

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISION DE CIENCIA ANIMAL**

**PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y  
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA  
DE BIORECUBRIMIENTOS FUNCIONALES SOBRE LA VIDA DE  
ANAQUEL DE MANZANA GOLDEN MÍNIMAMENTE PROCESADA”**

**POR:**

**MARÍA DEL CONSUELO RODRÍGUEZ GUILLERMO**

**TESIS**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:**

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.**

**Diciembre 2019**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

**PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y  
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE  
BIORECUBRIMIENTOS FUNCIONALES SOBRE LA VIDA DE ANAQUEL DE  
MANZANA GOLDEN MÍNIMAMENTE PROCESADA.**

Por:

**MARÍA DEL CONSUELO RODRÍGUEZ GUILLERMO**

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

La cual fue revisada y aprobada por:

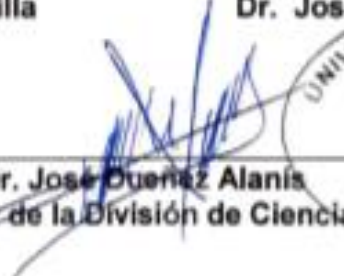
**COMITÉ ASESOR**

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Xochitl Ruelas Chacón**

**Asesor Principal**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla**  
**Coasesor**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. José Daniel Corona Flores**  
**Coasesor**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. José Duenz Alanís**  
**Coordinador de la División de Ciencia Animal**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

**PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN CIENCIA Y**

**TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE  
BIORECUBRIMIENTOS FUNCIONALES SOBRE LA VIDA DE ANAQUEL DE  
MANZANA GOLDEN MÍNIMAMENTE PROCESADA.**

Por:

**MARÍA DEL CONSUELO RODRÍGUEZ GUILLERMO**

**TESIS**

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**JURADO CALIFICADOR**



**Dra. Xochitl Ruelas Chacón**

**Presidente**



**M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla**

**Vocal**



**Dr. José Daniel Corona Flores**

**Vocal**



**Dr. Antonio Francisco Aguilera Carbó**

**Vocal**

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre del 2019

## **AGRADECIMIENTOS**

### *A Díos*

*Por haberme permitido llegar a este momento y darme salud para cumplir cada uno de mis objetivos.*

*Infinitas gracias por tu eterno amor y bondad, por darme fuerza, paciencia y sabiduría para terminar este proyecto. Gracias por estar presente no solo en esta etapa tan importante en mi vida, sino en todo momento ofreciéndome lo mejor y buscando lo mejor para mi persona.*

*Gracias por iluminar mi vida, por ser mi luz, mi esperanza y mi guía.*

### *A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro*

*Por permitirme formarme en ella, darme la oportunidad de llevar a cabo mi carrera profesional y gracias por abrir tus puertas del conocimiento.*

### *A la Dra. Xochitl Ruelas Chacón*

*Por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto, por escucharme, por cada uno de sus consejos, su trabajo y sobre todo dedicarme tiempo. Infinitamente gracias por su apoyo incondicional.*

### *A todos los maestros (as)*

*Que en su momento me impartieron sus conocimientos durante el transcurso de mi formación profesional. Me apoyaron y aprendí mucho de ellos.*

## *A mis padres*

*Consuelo Guillermo Balderas*

*Clemente Rodríguez Lumbreras*

*Por darme educación, un hogar donde crecer, por darme la oportunidad de elegir y tomar mis propias decisiones que, aunque tuve mis equivocaciones ustedes nunca me dejaron sola y enseñarme a aprender de todo ello, por estar en todo momento pero sin duda en los más difíciles, por alentarme a seguir adelante, anhelando que siempre me preparara para enfrentarme a la vida.*

*Mis metas cumplidas sin duda alguna también son tuyas. Gracias por apostar por mí, por sus sacrificios y por creer siempre que llegaría lejos.*

*Los amo.*

## *A mi hermana*

*Blanca Esthela Rodríguez Guillermo*

*Por el hecho de ser mi hermana, de tenerte cerca cuando nos necesitamos, por escucharme, por alentarme a seguir y por cada uno de tus consejos para superar las situaciones en las que yo sentía que ya no podía. Por darme a mi hermoso sobrino Abson que por el también intento ser cada vez mejor, que al siendo una persona tan pequeña y tan inocente me enseña el valor de la vida y lo importante que es ser feliz cada día.*

*Los amo.*

*Al amor de mi vida*

*Julio Alejandro Andrade Ayala*

*Por ser un apoyo incondicional en mi vida, fuiste el ingrediente perfecto para poder lograr alcanzar esta merecida victoria.*

*Gracias, amor por estar conmigo en cada decisión que tomara, por tener paciencia y entrega para conmigo, por llorar y reír en cada momento junto a mí y ser capaz de contenerme cuando todo iba mal.*

*Te agradezco por tantas ayudas y tantos aportes no solo para el desarrollo de mi tesis, sino también para mi vida.*

*Me siento tan afortunada de tenerte a mi lado, eres mi inspiración y mi motivación.*

*Te amo.*

# INDICE

RESUMEN .....	12
CAPITULO I.....	14
INTRODUCCIÓN .....	14
1.1 OBJETIVOS.....	16
1.1.1 OBJETIVO GENERAL .....	16
1.1.2 OBJETIVO ESPECIFICO .....	16
1.2 HIPOTESIS.....	16
1.3 JUSTIFICACIÓN .....	17
CAPITULO II.....	18
REVISIÓN DE LITERATURA .....	18
2.1 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES .....	18
2.1.1 ANTECEDENTES .....	18
2.1.2 DEFINICIÓN Y DIFERENCIA ENTRE PELICULA Y RECUBRIMIENTO .....	20
2.1.3 APLICACIÓN Y FUNCIONES EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.....	21
2.1.4 IMPORTANCIA DE LAS PELÍCULAS COMESTIBLES Y LOS RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES.....	21
2.1.5 NUEVOS BIOPOLÍMEROS IMPLEMENTADOS EN EL DESARROLLO DE PELÍCULAS Y RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES.....	22
2.1.6 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO DE LOS RECUBRIMIENTO COMESTIBLES .....	23
2.1.7 TECNICAS DE ELABORCIÓN PARA LA OBTENCION DE RECUBRIMIENTOS.....	24
2.2 GOMA GUAR .....	25
2.3 GLICEROL.....	26
2.3.1 APLICACIONES .....	26
2.4 ACEITES ESENCIALES.....	27
2.4.1 ACEITE DE CANELA.....	28
2.4.2 GENERALIDADES.....	29
2.5 CHITOSANO .....	30
2.6 TWEEN .....	30
2.7 MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS .....	31
2.7.1 RECUENTO DE AEROBIOS MESÓFILOS .....	31
2.7.2 MOHOS Y LEVADURAS .....	32

2.8 MEDIOS DE CULTIVO .....	34
2.8.1 AGAR PARA MÉTODOS ESTANDAR (STD) .....	34
2.8.2 AGAR PAPA DEXTROSA (PDA).....	35
2.9 MANZANA GOLDEN .....	35
2.9.1 CARACTERISTICAS GENERALES .....	36
2.9.2 TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA .....	37
2.9.3 ORIGEN.....	38
2.9.4 PARTICULARIDADES DEL CULTIVO .....	38
2.9.5 COSECHA .....	44
2.10 COMPOSICION NUTRICIONAL .....	44
2.10.1 CONDICIONES ÓPTIMAS DE ALMACENAMIENTO .....	46
2.10.2 SISTEMA DE ENVASADO Y EMBALAJE.....	47
2.10.2.1 ENVASADO.....	47
2.10.2.2 EMBALAJE.....	47
2.10.2.2.1 CLASIFICACIÓN.....	47
2.10.2.3 TIPOS DE ENVASE.....	48
2.10.2.4 ENVASADO DE LA MANZANA .....	48
2.10.2.5 SISTEMA DE ENVASADO .....	48
2.10.2.6 DAÑOS SUFRIDOS EN EL EMBALAJE Y ENVASADO .....	49
CAPITULO III.....	50
METODOLOGÍA .....	50
3.1 MATERIALES .....	50
3.2 EQUIPOS.....	51
3.3 REACTIVOS .....	51
3.4 ETAPA EXPERIMENTAL 1. ELABORACION DE TRES FORMULACIONES DE BIORECUBRIMIENTOS FUNCIONALES.....	52
3.4.1 PREPARACION DE FORMULACIÓN A: COMPUESTA DE GG, ALMIDÓN DE MAÍZ Y ACEITE DE CANELA. ....	52
3.4.2 FORMULACIÓN B: GOMA GUAR, GLICEROL Y ACEITE DE CANELA. ....	52
3.4.3 FORMULACIÓN C: CHITOSANO, ÁCIDO CÍTRICO Y ACEITE DE CANELA.....	53
3.5 ETAPA EXPERIMENTAL 2. APLICACIÓN DEL ESCALDADO DE MANZANA GOLDEN .....	54
3.6 ETAPA EXPERIMENTAL 3. APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS .....	55



