mayor | Crítico |
| Mecánico | | | |
| ▪ Magulladuras | Cuando la fruta presenta pérdida de firmeza y el área afectada está ligeramente reblandecida con respecto al resto de la superficie y ocupa hasta un 5 %. | Cuando el área afectada está sin firmeza y la piel presenta un color más oscuro y ocupa del más del 10 % y no más del 15 % de la superficie. | Cuando la pulpa está sin firmeza y la piel presenta un color oscuro y ocupa un área mayor del 15 % de la superficie. |
| ▪ Raspaduras | Cuando la fruta se encuentra sin piel en un área de hasta 0,40 mm ² de la superficie. | Cuando la fruta se encuentra sin piel en un área mayor de 0,40 mm ² y hasta 0,80 mm ² de la superficie. | Cuando la fruta se encuentra sin piel en un área mayor de 0,80 mm ² de la superficie. |
| Climático | | | |
| ▪ Quemaduras de sol | Cuando presenta un color rojo más intenso en el área afectada y además es notable una ligera resequedad en esta zona y se encuentra afectando un área mayor de 0,25 mm ² y hasta 1,00 mm ² . | Cuando presenta un área afectada mayor de 1,00 mm ² y hasta 2,50 mm ² . | Cuando presenta un área afectada mayor de 2,50 mm ² . |
| Genético-fisiológico | | | |
| ▪ Deformación | Cuando se altera ligeramente la forma característica y afecta la apariencia. | Cuando se altera la forma característica y se afecta seriamente la apariencia. | Cuando se altera la forma característica y se afecta muy seriamente la apariencia. |
| Entomológico | | | |
| ▪ Fresa sin aquenios | Cuando la fruta se encuentra sin aquenios y el área afectada es mayor del 5 % y hasta el 10 % de la superficie. | Cuando el área afectada es mayor del 10 % y hasta de 15 % de la superficie. | Cuando el área afectada es mayor de 15 % de la superficie. |
| ▪ Picaduras | Cuando presenta perforaciones ocupando en la superficie de la fruta un área de hasta 0,4 mm ² . | Cuando presenta perforaciones ocupando en la superficie de la fruta un área mayor de 0,4 mm ² y hasta de 2,50 mm ² . | Cuando presenta perforaciones en la superficie de la fruta un área mayor de 2,50 mm ² . |
| Otros | | | |
| ▪ Fruta contaminada | Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área de hasta el 5 % de la superficie. | Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área mayor del 5 % y hasta 10 % de la superficie. | Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área mayor de 10 % de la superficie. |

ANEXO 2. Extracción de aceite esencial de naranja.

La extracción se realizó según a lo descrito por Yañez *et al.*, 2007 y Hernández *et al.*, 2014 con modificaciones; se emplearon dos métodos para comparar el mayor rendimiento. Para su posterior uso en la formación de la emulsión para la elaboración del recubrimiento comestible al 5%.

B) Hidrodestilación por arrastre con vapor

En este método primero se pesó la cáscara de naranja previamente lavada y finamente picada. En una probeta se midieron 850 mL de agua destilada para agregarla a un matraz, en el cual se utilizó una parrilla eléctrica para que sea el generador de vapor. En un matraz balón cubierto con aluminio se le añadió cáscara de naranja, y se prosiguió a armar el equipo colocando un refrigerante.

Cuando el agua destilada llegó al punto de ebullición generó el vapor necesario para el matraz en donde se encontraban las cáscaras de limón y luego pasó por el refrigerante en donde se condensó y se extrajo el aceite esencial de limón, en un proceso de codestilación.

A) Hidrodestilación directa

Para llevar a cabo la hidrodestilación se pesó la cascará de naranja, lavada, cortada y sin gabazo en una balanza granataria (Figura A2). En un matraz balón se agregaron 850 mL de agua destilada, medida en una probeta de 100 mL, posteriormente se colocaron las cascaras cortadas dentro del matraz, el cual fue cubierto con papel aluminio para obtener una fuente de calor uniforme alrededor de él. El sistema fue preparado a una temperatura de 100°C en una parrilla (Scorpion Scientific). El proceso se realizó durante 6 horas.



Figura A2. Lavado y separación de cascara de naranja de gabazo, para posteriormente ser pesadas para la extracción de aceite esencial.



Figuras: A3 Sistema de extracción de aceite por arrastre de vapor. A4 Sistema de extracción de aceite esencial por hidrodestilación.

Determinación del rendimiento

Para cada extracción del aceite esencial, se midió el rendimiento utilizando la siguiente fórmula

$$R = (M_1/M_2) \cdot 100$$

Dónde:

M_1 = Masa final de aceite esencial (g).

M_2 = Masa inicial de la cascara de naranja (g).