3.6.1 CONTROL.....	55
3.6.2 FORMULACIÓN A: GG + ALMIDÓN + ACEITE DE CANELA.....	56
3.6.3 FORMULACIÓN B: GG + GLICEROL + ACEITE DE CANELA .....	56
3.6.4 FORMULACIÓN C: CHITOSANO + ÁCIDO CÍTRICO Y ACEITE DE CANELA.....	57
3.7 ETAPA EXPERIMENTAL 4. EVALUACION MICROBIOLÓGICA DE LA MANZANA MÍNIMAMENTE PROCESADA .....	58
CAPITULO IV.....	62
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	62
4.1 ETAPA EXPERIMENTAL 1. ELABORACION DE TRES FORMULACIONES DE BIORECUBRIMIENTOS FUNCIONALES.....	62
4.1.1 PREPARACION.....	62
4.2 ETAPA EXPERIMENTAL 2. APLICACIÓN DE ESCALDADO EN LA MANZANA GOLDEN....	62
4.3 ETAPA EXPERIMENTAL 3. APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS .....	63
4.4 ETAPA EXPERIMENTAL 4. EVALUACION MICROBIOLÓGICA DE LA MANZANA MÍNIMAMENTE PROCESADA .....	63
V. CONCLUSIONES.....	70
V.I BIBLIOGRAFIA .....	71
ANEXOS .....	76

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales compuestos con actividad microbiana del aceite esencial de canela ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ). .....	28
Cuadro 2. Características de riego en los diferentes tipos de suelos.....	37
Cuadro 3. Abonado para una plantación adulta de manzanos.....	39
Cuadro 4. Control químico sobre las malas hierbas anuales.....	41
Cuadro 5. Características de almacenamiento.....	45
Cuadro 6. Resultados concentrados del análisis microbiológico.....	65

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Elaboración formulación A.....	50
Figura 2. Elaboración formulación B.....	51
Figura 3. Formulaciones A, B y C ya elaborados.....	51
Figura 4. Manzana Golden desinfectada.....	52
Figura 5. Manzana mínimamente procesada.....	52
Figura 6. Manzana Sumergida en agua destilada.....	53
Figura 7. Manzana sumergida en formulaciones A.....	54
Figura 8. Manzana sumergida en formulación B.....	54
Figura 9. Manzana sumergida en formulación C.....	55
Figura 10. Manzana en cajas de acrílico para refrigeración.....	55
Figura 11. Medios de cultivo Peptona de caseína, PDA, STD.....	56
Figura 12. Elaboración de medios.....	57
Figura 13. Peptona de caseína.....	57
Figura 14. Autoclave para esterilización.....	57
Figura 15. Vaciado de agares en cajas Petri.....	57

Figura 16. Pesado 10g de muestra.....	58
Figura 17. Homogenizado de muestra en licuadora Osterizer.....	58
Figura 18. Muestras homogenizadas de cada uno de los tratamientos.....	58
Figura 19. Preparación de diluciones.....	59
Figura 20. Sembrado en cajas Petri.....	59
Figura 21. Análisis de medias por días de bacterias mesófilas.....	62
Figura 22. Análisis de medias por muestras de mesófilos.....	63
Figura 23. Análisis de medias por días para hongos y levaduras.....	64
Figura 24. Análisis de medias por muestra de hongos y levaduras.....	65
Figura 25. Cambio en las muestras de manzana Golden con los diferentes biorecubrimientos a los 10 días de almacenamiento.....	66
Figura 26. Control con crecimiento de hongos y levaduras.....	67
Figura 27. Formulación A con crecimiento de hongos y levaduras.....	67

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la capacidad del recubrimiento para extender la vida de anaquel de un producto hortofrutícola al determinar la calidad microbiológica de cuatro biorecubrimientos funcionales aplicados sobre manzana Golden mínimamente procesada. Se elaboraron tres formulaciones de biorecubrimientos funcionales, las cuales fueron: a) combinada de GG (Goma Guar) y almidón de maíz con aceite de canela, b) GG (Goma Guar), Glicerol y aceite de canela y c) Chitosano, ácido cítrico y aceite de canela y teniendo d) un control en agua destilada.

Todos los tratamientos se almacenaron durante 20 días a una temperatura de 11° C (refrigeración) siguiendo el procedimiento descrito por Jo *et al.*, (2014) y Cordova (2016). Las muestras de manzana Golden se lavaron, desinfectaron, se cortaron con el cortador y se escaldaron los trozos durante 2 minutos a 80°C. Posteriormente, se elaboraron los recubrimientos y se aplicaron por inmersión a la manzana mínimamente procesada y escaldada. Se dejaron secar los tratamientos colocando las muestras en cajas de acrílico y en refrigeración para su posterior análisis. Las muestras por tratamiento se sometieron a un proceso de homogenizado tomando 10 gramos de muestra, se homogenizaron en un procesador Master chef durante 1.5 minutos. Una vez teniendo la muestra homogenizada se realizaron una serie de diluciones (-1, -2, -3, -4, -5) para la cuenta microbiana.

Para la cuenta de la población de bacterias mesófilas aerobias totales se hizo con el Agar Cuenta Total, y las cajas Petri se incubarán a 37°C durante 48 horas. Para la población de hongos y levaduras se utilizó el medio Agar Papa Dextrosa (PDA) y las cajas Petri se incubarán a 25°C durante 72 horas.

La cuenta microbiana se expresará como log UFC/mg.

El análisis estadístico para la evaluación microbiológica demostró que si hubo diferencias significativas a una  $p < 0.05$  en las bacterias mesófilas aerobias

como en hongos y levaduras entre el estudio de medias por días y el tipo de tratamiento. Para muestras de análisis de bacterias mesófilas aerobias para los días 10 y 20 mostró diferencia significativa con una media de 66250.00 UFC/mg y 199166.67 UFC/mg, respectivamente. En cambio, con las muestras de Control (CTR) y la formulación B Goma Guar+Glicerol+Aceite esencial de canela (FB) se encontró que son similares con una  $p < 0.05$  con sus medias correspondientes de 59200.00 UFC/mg y 51846.67 UFC/mg. Y la formulación A Goma Guar+Almidón+Aceite esencial de canela (FA) y la formulación C Chitosano+Ácido cítrico+Aceite esencial de canela (FC) con medias de 71433.33 UFC/mg y 43566.67 UFC/mg respectivamente, siendo estas significativamente diferentes con una  $p < 0.05$ .

En cuanto a hongos y levaduras en los días del 1 al 5 al 10, no hubo diferencia significativa con medias de 0.00 UFC/mg y 25.00 UFC/mg, respectivamente.

En cuestión de las muestras, si hubo diferencia significativa en el CTR con una  $p < 0.05$  con media de 180.00 UFC/mg, ya que hubo mayor crecimiento de hongos y levaduras. En cambio con las muestras de FA, FB y FC no hubo diferencia significativa con una  $p < 0.05$  con medias de 0.67 UFC/mg y 0.00 UFC/mg, respectivamente. Considerando estos resultados se consideró que el mejor biorrecubrimiento fué el elaborado con Chitosano, que corresponde a la FC, presentando menor crecimiento tanto de bacterias mesófilas aerobias como de hongos.

**Palabras claves:** recubrimientos comestibles, manzana mínimamente procesada, aceites de canela, goma guar.

Correo electrónico: [consuelo\\_rodriguez95@hotmail.com](mailto:consuelo_rodriguez95@hotmail.com),  
[xruelas@uaaan.edu.mx](mailto:xruelas@uaaan.edu.mx) (asesora tesis)

## **CAPITULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

La manzana es una de las especies de fruta dulce de mayor difusión a escala mundial. En México la producción de manzana más alta particularmente es en Chihuahua el cual aporta más de las dos terceras partes de la producción. Las variedades que mayormente destacan son: 'Golden Delicious', 'Red Delicious' y 'Rome Beauty' (SAGARPA-UNIFRUT, 2013).

En los últimos años ha incrementado el interés por el consumo de frutas en estado fresco debido al potencial nutricional que estas contienen. Además, por el alto consumo energético que se generan en la aplicación de una cadena en frío, se ha incursionado en la aplicación de recubrimientos comestibles como una técnica alternativa para la conservación de frutas.

La aplicación de recubrimientos comestibles resulta conveniente para satisfacer la necesidad del consumidor, ya que la calidad del alimento obtenido tras su procesamiento resultaría mínimamente alterada. Adicional a lo anterior, los recubrimientos comestibles actúan como una barrera semipermeable eficaz para el control del intercambio de gases generados en los procesos fisiológicos de la fruta, creando una atmósfera modificada que retrasa la senescencia del producto. Por otro lado, no solamente beneficia la calidad de las frutas, sino que también es una tecnología benéfica para el medio ambiente ya que se utilizan materias primas con una naturaleza biodegradable (Villegas, 2016).

El uso de una PC o RC en aplicaciones alimentarias y en especial en productos altamente perecederos, como los pertenecientes a la cadena hortofrutícola, se basa en ciertas características tales como costo, disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas (tensión y flexibilidad), propiedades ópticas (brillo y opacidad), su efecto barrera frente al flujo de gases, resistencia

estructural al agua, a microorganismos y su aceptabilidad sensorial. Estas características son influenciadas por parámetros como el tipo de material implementado como matriz estructural (conformación, masa molecular, distribución de cargas), las condiciones bajo las cuales se preforman las películas (tipo de solvente, pH, concentración de componentes, temperatura, entre otras), y el tipo y concentración de los aditivos (plastificantes, agentes entrecruzantes, antimicrobianos, antioxidantes, emulsificantes, etc.) (Guilbert, 1996).

La presente tesis tiene como objetivo hacer una comparación de películas y recubrimientos comestibles, haciendo énfasis en las aplicaciones a la cadena hortofrutícola, en este caso la manzana Golden y su efecto como un producto mínimamente procesado. Así mismo, pretende proporcionar la importancia que genera su estabilidad microbiológica.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 OBJETIVO GENERAL**

- Investigar el efecto de tres biorecubrimientos funcionales sobre la calidad microbiológica de manzana mínimamente procesada durante el almacenamiento de 20 días a temperatura de refrigeración (11°C), y evaluar la capacidad del biorecubrimiento como un medio para extender la vida de anaquel de la manzana mínimamente procesada.

### **1.1.2 OBJETIVO ESPECIFICO**

- Evaluar la calidad microbiológica de la manzana mínimamente procesada con tres recubrimientos funcionales durante el almacenamiento a temperatura de 11°C durante 20 días, muestreando cada 5 días.
  - a. Cuantificar las unidades formadoras de microorganismos mesófilos aerobios totales.
  - b. Cuantificar las unidades formadoras de microorganismos de hongos y levaduras.

## **1.2 HIPOTESIS**

La aplicación de un recubrimiento con aceite esencial de canela en una manzana mínimamente procesada disminuye el crecimiento microbiano siendo eficiente para la conservación de la calidad microbiana del producto durante su vida de anaquel.



### **1.3 JUSTIFICACIÓN**

El desarrollo de películas y biorecubrimientos aplicados a productos hortofrutícolas tanto frescos como mínimamente procesados ha generado avances respecto a la calidad microbiológica y la vida de anaquel de dichos alimentos.

El uso de gomas y aceites esenciales, tienen como objetivo generar un ambiente modificado para tener efectos positivos sobre el control de la tasa de crecimiento microbiano y mantener las características organolépticas de los frutos incluso siendo ya procesados como los productos escaldados.

La finalidad de esta investigación es obtener el efecto microbiológico de tres biorecubrimientos funcionales en manzana mínimamente procesada durante el almacenamiento a una temperatura de refrigeración de 11°C, como una alternativa para alargar la vida de anaquel y reduciendo su crecimiento microbiano.

## **CAPITULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **2.1 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

##### **2.1.1 ANTECEDENTES**

Los recubrimientos comestibles (RC) utilizados en productos alimenticios no son tratamientos innovadores ya que se realizan desde hace años, con el objetivo de aumentar y mejorar el aspecto de las características organolépticas de muchos alimentos.

Existen diferentes métodos de conservación que pueden disminuir el deterioro de los productos alimenticios como el almacenamiento en frío, irradiación UV, empacado en atmósferas modificadas y los RC (Lemoine, 2007).

Los RC pueden ser definidos como una delgada capa de material que cubre la superficie del alimento, puede ser consumida como parte del producto y juega un papel importante en su conservación, distribución y mercadeo. Algunas de sus funciones son proteger al producto alimenticio de daños mecánicos, físicos, químicos, y microbiológicos y por lo tanto extender su vida útil (Falguera, 2011).

Según Handerburg (1967), la aplicación de los recubrimientos comestibles para la protección de los alimentos con el fin de prolongar su vida de anaquel no es nada nuevo, menciona que desde los siglos XII y XIII en China se utilizaban ceras para recubrir a los cítricos retardando su desecación. En el siglo XVI sucedía que el recubrimiento de las frutas se llevaba a cabo con parafinas previniendo la pérdida de humedad del alimento (Cordova, 2016).

Las ceras fueron las primeras cubiertas comestibles empleadas en frutas. En los años 1930s se disponía comercialmente de ceras de parafina derretidas en caliente para su aplicación como recubrimiento de manzanas y peras. Las

propiedades que ofrecen las películas comestibles dependen de los componentes de los cuales están elaborados (Cordova, 2016).

Los recubrimientos tienen un excelente potencial para mantener la calidad postcosecha de productos hortofrutícolas. Además de las propiedades de barrera que presentan, también pueden poseer un efecto antimicrobiano cuando se le adicionan compuestos con esta actividad, tal es el caso de los aceites esenciales.

Entre algunos de los estudios que muestran la eficacia de la aplicación de aceites esenciales en recubrimientos comestibles se encuentra lo reportado por Ramírez (2013) quien aplicó aceite esencial de hoja de canela (36.1 g/L) en recubrimientos de pectina (30 g/L) y observaron una completa inhibición del deterioro fúngico causado por *Bacillus Cinerea*. Por otra parte, Rodríguez (2013) aplicó un recubrimiento de pectina (30 g/L) adicionado con AEO (36.1 g/L) sobre tomate fresco y pudo observar una completa reducción del deterioro fúngico causado por *Alternaria alternata*. En base a lo mencionado anteriormente, la aplicación de aceites esenciales en recubrimientos comestibles puede ser una opción para proveer efecto antimicrobiano a éstos (Ramírez, 2013).

Existen datos publicados acerca de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales aplicados en alimentos, mostrando diferentes valores de eficacia dependiendo el tipo: orégano/ clavo/ semilla de cilantro/ canela/ tomillo/ menta/ romero/ mostaza/ cilantro/ salvia (Burt S. A., 2004).

La estructura química de los componentes individuales del aceite esencial afecta su preciso modo de acción y actividad antimicrobiana (Dorman, 2000).

Según el tipo de biopolímeros (proteínas, polisacáridos, lípidos) que componga las películas comestibles (PC) o recubrimientos comestibles (RC) sus características y funciones serán diferentes, ya que están ligadas a la composición química y estructural del mencionado biopolímero. Dichas

funciones están asociadas a la conservación de la calidad de los alimentos sobre los cuales se aplica y consisten principalmente en servir como barrera en la transferencia de distintas sustancias, desde el alimento hacia el exterior y viceversa.

En los últimos años se ha incrementado el interés por conseguir que las frutas y hortalizas conserven durante un tiempo más largo sus características sensoriales, nutricionales y microbiológicas, que es lo que determina su calidad y vida útil. Las características se suelen ver afectadas durante el proceso de postcosecha, almacenamiento y comercialización y aunque hay procesos físicos y químicos que permiten estabilizar y conservar la calidad de los alimentos, normalmente se hace necesario el uso de un envase adecuado para su distribución y almacenamiento que proporcione una adecuada permeabilidad al vapor de agua y a los gases, así como una cierta protección mecánica (Roblero, 2014).

### **2.1.2 DEFINICIÓN Y DIFERENCIA ENTRE PELÍCULA Y RECUBRIMIENTO**

Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión de este en una solución formadora del recubrimiento (Ramos-García M. L.-B.-N., 2010).

Una película comestible (PC) es una matriz preformada, delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento del alimento o estará ubicada entre los componentes de este. Dichas soluciones formadoras de PC o RC pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de estos (Krochta, 1994).

La diferencia entre una película y un recubrimiento comestible es la forma de elaborarlos y aplicarlos en el alimento. Una película es una capa delgada de material comestible, formada por separado y que es colocada sobre una superficie nivelada para su posterior uso (Sharma, 2015). Un recubrimiento se

aplica sobre la superficie de un alimento, ya sea por inmersión en una disolución o por aspersión (Arredondo-Ochoa, 2012).

### **2.1.3 APLICACIÓN Y FUNCIONES EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS**

El uso de películas y recubrimientos comestibles en alimentos, evitan la pérdida o ganancia de humedad que provoca una modificación en su textura y turgencia, retardan los cambios químicos como el color, aroma y valor nutricional, ya que actúan como barrera contra el intercambio de gases que influye en la estabilidad química y microbiológica, además de evitar el daño mecánico por manipulación (McHugh, 2000).

La aplicación de películas y cubiertas comestibles elaboradas con biomoléculas, también puede funcionar como un microsistema que ayuda a modificar las atmósferas del interior de los productos vegetales, lo que representa una alternativa para la conservación de productos hortofrutícolas frescos, al reducir significativamente la pérdida de peso, agua y el intercambio de gases, así como retrasar el envejecimiento y mejorar la calidad sensorial de éstos (Salinas Salazar, 2015).