100 = Factor matemático

Separación de aceite

Del destilado se extrajo totalmente el aceite esencial de naranja, separándolo con trampa de clewenger, donde está adaptado embudo para obtener una recuperación y una mejor separación de aceite/agua.

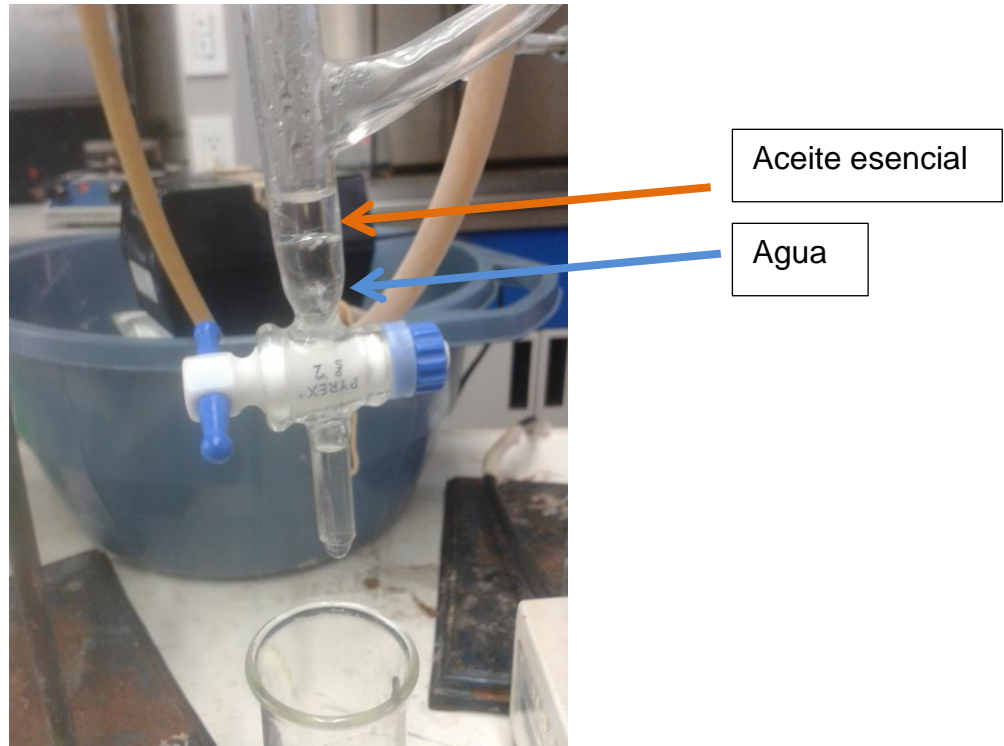








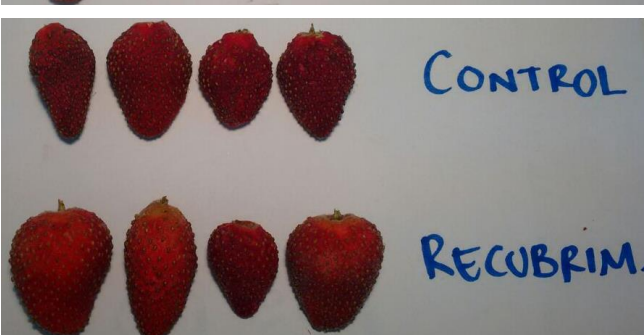

Figura A5. Separación de aceite esencial y agua, producto de la destilación.

Rendimiento en 1 kg de cáscara de naranja:

| | Hidrodestilación | Por arrastre de vapor |
|----------------------|-------------------------|------------------------------|
| Rendimiento % | 2.4 | 1.2 |

Por tal motivo se utilizó la técnica de hidrodestilación en donde llega al punto de ebullición la cascara de naranja y el agua directamente, y se obtiene mayor rendimiento de aceite esencial, posteriormente se almaceno en refrigeración en frasco ámbar

ANEXO 3. Apariencia comercial de fresas recubiertas con quitosano-quinoa y sin tratamiento.

| | | |
|-------------------|--|---|
| <p>Día 0</p> |  <p>CONTROL RECUBRIM.</p> |  <p>CONTROL RECUBRIM.</p> |
| <p>Día 5</p> |  <p>CONTROL RECUBRIM.</p> |  <p>CONTROL RECUBRIM.</p> |
| <p>Día 10</p> |  <p>CONTROL RECUBRIM.</p> |  <p>CONTROL RECUBRIM.</p> |
| <p>Día 15</p> |  <p>CONTROL RECUBRIM.</p> |  <p>CONTROL RECUBRIM.</p> |