### **2.1.4 IMPORTANCIA DE LAS PELÍCULAS COMESTIBLES Y LOS RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

Las películas y recubrimientos comestibles pueden cumplir muchos de los requisitos involucrados en la comercialización de alimentos entre los que destacan el valor nutricional, la sanidad, alta calidad, estabilidad y economía (Molina, 2003).

El empaque desempeña un papel fundamental sobre la conservación, distribución y marketing. Algunas de sus funciones son contener el alimento, y protegerlo de la acción física, mecánica, química y microbiológica (Hernández, 2010).

Las PC y RC pueden emplearse como barrera a gases y vapor de agua, para este propósito se aplican sobre la superficie del alimento como es el caso en

el recubrimiento de frutas y hortalizas frescas, en donde la función primordial es la de restringir la pérdida de humedad de la fruta hacia el ambiente y reducir la absorción de oxígeno por la fruta para disminuir la tasa de la actividad respiratoria (Kester, 47-59.).

### **2.1.5 NUEVOS BIOPOLÍMEROS IMPLEMENTADOS EN EL DESARROLLO DE PELÍCULAS Y RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES.**

**Goma policaaju:** a partir de la goma exudada del árbol de marañón (*Anacardium occidentale L.*) se han generado nuevas matrices de recubrimiento y películas comestibles a base de goma policaaju. Éstas han sido evaluadas teniendo en cuenta su opacidad, fuerza tensil, porcentaje de elongación a la rotura y permeabilidad al vapor de agua. Además, propiedades tales como humectabilidad y tensión superficial fueron cuantificadas mediante su uso como recubrimiento en manzanas cv. Golden. Como resultado se pudo determinar que concentraciones menores a 1.5% w/v de goma policaaju crearían películas frágiles, la adición de Tween 80, aditivo que cumplió funciones como surfactante, redujo las fuerzas de cohesión por lo tanto se disminuyó la tensión superficial, aumentando la humectabilidad de la solución de recubrimiento, y mejorando de ese modo la compatibilidad del RC con la superficie de la fruta (Carneiro-da-Cunha, 2009).

**Galactomananos:** son hidrocoloides que generan interés por su capacidad para estructurar matrices. Se encuentran almacenados como polisacáridos de reserva, son extraídos de semillas, y su estructura polimérica se encuentra influenciada principalmente por la proporción de unidades de manosa/galactosa y la distribución de los residuos de galactosa en la cadena principal. Diferentes proporciones de galactomananos, colágeno y glicerol fueron preparados y puestos a prueba con el fin de diseñar posibles mezclas con un alto grado de humectabilidad, es decir que tengan la capacidad de adherirse y distribuirse homogéneamente y fácilmente en frutos de mango y manzana recubiertos. Como principales conclusiones se pudo determinar que

las mejores mezclas para mango y manzana son: 0.5% de galactomamano de *Adenantha pavonina*, 1.5% de colágeno y 1.5% de glicerol; y 0.5% de galactomanano procedente de *Adenantha pavonina*, 1.5% de colágeno sin adición de glicerol. Un menor consumo (28%) de O<sub>2</sub> y menos producción de CO<sub>2</sub> (11.0%) fueron logrados en mangos recubiertos en comparación con las muestras control (sin recubrimiento). En manzanas el consumo y producción de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> fue aproximadamente un 50% más bajo en presencia del RC. Estos resultados sugieren que los recubrimientos compuestos a base de galactomananos pueden reducir la transferencia de gases y de esta manera llegar a convertirse en útiles herramientas para extender el periodo de vida de dichas frutas (Lima, 2010).

**Aloe vera:** el gel extraído de la pulpa de *Aloe barbadensis Miller* ha recibido un especial interés por la capacidad de actuar como recubrimiento (Valverde *et al.*, 2005), su actividad antioxidante como respuesta a la presencia de compuestos de naturaleza fenólica (Lee *et al.*, 2000), y el hecho de que genera entre 4 y 2 reducciones logarítmicas en el crecimiento del micelio de mohos tales como *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria alternata* a concentraciones del gel a 250 mL/L (Castillo, 2010).

### **2.1.6 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL USO DE LOS RECUBRIMIENTO COMESTIBLES**

Dentro de las ventajas del uso de recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas mínimamente procesadas se encuentran:

- Mejoran la retención del color, ácidos, azúcares y componentes del sabor.
- Reducen la pérdida de agua.
- Mantienen la calidad durante el almacenamiento.
- Disminuyen los desórdenes metabólicos durante el período de conservación.
- Permiten la adición de otros compuestos.

- Reducen el uso de envases sintéticos.

Sin embargo, su utilización también presenta inconvenientes. Una de las principales desventajas del uso de los RC es su grosor, ya que este puede restringir el intercambio gaseoso durante la respiración de los tejidos, pudiendo causar acumulación de altos niveles de etanol y por ende el desarrollo de malos sabores (Cordova, 2016).

### **2.1.7 TECNICAS DE ELABORCIÓN PARA LA OBTENCION DE RECUBRIMIENTOS**

Las técnicas comúnmente utilizadas para la elaboración de las películas y recubrimientos comestibles son las siguientes:

**1. Por Eliminación del Disolvente.** - En este proceso se forma y se estabiliza una estructura molecular por interacciones físicas y químicas. La disolución formadora del hidrocoloide comestible se incorpora en un disolvente (agua, etanol, ácido acético) que contiene a los aditivos como, plastificantes, agentes de reticulación o solutos; paso seguido se elimina el disolvente, con lo que se forma una capa delgada que se seca y que finalmente se puede desprender (Cagri, 2004).

**2. Por Gelación Térmica.** - La aplicación de un tratamiento térmico en este proceso permite la formación de un gel estable de estructura rígida. Ésta es utilizada generalmente para películas y recubrimientos elaborados a base de proteínas, descrita como un proceso en el que la desnaturalización térmica desestabiliza las moléculas de proteínas, las cuales dan lugar a la formación de un entramado estable entre partículas (Carmona Gallego, 2007).

**3. Por Solidificación.** - En este método las macromoléculas junto con el plastificante, son disueltas hasta su homogeneización y son vertidas en capas finas sobre moldes (Ávila-Sosa, 2012).

**4. Por el método de “Casting”.**- Una vez realizada la disolución de los componentes de la película, se realiza la evaporación del disolvente a



temperatura y humedad controladas, provocando la formación de la película (Escobar, 2009).

**5. Por “electrospraying” (Pulverización electrohidrodinámica).**- Es un método de atomización del líquido formador de la película por medio de fuerzas eléctricas, en donde el líquido sale por una boquilla con un alto potencial eléctrico. La ventaja de este método es que las gotas que se obtienen son tan pequeñas que el tamaño de su partícula llega a medir incluso nanómetros, y la carga y el tamaño pueden controlarse en cierta medida por medios eléctricos (Jaworek, 2008).

**6. Por Microfluidización.**- Proceso en que las dispersiones se hacen pasar a través de microcanales, lo que permite la obtención de nanopartículas que otorgan a la película mejores características físicas, y posteriormente se aplica el método de casting para la formación de la película (Monroy-Villagrana, 2014).

## **2.2 GOMA GUAR**

Es obtenida a partir de algas rojas de la clase *Rhodophyceae*, siendo las más importantes la *Gelidium cartilagineum*, *Gracilaria confervoides* y *Pteroclaia capillacea*. Considerada como uno de los agentes gelificantes más importantes, esta goma constituida de galactosa y anhidrogalactosa parcialmente esterificada con ácido sulfúrico, produce una gelificación perceptible en concentraciones tan bajas como 0.04%. No es soluble en agua fría pero se disuelve completamente en agua caliente, y la gelificación se inicia en la faja de 35 a 40°C, resultando un gel fuerte, claro y termorreversible que sólo se liquidifica si la temperatura llega a 85°C. Sus propiedades gelificantes, la resistencia térmica de sus geles y la marcada diferencia entre sus temperaturas de gelificación y de fusión, son las razones fundamentales a la hora de escogerla, aunque su uso en la industria americana de alimentos, por ejemplo, no es muy importante en términos cuantitativos. Su uso en niveles

del orden de 0.12% mejora la suavidad de helados y su uso en la fabricación del queso mejora la textura y calidad de los cortes (Pasquel, 2001).

### **2.3 GLICEROL**

Se trata de un compuesto líquido a temperatura ambiente, viscoso, incoloro, inodoro y ligeramente dulce. La presencia de los tres grupos hidroxilo le hace ser higroscópico, fácilmente soluble en agua y alcoholes, ligeramente soluble en disolventes orgánicos como éteres y dioxanos, e insoluble en hidrocarburos. El glicerol es una molécula altamente flexible, capaz de formar enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares.

El glicerol, nombre que proviene del griego “Glykos” significa dulce y es uno de los productos químicos más versátiles y valiosos conocidos.

El glicerol se encuentra formando parte de los aceites y grasas vegetales y animales como, mono, di o triacilglicéridos (glicerol y una, dos o tres moléculas de ácidos grasos saturados o insaturados, respectivamente) y también de los fosfolípidos, concretamente de los fosfoglicéridos o fosfoacilgliceroles (glicerol, ácidos grasos y grupo fosfato) integrantes de la membrana celular de animales y vegetales.

El glicerol está declarado desde 1959, como sustancia segura para el consumo humano (Aranda, 2017).

#### **2.3.1 APLICACIONES**

La principal aplicación del glicerol en la industria química es como disolvente, debido a sus particulares propiedades, presentando así, numerosas ventajas frente a otros disolventes tradicionales, tanto en reacciones catalizadas como no catalizadas.

La aplicación de las tecnologías de fermentación industrial como una alternativa al aprovechamiento del glicerol crudo puede considerarse como un prometedor aspecto a desarrollar en el campo de la biotecnología. En este sentido, el aislamiento y caracterización de microorganismos con tolerancia

hacia las impurezas contenidas en el crudo de glicerol, así como el desarrollo de protocolos para los procesos de biotransformación del glicerol (Aranda, 2017).

La aplicación del glicerol es muy variada. Entre sus usos más frecuentes se encuentran:

- La fabricación de productos cosméticos, sobre todo en la industria jabonera.
- Dentro del área médica, se usa en las composiciones de medicamentos, a modo de jarabes, cremas, etc.
- En temperaturas más altas de los 250°C, en los baños calefactores.
- En ciertas maquinarias se utiliza como lubricante.
- Anticongelante
- Fabricación de distintos productos, sobretodo en la preparación de tés, cafés, y otros extractos vegetales, así como la elaboración de bebidas refrescantes, donde se añade como aditivo para aumentar la calidad.
- Fabricación de resinas utilizadas como aislantes.
- Es un componente importante en barnices, así como en la industria de pinturas y otros acabados.

## **2.4 ACEITES ESENCIALES**

Los aceites esenciales son considerados metabolitos secundarios que son producidos por alguna parte de las plantas (tallo, hojas, flores, etc.), los cuales pueden contener compuestos como: carvacrol, monoterpenos,  $\alpha$ -pineno, limoneno y timol, entre otros (Martínez-M., 2003).

El mecanismo de acción de los aceites esenciales sobre los patógenos se asocia principalmente con la capacidad de interactuar en el citoplasma de la membrana, por lo que sirve como inhibidor del crecimiento de microorganismos (Rosas-Gallo, 2011).

El uso de aceites esenciales puros o en altas concentraciones puede causar toxicidad en humanos, generando irritaciones en la piel hasta producir cáncer. Sin embargo, en concentraciones mínimas no generan daños, además son considerados como GRAS (Ramos-García M. B.-B.-N.-M.-T.-C., 2010).

#### **2.4.1 ACEITE DE CANELA**

El aceite esencial de canela proviene de *Cinnamomum verum* (también llamado *Laurus cinnamomum*) de la familia de plantas del Laurel (*Lauraceae*).

Los aceites esenciales del género *Cinnamomum*, destilados de la corteza, se distinguen por tener fenoles (expresado como eugenol 4-10%) y aldehídos (expresado como cinamaldehído 60-75%) como los principales compuestos. El cinamaldehído tiene un punto de ebullición de 252°C, es el compuesto orgánico que le da sabor y olor a la canela, esta molécula tiene un bajo nivel de densidad y es un agente anti-diabético y antimicrobiano (Miranda, 2013).

El aceite contiene de 55 a 85% de componentes carboxílicos, siendo el aldehído cinámico el principal compuesto. En menor cantidad: o-metoxialdehído cinámico, eugenol (5 a 11%) hidrocarbonatos (pineno, cimeno, felandreno) aldehídos (bencílico, cumínico, 9 nonílico, furfural) cetonas (metil amil cetona) y también trazas de alcohol (linalol), timol y carvacol. En la corteza fresca se presenta el cinamil-acetato, que durante el secado se transforma en aldehído cinámico. En la corteza de las raíces el aceite esencial se compone principalmente de cânfora además de otros monoterpenos, taninos (2%), azúcares: almidón e indicios de mucílago, contiene el azúcar invertido manitol, cumarinas, diterpenos y sesquiterpenos, cinnzeilanina y cinzeilanol, cariofileno. minerales: oxalato de calcio de 2.5 a 6%, otros: bencilisoquinolina, berberina, metileugenol, miristicina, elamicina, ac. mirístico, ac. láurico, aldehído cumínico, fenantroquinolicidina, fenantroindolicionina (Padrón, 2010).

## 2.4.2 GENERALIDADES

El uso de agentes microbianos en alimentos ha sido estudiado desde hace varias décadas y se ha demostrado que las hierbas, plantas y especias (o sus componentes y aceites esenciales) tienen propiedades bactericidas y fungicidas, además de actuar como ingredientes tradicionales y saborizantes en los alimentos.

Recientes investigaciones científicas indican que especias tales como la canela (*Cinnamomum zeylanicum*) poseen propiedades antimicrobianas como vemos en el Cuadro 1, lo cual justifica su adición como conservadores en los alimentos procesados y mínimamente procesados; asimismo, y de manera complementaria, el sabor de estas especias puede contribuir a las características sensoriales de sabor y olor en los alimentos en los cuales se apliquen (Burt, 2004).

Ha sido ampliamente estudiado y demostrado que los aceites esenciales de canela, así como sus principales componentes, como eugenol poseen propiedades antibacterianas y fungicidas significativos. Por lo anterior, es importante conocer los mecanismos de acción antimicrobiana de los aceites esenciales y sus componentes, ya que de ello depende su adecuada y correcta aplicación en los alimentos.

Respecto a la canela, las especies más comunes son: *Cinnamomum zeylanicum* o “canela verdadera”, *Cinnamomum loureirii* o “casia de Saigón o vietnamita”, *Cinnamomum cassia* o “casia o canela china”, y *Cinnamomum burmannii* o “canea de Batavia”. El reporte del contenido de aceite esencial extraído de la corteza de los árboles de dichas especies es variable entre autores, encontrándose entre 0.5% a 1.0% (López Malo, 2005).

Cuadro 1. Principales compuestos con actividad microbiana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*)

Nombre común	Nombre científico	Compuesto	Concentración (%)	Referencia
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Trans-cinamaldehído	50 - 80	Belitz <i>et al.</i> , 2004; Burt, 2004
		Eugenol	10	
		Safrol	0 - 11	
		Linalol	10 - 15	

Fuente: But, 2004.

La acción antimicrobiana del aceite esencial de canela es atribuida principalmente al aldehído cinámico y eugenol (Baratta, 1998).

## 2.5 CHITOSANO

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

Además de investigaciones basadas en sus características antimicrobianas, se han evaluado y cuantificado sus propiedades mecánicas, térmicas y de permeabilidad a los gases (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>), encontrándose que PC de gelatina-quitosano plastificadas con agua y polioles sufren un aumento en la permeabilidad conforme se incrementa el contenido de plastificantes (Arvanitoyannis, 1997).

## 2.6 TWEEN

El tween es un surfactante hidrofílico. Se utiliza para la emulsificación de aceite en agua (O/W), dispersión o solubilización de aceites. Es un derivado del polioxietileno del monooleato de sorbitán, generalmente solubles o dispersables en agua, y solubles en diferentes grados en líquidos orgánicos.

Se utilizan para emulsificación aceite en agua (O/W), dispersión o solubilización de aceites, y para hacer lavables las pomadas anhidras. Con frecuencia los surfactantes TWEEN se combinan con surfactantes de número similar SPAN o ARLACEL para promover la estabilidad de la emulsión (Cordova, 2016).

## **2.7 MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS**

La Microbiología de Alimentos es la rama de la Microbiología que se ocupa entre otros aspectos del estudio de los microorganismos que pueden afectar la calidad sanitaria de los alimentos y el agua. El área de la microbiología de los alimentos es vasta y compleja, pues incluye además las características generales de estos microorganismos, su ecología, su resistencia al medioambiente, su capacidad para sobrevivir y desarrollarse en los alimentos, las consecuencias de este desarrollo y los factores que influyen en este proceso.

La Microbiología de Alimentos se relaciona con la microbiología médica, la veterinaria, la virología, la parasitología, la genética, la bioquímica, la tecnología de los alimentos, la epidemiología. Es importante en el diseño y aplicación del sistema de análisis de peligro y puntos críticos de control, esencial para garantizar la inocuidad de los alimentos, en el estudio de brotes de enfermedades asociadas al consumo de alimentos, en el diseño y evaluación de técnicas modernas de análisis, en el estudio de los procesos que tiene lugar durante el deterioro de los alimentos y en la fabricación de aquellos que hacen uso de microorganismos (Roberts, 2015).