ANEXO 4. ANOVA compuestos fenólicos y actividad antioxidante

Data source: Data 1 in trabajo de fresa final

General Linear Model (No Interactions)

Dependent Variable: Flavonoides; Quercetina

Normality Test: Passed (P = 0.601)

Equal Variance Test: Passed (P = 1.000)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|---------------------|----|---------|---------|--------|--------|
| Dia | 4 | 0.391 | 0.0978 | 72.826 | <0.001 |
| Tratamiento | 1 | 2.279 | 2.279 | 97.544 | <0.001 |
| Residual | 4 | 0.00537 | 0.00134 | | |
| Total | 9 | 2.676 | 0.297 | | |

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dia : 1.000

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamiento : 1.000

Least square means for Dia :

| Group | Mean |
|--------|-------|
| 0.000 | 1.777 |
| 5.000 | 1.487 |
| 10.000 | 1.405 |
| 15.000 | 1.298 |
| 20.000 | 1.198 |

Std Err of LS Mean = 0.0259

Least square means for Tratamiento :

| Group | Mean |
|-------|-------|
| C | 0.956 |
| F | 1.910 |

Std Err of LS Mean = 0.0164

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Dia**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0.050 |
|-------------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| 0.000 vs. 20.000 | 0.579 | 5 | 22.349 | <0.001 | Yes |
| 0.000 vs. 15.000 | 0.479 | 5 | 18.502 | 0.001 | Yes |
| 0.000 vs. 10.000 | 0.372 | 5 | 14.357 | 0.003 | Yes |
| 0.000 vs. 5.000 | 0.291 | 5 | 11.214 | 0.007 | Yes |
| 5.000 vs. 20.000 | 0.288 | 5 | 11.135 | 0.007 | Yes |
| 5.000 vs. 15.000 | 0.189 | 5 | 7.287 | 0.031 | Yes |
| 5.000 vs. 10.000 | 0.0814 | 5 | 3.143 | 0.327 | No |
| 10.000 vs. 20.000 | 0.207 | 5 | 7.992 | 0.022 | Yes |
| 10.000 vs. 15.000 | 0.107 | 5 | 4.144 | 0.172 | No |
| 15.000 vs. 20.000 | 0.0997 | 5 | 3.847 | 0.208 | No |

Comparisons for factor: **Tratamiento**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0.050 |
|------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| F vs. C | 0.955 | 2 | 58.267 | <0.001 | Yes |

Two Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in trabajo de fresa final

General Linear Model (No Interactions)

Dependent Variable: Polifenoles (Ac. Gálico)

Normality Test: Passed (P = 0.622)

Equal Variance Test: Passed (P = 1.000)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|---------------------|----|--------|--------|--------|-------|
| Dia | 4 | 71.081 | 17.770 | 13.422 | 0.014 |
| Tratamiento | 1 | 7.327 | 7.327 | 5.535 | 0.048 |
| Residual | 4 | 5.296 | 1.324 | | |
| Total | 9 | 83.704 | 9.300 | | |

Least square means for Dia :

| Group | Mean |
|--------|--------|
| 0.000 | 24.262 |
| 5.000 | 24.010 |
| 10.000 | 22.198 |
| 15.000 | 19.795 |
| 20.000 | 17.232 |

Std Err of LS Mean = 0.814

Least square means for Tratamiento :

| Group | Mean |
|-------|--------|
| C | 20.643 |
| F | 22.355 |

Std Err of LS Mean = 0.515

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Dia**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0.050 |
|-------------------|---------------|---|-------|-------|-------------|
| 0.000 vs. 20.000 | 7.030 | 5 | 8.641 | 0.017 | Yes |
| 0.000 vs. 15.000 | 4.467 | 5 | 5.490 | 0.077 | No |
| 0.000 vs. 10.000 | 2.063 | 5 | 2.536 | 0.480 | Do Not Test |
| 0.000 vs. 5.000 | 0.252 | 5 | 0.309 | 0.999 | Do Not Test |
| 5.000 vs. 20.000 | 6.778 | 5 | 8.331 | 0.019 | Yes |
| 5.000 vs. 15.000 | 4.215 | 5 | 5.181 | 0.092 | Do Not Test |
| 5.000 vs. 10.000 | 1.812 | 5 | 2.227 | 0.576 | Do Not Test |
| 10.000 vs. 20.000 | 4.967 | 5 | 6.104 | 0.055 | No |
| 10.000 vs. 15.000 | 2.403 | 5 | 2.954 | 0.369 | Do Not Test |
| 15.000 vs. 20.000 | 2.563 | 5 | 3.151 | 0.326 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Tratamiento**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0.050 |
|------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| F vs. C | 1.712 | 2 | 3.327 | 0.078 | Yes |

Two Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in trabajo de fresa final

General Linear Model (No Interactions)