### **2.7.1 RECuento DE AEROBIOS MESÓFILOS**

Son todas aquellas bacterias aerobias, mesófilas capaces de crecer en agar nutritivo. Se investigan por el método de recuento en placa con siembra en profundidad, que se basa en contar el número de colonias desarrolladas en una placa de medio de cultivo sólido.

La palabra mesófilos significa que son afines a temperatura media (30-37°C) y la palabra aerobios que son dependientes de oxígeno.

El recuento de este tipo de microorganismos permite conocer el grado de contaminación de una muestra, se lleva a cabo a partir de diluciones decimales de la muestra, que se inoculan en placas vertidas en Agar cuenta Estándar. Las placas se inoculan en condiciones de aerobiosis a una temperatura de 35°C durante 24 a 48 horas. Es importante aplicar las reglas indicadas en la NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Bacterias Aerobias en Placa (Moreno, 2000).

### **2.7.2 MOHOS Y LEVADURAS**

Hongos patógenos pueden existir como levaduras o como mohos. Las levaduras son organismos unicelulares y mohos son estructuras filamentosas multicelulares. Algunos hongos se presentan en ambas formas, levaduriformes y filamentosas. Estos se llaman hongos dimórficos.

Los hongos son ubicuos en la naturaleza y la mayoría de las personas están expuestas a ellos. El establecimiento de una infección micótica generalmente depende del tamaño del inóculo y de la resistencia del huésped. La gravedad de la infección depende principalmente en el estado inmunológico del huésped.

Las levaduras también son consideradas generalmente como favorables cuando se asocian a los alimentos, debido al papel que juegan en la obtención de productos y bebidas fermentables, entre los que se conocen la fabricación de pan y productos de pastelería; producción de alcohol, vinos y sidras, cervezas, entre otras bebidas.

Es lógico pensar que, bajo condiciones óptimas de crecimiento, las poblaciones de bacterias superan el crecimiento de levaduras y hongos filamentosos, debido a que poseen un tiempo de generación más corto. Esto implica que las levaduras y mohos solo pueden competir con las bacterias en



la alteración de los alimentos, cuando las condiciones ambientales afectan de forma severa la actividad bacteriana.

Existen determinadas técnicas para la preservación de alimentos que dañan el crecimiento de las bacterias, pero al mismo tiempo favorecen el crecimiento de las levaduras, lo cual está dado por el hecho de que estos grupos son mucho más resistentes a condiciones ambientales estresantes; entre las que predominan baja actividad de agua, bajos valores de pH por el uso de ácidos orgánicos como preservantes químicos, bajos valores de temperatura y uso de antimicrobianos y otros inhibidores naturales y sintéticos. Existe otro problema que incrementa la aparición de contaminaciones en alimentos y bebidas por levaduras, y son el uso de tecnologías modernas de elaboración que utilizan condiciones de procesamiento menos exigentes para mantener el sabor, olor y color naturales, con el propósito de consumir productos cada vez más sanos, existe una tendencia a reducir el uso de preservantes y a la producción de alimentos bajos en calorías, en los cuales no existen elevadas concentraciones de solutos, que reducen la actividad de agua ( $a_w$ ) ejerciendo el efecto preservante, por lo que se favorece la aparición de levaduras contaminantes en siropes y concentrados de frutas y vegetales.

Es justo destacar que el grupo de levaduras que se asocia perjudicialmente a los alimentos es muy reducido: alrededor del 25 % de las especies identificadas y de éstas, un número muy bajo de forma dañina. Las levaduras asociadas a alimentos se clasifican en: no perjudiciales y alteradoras.

Las levaduras alteradoras de alimentos se definen como especies particulares capaces de causar deterioro en alimentos y bebidas que han sido procesados y empacados según las Normas de Buenas Prácticas para producción, manejo y empaque de los alimentos (Ratón, 2004).

## **2.8 MEDIOS DE CULTIVO**

### **2.8.1 AGAR PARA MÉTODOS ESTÁNDAR (STD)**

El Agar para Métodos Estándar es un medio de cultivo sólido, no selectivo, diseñado para la cuantificación de la carga microbiana aerobia presente en muestras de aguas de consumo, aguas residuales, bebidas lácteas, entre otros alimentos.

Fue creado en 1953 por Buchbinder, Baris y Goldstein.

Está compuesto por extracto de levadura, tripteína, glucosa, agar y agua destilada. Esta formulación contiene elementos básicos nutricionales que permite el desarrollo de la carga microbiana aerobia presente, no exigente.

Como el medio no contiene inhibidores, las bacterias pueden desarrollarse sin ningún tipo de restricciones, por ello es ideal para el recuento general de colonias. Sin embargo, la técnica de cuantificación en placa no detectará todas las bacterias presentes, sino solo aquellas que sean capaces de crecer bajo las condiciones ambientales a la que sea sometido el agar.

En este sentido, la técnica de cuantificación en placa busca determinar por lo general la cantidad de bacterias del tipo mesófilas aerobias, es decir, aquellas que se desarrollan en temperaturas entre 25 y 40°C, con una temperatura óptima de crecimiento a 37°C.

Este grupo bacteriano es muy importante, porque allí se encuentran la mayoría de las bacterias patógenas para el hombre.

El Agar para Métodos Estándar se usa en la técnica de recuento de mesófilos aerobios durante el análisis microbiológico de agua y alimentos. El contaje de los mesófilos aerobios es necesario, ya que determina la calidad sanitaria de la muestra en estudio.

La cuantificación microbiana se expresa en unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo o mililitro de muestra (Camacho A, 2014).

### **2.8.2 AGAR PAPA DEXTROSA (PDA)**

El Agar Papa Dextrosa (Potato Dextrose Agar, PDA, por sus siglas en inglés) es un medio de propósito general para levaduras y mohos que puede ser suplementado con ácidos o antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano. Es recomendado para uso con métodos de conteo en placa para alimentos, productos lácteos<sup>4-6</sup> y pruebas realizadas en cosméticos. El Agar Papa Dextrosa (PDA) puede ser usado para el cultivo de levaduras y mohos clínicamente significativos. La base (infusión de papa) nutricionalmente rica, estimula la esporulación de los mohos y la producción de pigmentos en algunos dermatofitos.

El Agar Papa Dextrosa está compuesto por Infusión de Papa deshidratada y Dextrosa que fomentan el crecimiento exuberante de los hongos. El agar es adicionado como agente solidificante. Muchos procedimientos estándares usan una cantidad específica de ácido tartárico estéril (10%) para reducir el pH de este medio a  $3,5 \pm 0,1$ , y así inhibir el crecimiento bacteriano. No recalentar el medio acidificado, el calentamiento en estado ácido hidrolizará el agar (Murray, 1995).

### **2.9 MANZANA GOLDEN**

Golden Delicious es un cultivar de manzana *Malus doméstica* de color amarillo. Es una de las variedades de manzana más cultivadas en todo el mundo. En su estado óptimo de maduración tiene una forma redondeada, color de la piel amarillo, carne de consistencia crujiente, jugosa, ligeramente amargo y es rica en fructosa. En climas templados del hemisferio norte, se cosecha a partir de septiembre (Man, 2008).

### 2.9.1 CARACTERISTICAS GENERALES

La manzana es un fruto producido por el manzano, un árbol perteneciente a la familia Rosaceae. Este fruto proviene de una flor que posee un ovario compuesto ínfero, a diferencia de la mayoría de las rosáceas que tiene ovarios súperos.

El nombre “manzana” hace referencia al nombre otorgado en un principio por *Linnaeus*, *Pyrus malus* (mismo género de la pera, aunque ya no pertenece a él). Actualmente las manzanas se agrupan dentro del género *Malus*. Las especies consideradas como manzanas son: *Malus communis*, *Malus doméstica*, *Malus pumila* y *Malus sylvestrus*. Se ha hecho mención a ellas desde la época de los romanos, griegos y en mitología frecuentemente se reconocen como símbolos de la eterna juventud. Se conocen referencias de cultivos de manzanas desde el año 300 a. C.

La manzana es un típico pomo, comestible, que presenta restos de cáliz en el ápice, la piel puede presentar diferentes colores desde el amarillo, hasta el naranja o rojo y su tamaño depende de la variedad. Las semillas se encuentran en el interior del ovario ínfero que está inmerso en la pulpa del fruto y tiene una o más semillas por segmento.

La manzana es muy rica en nutrientes y la mayoría de ellos están debajo de su piel por lo que es más conveniente comerla sin pelar. Posee buenas cantidades de potasio, ácido fólico, vitaminas (B, C, A). Además, es rica en fibra y calcio.

Se le confiere propiedades antibacterianas por la presencia del compuesto phloterin. Además, la manzana se utiliza para combatir la diarrea. Su fibra ayuda al tránsito intestinal y los ácidos málico y tartárico mejoran la digestión. Igualmente se utilizan como remedio de dolores causados por reumatismos. También para limpiar la vesícula biliar y el hígado.