Dependent Variable: Antocianinas totales

Normality Test: Passed (P = 0.540)

Equal Variance Test: Passed (P = 1.000)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|---------------------|----|----------|---------|--------|-------|
| Dia | 4 | 1148.859 | 287.215 | 24.448 | 0.005 |
| Tratamiento | 1 | 110.623 | 110.623 | 9.416 | 0.037 |
| Residual | 4 | 46.991 | 11.748 | | |
| Total | 9 | 1306.473 | 145.164 | | |

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dia : 0.991

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamiento : 0.593

Least square means for Dia :

| Group | Mean |
|--------|---------|
| 0.000 | 100.000 |
| 5.000 | 94.835 |
| 10.000 | 83.980 |
| 15.000 | 76.375 |
| 20.000 | 71.660 |

Std Err of LS Mean = 2.424

Least square means for Tratamiento :

| Group | Mean |
|-------|--------|
| C | 82.044 |
| F | 88.696 |

Std Err of LS Mean = 1.533

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Dia**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0.050 |
|-------------------|---------------|---|--------|-------|-------------|
| 0.000 vs. 20.000 | 28.340 | 5 | 11.693 | 0.006 | Yes |
| 0.000 vs. 15.000 | 23.625 | 5 | 9.748 | 0.011 | Yes |
| 0.000 vs. 10.000 | 16.020 | 5 | 6.610 | 0.042 | Yes |
| 0.000 vs. 5.000 | 5.165 | 5 | 2.131 | 0.607 | No |
| 5.000 vs. 20.000 | 23.175 | 5 | 9.562 | 0.012 | Yes |
| 5.000 vs. 15.000 | 18.460 | 5 | 7.617 | 0.026 | Yes |
| 5.000 vs. 10.000 | 10.855 | 5 | 4.479 | 0.140 | No |
| 10.000 vs. 20.000 | 12.320 | 5 | 5.083 | 0.097 | No |
| 10.000 vs. 15.000 | 7.605 | 5 | 3.138 | 0.328 | Do Not Test |
| 15.000 vs. 20.000 | 4.715 | 5 | 1.945 | 0.670 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Tratamiento**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0.050 |
|------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| F vs. C | 6.652 | 2 | 4.340 | 0.038 | Yes |

Two Way Analysis of Variance

Data source: Data 1 in trabajo de fresa final

General Linear Model (No Interactions)

Dependent Variable: DPPH

Normality Test: Passed (P = 0.484)

Equal Variance Test: Passed (P = 1.000)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|---------------------|----|-----------|-----------|---------|--------|
| Dia | 4 | 43746.407 | 10936.602 | 185.535 | <0.001 |
| Tratamiento | 1 | 3318.955 | 3318.955 | 56.305 | 0.002 |
| Residual | 4 | 235.785 | 58.946 | | |
| Total | 9 | 47301.147 | 5255.683 | | |

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Dia : 1.000

Power of performed test with alpha = 0.0500: for Tratamiento : 1.000

Least square means for Dia :

| Group | Mean |
|--------|---------|
| 0.000 | 262.950 |
| 5.000 | 166.495 |
| 10.000 | 125.040 |
| 15.000 | 113.175 |
| 20.000 | 66.860 |

Std Err of LS Mean = 5.429

Least square means for Tratamiento :

| Group | Mean |
|-------|---------|
| C | 128.686 |
| F | 165.122 |

Std Err of LS Mean = 3.434

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Dia**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0.050 |
|-------------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| 0.000 vs. 20.000 | 196.090 | 5 | 36.120 | <0.001 | Yes |
| 0.000 vs. 15.000 | 149.775 | 5 | 27.588 | <0.001 | Yes |
| 0.000 vs. 10.000 | 137.910 | 5 | 25.403 | <0.001 | Yes |
| 0.000 vs. 5.000 | 96.455 | 5 | 17.767 | 0.001 | Yes |
| 5.000 vs. 20.000 | 99.635 | 5 | 18.353 | 0.001 | Yes |
| 5.000 vs. 15.000 | 53.320 | 5 | 9.821 | 0.011 | Yes |
| 5.000 vs. 10.000 | 41.455 | 5 | 7.636 | 0.026 | Yes |
| 10.000 vs. 20.000 | 58.180 | 5 | 10.717 | 0.008 | Yes |
| 10.000 vs. 15.000 | 11.865 | 5 | 2.186 | 0.589 | No |
| 15.000 vs. 20.000 | 46.315 | 5 | 8.531 | 0.018 | Yes |

Comparisons for factor: **Tratamiento**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0.050 |
|------------|---------------|---|--------|-------|---------|
| F vs. C | 36.436 | 2 | 10.612 | 0.002 | Yes |