El manzano es un árbol perteneciente a la familia Rosaceae. En general, estos árboles tienen la copa redonda y miden entre 7 y 12 m, aunque en cultivos comerciales alcanzan entre 2 y 5 m. Las ramas son angulares y su corteza es marrón grisáceo en la madurez.

Son árboles bastante longevos. Las hojas del manzano son caducas, elípticas y sus márgenes son dentados, de color verde oscuro en el haz y grisáceas en el envés. La textura es áspera y bastante gruesa. Las flores se encuentran en grupos, poseen pétalos blancos y rosados, delicados y se encuentran en número de cinco. Tienen numerosos estambres, un estigma que conduce al ovario, con cinco secciones. Estas flores son polinizadas por insectos, principalmente abejas (Zambrano, 2017).

## **2.9.2 TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA**

### **Manzano**

-Familia: *Rosaceae*.

-Especie: *Pyrus malus* L.

-Porte: alcanza como máximo 10 m. de altura y tiene una copa globosa. Tronco derecho que normalmente alcanza de 2 a 2,5 m. de altura, con corteza cubierta de lenticelas, lisa, adherida, de color ceniciento verdoso sobre los ramos y escamosa y gris parda sobre las partes viejas del árbol. Tiene una vida de unos 60-80 años. Las ramas se insertan en ángulo abierto sobre el tallo, de color verde oscuro, a veces tendiendo a negruzco o violáceo. Los brotes jóvenes terminan con frecuencia en una espina.

-Sistema radicular: raíz superficial, menos ramificada que en peral.

-Hojas: ovales, cortamente acuminadas, aserradas, con dientes obtusos, blandas, con el haz verde claro y tomentosas, de doble longitud que el pecíolo, con 4-8 nervios alternados y bien desarrollados.

-Flores: grandes, casi sentadas o cortamente pedunculadas, que se abren unos días antes que las hojas. Son hermafroditas, de color rosa pálido, a veces blanco y en número de 3-6 unidas en corimbo.

-Floración: tiene lugar en primavera, generalmente por abril o mayo, las manzanas más precoces maduran en junio, aunque existen razas que mantienen el fruto durante la mayor parte del invierno e incluso se llegan a recoger en marzo o abril.

-Fruto: pomo globoso, con pedúnculo corto y numerosas semillas de color pardo brillante (Zambrano, 2017).

### **2.9.3 ORIGEN**

Apareció en 1891 en la granja Mullins, en el condado de Clay en el estado de Virginia Occidental (Estados Unidos) y no fue comercializada hasta 1914 cuando los granjeros vendieron los derechos de multiplicación a un vivero.

Fue originada por un cruce fortuito de otras variedades de manzanos posiblemente las variedades Grimes Golden y Golden Reinette.<sup>12</sup> En el almacenamiento se debe tener en cuenta que las manzanas son propensas a marchitarse y presentar oscurecimiento por los golpes que reciba. Se utilizan mucho en las ensaladas, la salsa de manzana y el jarabe de manzana (Man, 2008).

### **2.9.4 PARTICULARIDADES DEL CULTIVO**

#### **Plantación**

Los manzanos se plantan durante el periodo de reposo de la savia. Este periodo dura aproximadamente desde la caída de la hoja en el otoño hasta la nueva brotación en primavera.

Los marcos de plantación son muy variables, dependiendo de los patrones empleados, así como de las distintas formaciones. Normalmente las distancias

entre árboles pueden oscilar entre 2-3 m para el cordón horizontal sencillo y 10-12 m, para formas libres sobre franco.

Las densidades de plantación oscilan entre los 1.500 y los 3.000 árboles/ha en los sistemas en eje y densidades de 1.000 a 1.700 árboles/ha en sistemas en espaldera.

Se aconseja hacer la plantación a distancia tal que no quede ni muy distanciados, de forma que se desaproveche el terreno, ni tan juntos que lleguen a perjudicarse mutuamente.

### Riego

El sistema de riego más empleado es el de inundación o a manta. Aunque en las nuevas zonas de producción es cada vez más frecuente la utilización de riego localizado, bien sea por goteo o por microaspersión. En este caso se utiliza fertirrigación. Las características de riego en los diferentes tipos de suelos se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Características de riego en los diferentes tipos de suelos.

Características	Goteo	Aspersión	Surcos	Inundación
Profundidad mínima	0.6	0.8	1	1.5
Suelos pesados	Bueno	Bueno	Regular	Malo
Suelos medios	Bueno	Bueno	Bueno	Bueno
Suelos ligeros	Bueno	Bueno	Regular	Malo
Drenaje deficiente	Bueno	Bueno	Regular	Malo
Eficiencia riego	90%	80%	70%	60%

Fuente: Penelo, 2018.

Al tratarse de un árbol de abundante y delgado follaje en épocas calurosas transpira y evapora más que otros, y si sufre en esta época una ligera sequía puede provocar la caída de las hojas viejas y prematuras del fruto.

Desde la entrada en vegetación a la de otoño los riegos deben ser abundantes y frecuentes.

El árbol adulto de manzano requiere de forma general entre 200 y 300 litros de agua por año y kilo de fruta producido.

### **Abonado**

-NITRÓGENO: su carencia se manifiesta a mitad del verano, tomando la corteza de los tallos tiernos una coloración rojiza, las hojas apicales pierden clorofila, sus bordes se repliegan hacia la cara superior, y los frutos maduran de manera irregular.

-POTASIO: su carencia se caracteriza por la debilidad de los ramos, por rizarse y doblegarse el borde de las hojas hacia el haz, tomando una coloración castaño-rojiza, precipitando su caída. El fruto es de menor tamaño y pierde colorido.

-MAGNESIO: su carencia se manifiesta por la pérdida de clorofila en el borde de las hojas, seguida de necrosis y manchas en el centro del pecíolo, que provocan su caída. El tamaño del fruto se reduce y pierde resistencia.

Esta deficiencia es especialmente importante en tierras muy ligeras o franco-arenosas, los plantones de un año o dos injertados sobre patrones clonales; pueden verse las hojas manchadas, provocando la necrosis y su caída, dejando a la entrada del otoño el plantón totalmente deshojado. Se recomienda aplicar este elemento fertilizante a la entrada del otoño.

-ZINC: su carencia se manifiesta en las hojas por la pérdida de clorofila, manteniéndose verde el nervio central, doblándose los bordes hacia el haz.



-HIERRO: su carencia se traduce en las hojas por una pérdida de clorofila, manteniéndose verdes sus nerviaciones, desprendiéndose algunas hojas apicales y en las basales aparecen manchas pardas, que después se necrosan.

-MANGANESO: su carencia se manifiesta en las hojas por la pérdida de clorofila entre las nerviaciones laterales del folíolo y deteniendo el desarrollo del árbol.

-COBRE: los síntomas de la carencia se traducen en las hojas apicales y punta de los brotes tiernos por tomar un matiz amarillento, desprendiéndose las hojas y dejando a los brotes desnudos, que mueren y se secan, dando al árbol una forma achaparrada.

-BORO: el boro interviene el metabolismo de los cationes, glúcidos, absorción de agua y formación de la pectina de las membranas celulares. Su carencia se manifiesta en las hojas de los ramos terminales por el aborto de las yemas; en las flores provoca un desecamiento; en los frutos deformaciones, agrietamientos, caída prematura y acorchado.

En el cuadro 3 se muestran los elementos que se utilizan en el abonado y lo Kg/ha.

Cuadro 3. Abonado para una plantación adulta de manzanos

Abonado	Kg/ha
Nitrato amónico cálcico (20.5% N)	500
Superfosfato (18% $P_2O_5$ )	300
Cloruro potásico (60% $K_2O$ )	200

Fuente: Penelo, 2018.

## **Poda**

Los objetivos de la poda son ayudar y corregir los hábitos de crecimiento y de fructificación de cada variedad, de forma que se obtengan árboles de esqueleto equilibrado y robusto, capaz de soportar el peso de las cosechas, conseguir una producción abundante, airear e iluminar el centro del árbol y eliminar toda la madera seca, enferma o no productiva.

Se trata de una especie muy plástica, debido por un lado a que su madera es flexible y a la existencia de yemas latentes; por tanto responde muy bien a la poda.

Antes de podar es preciso saber los hábitos de desarrollo de la variedad de manzano, sus órganos vegetativos y fructíferos, y como aparece y se distribuye la nueva vegetación.

Los sistemas de formación más utilizados son las formas en eje, bien sea libre o con una base estructurada, tipo "fusetto" italiano. También es frecuente el tipo de formación en espaldera, sea en palmeta o incluso, en algunas zonas, el "drapeaux" de origen francés.

## **Aclareo**

El aclareo de frutos bien sea de forma manual o química, es necesario para la producción de fruta de calidad.

Se ha comprobado en la variedad de manzana Red Delicious que el aclareo aumenta la cantidad de azúcar en los frutos, la materia seca y algo de su acidez.

El fructificación del manzano se produce en forma de corimbo, dando lugar a dos, tres o más frutos en un solo ramillete, cuando solamente debería producir un solo fruto, por lo tanto, deben suprimirse los restantes. Los frutos deben aclararse al alcanzar el tamaño de una avellana, dándoles un movimiento de torsión.

Más eficaz que el aclareo de los frutos es el de las flores, porque el árbol no pierde una parte de las reservas que emplea en la formación de aquellos.

El aclareo químico se realiza con productos hormonales, como NAD o ANA, y otros productos como Carbaril. Las dosis y momentos dependen de cada variedad y circunstancia particular. Normalmente, el aclareo químico precede a un ajuste del número de frutos final, mediante un aclareo manual después de la caída fisiológica de frutos que tiene lugar en junio.

El aclareo químico está indicado, sobre todo, para las variedades autofértiles con excesiva producción.

### **Malas hierbas**

En algunos casos se mantiene una invasión permanente de hierba adventicia omitiendo todo laboreo o practicando una labor de limpieza total a finales de invierno. En las tierras muy ligeras o franco-arenosas y en climas muy templados y hasta calurosos, una vegetación herbácea en verano favorecerá más a las raíces del manzano que un suelo limpio de toda hierba adventicia. En climas fríos se aconseja mantener el suelo limpio de malas hierbas. En climas de atmósfera húmeda, una vegetación herbácea atraerá la humedad y favorecerá la invasión de enfermedades fúngicas. En el cuadro 4 se muestra la dosis aplicada de cada una de las materias activas y la presentación del producto.

Cuadro 4. Control químico sobre malas hierbas anuales

Materia activa	Dosis	Presentación del producto
Diuron 28.5% + Terbutilazina 28.5%	4-8 l/ha	Suspensión concentrada
Terbacilo 80%	2-4 l/ha	Polvo mojable

Fuente: Penelo, 2013.

Cuando los árboles son muy jóvenes pueden resultar dañados por la acción de los herbicidas de contacto o sistémicos, por lo que es preferible dar labores mecánicas al terreno con arado, cultivador grada y trabajar cuidadosamente con la azada alrededor del plantón (SAGARPA-UNIFRUT, 2013).

### **2.9.5 COSECHA**

Las manzanas se recolectan entre septiembre y octubre, exceptuando las variedades más precoces que se recogen en julio y agosto. La recogida del fruto depende del destino final de la fruta.

Si se destina al mercado en fresco, el fruto debe recogerse en pleno día, exento de toda humedad y con el máximo cuidado para que no reciba ningún golpe.

Si se recoge un tanto verde y no puede ser colocado en el mercado, algunas variedades son muy sensibles al arrugado de la piel y a la pérdida de peso.

En la recolección mecanizada se emplean máquinas automáticas que pasan entre las líneas de plantación, estas provocan vibraciones intensas que hacen desprenderse los frutos, los cuales caen en unas plataformas o bandejas situadas en la parte inferior y lateral de las máquinas. Otro sistema más económico consiste en un bastidor de lona provisto de ruedas, el cual se empuja a mano y por medio del aparato eléctrico provocan las sacudidas a los árboles (SAGARPA-UNIFRUT, 2013).

### **2.10 COMPOSICION NUTRICIONAL**

La manzana es una fruta muy completa. Estas son algunas de sus propiedades:

- Alto contenido en fibras.
- Es una fruta muy rica en antioxidantes.
- Contiene vitaminas del grupo B y C.
- Rica en minerales como el fósforo, potasio o calcio.

- Presencia de ácido málico y ácido tartárico.
- Facilita la digestión de alimentos ricos en grasas.
- Ayuda a cuidar los dientes y las encías.
- Importante acción reguladora del intestino.
- Ayuda a evitar el estreñimiento (cuando es cocida).
- Purifica el cuerpo ya que es antioxidante.

Gracias a sus propiedades, las manzanas permiten prevenir niveles altos de colesterol, enfermedades del corazón y accidentes cerebrovasculares. Combaten la falta de apetito, el cansancio y el nerviosismo gracias a su contenido en vitamina B12. Además, hacen más fácil la digestión, protegen las membranas de la boca y del intestino. Ayudan a disminuir la glucemia y por lo tanto la diabetes. Son además muy buenas para mejorar la memoria y activar las funciones cerebrales gracias a su alto contenido en fósforo.

Otros datos:

- La piel de la manzana tiene propiedades anti-tumorales.
- El zumo de manzana contribuye a bajar la fiebre.

Valor nutricional (cantidad 100 g):

- Calorías: 52
- Grasas totales: 0,2 g
- Colesterol: 0 mg
- Sodio: 1 mg
- Potasio: 107 mg
- Hidratos de carbono: 14 g
- Proteínas: 0,3 g

(Penelo, 2018).

### **2.10.1 CONDICIONES ÓPTIMAS DE ALMACENAMIENTO**

La finalidad del proceso de almacenamiento de frutas y hortalizas es prolongar su vida útil, utilidad y conservar su calidad comercial; sirve también como un control en la comercialización de las mismas, equilibrando la oferta y la demanda.

La vida de almacén puede prolongarse mediante tratamientos, como el control de enfermedades de postcosecha, regulación de la atmosfera, tratamientos químicos irradiación y la refrigeración, siendo esta ultima la que mejores resultados ha presentado en tiempos y calidad de frutas y hortalizas almacenadas.

La temperatura de almacenamiento es el factor ambiental más importante del proceso, debido a que regula la tasa de todos los procesos fisiológicos y bioquímicos asociados con dicho fenómeno.

La respiración en los productos biológicos, definida como el proceso por el cual los organismos vivos convierten materia en energía y la cual puede expresarse como una tasa respiratoria ( $\text{mg CO}_2 / \text{kg-hr}$ ), es el parámetro determinante, como índice de almacenamiento, ya que a altas tasas respiratorias la vida de almacenamiento se reduce y viceversa; la tasa de respiración se ve incrementada a medida que aumenta la temperatura y esta a su vez se incrementa a medida que aumenta la respiración. Como se muestra en el cuadro 5, en las características de almacenamiento.

Cuando el proceso de almacenamiento se realiza con productos empacados debe tenerse en cuenta este factor, y las características físicas y térmicas de los materiales de los empaques presentan condiciones diferentes de almacenamiento (Coronado, 2007).

Cuadro 5. Características de almacenamiento.

Golden Delicious	0 - 4 °C	90 - 95	Primer mes 4 % CO2 1,3% O2 Después 1-1,2 % O2 4 % CO2	3 meses (solo refrig.) 10 meses (ULO o DCA)
Golden Delicious: la conservación en AC es ideal para la Golden Delicious. Sensible al pardeamiento, reduciéndose este en condiciones ULO.				

Fuente: Melián, 2015.

## 2.10.2 SISTEMA DE ENVASADO Y EMBALAJE

### 2.10.2.1 ENVASADO

El envase es el contenedor que está en contacto directo con el producto mismo. Su función es guardar, proteger, conservar e identificar el producto, también facilita su manejo y comercialización.

### 2.10.2.2 EMBALAJE

Es la cobertura que da mayor protección y poder de manipulación de las mercancías envasadas. Su función es perfeccionar las condiciones para el almacenamiento, transporte y llegada a destino de los productos en óptimo estado. Habitualmente se dice que el embalaje es “el envase del envase”.

#### 2.10.2.2.1 CLASIFICACIÓN

- Embalaje manual: Se suelen usar en almacenes pequeños y a mano.
- Embalaje mecanizado: Se suelen usar en grandes almacenes y con maquinarias.
- Embalaje de una sola copa: Producto de precios elevados y buena calidad.
- Embalaje de copa múltiple: Se clasifican por el tamaño del producto.

### **2.10.2.3 TIPOS DE ENVASE**

Por su relación con el producto a envasar, se clasifican en:

- Envase primario: Es el que está en contacto directo con el producto, casi siempre permanece en él hasta su consumo.
- Envase secundario: Es el que contiene el o los envases primarios, más todos los accesorios de embalaje.
- Envase terciario (de transporte): Es el utilizado para agrupar, manipular, almacenar y trasladar los productos. Contiene tanto envases primarios como secundarios.

### **2.10.2.4 ENVASADO DE LA MANZANA**

Ordenar las características para saber a qué categoría pertenecen las manzanas como calidad superior, superficie coloreada, calidad corriente, sin deterioro en la epidermis, pedúnculo ligeramente dañado, pedúnculo intacto, buena calidad, enteras, limpias (prácticamente exentas de plagas y daños debidos a las mismas), desprovistas de humedad exterior anormal, desprovistas de olores y de sabores extraños, cogidas cuidadosamente y sanas.

Las manzanas deben haber alcanzado el grado de desarrollo que les permita:

Alcanzar el grado de madurez adecuad, soportar el transporte y la manipulación y llegar en condiciones satisfactorias al lugar de destino.

### **2.10.2.5 SISTEMA DE ENVASADO**

Tipo de envasado para productos frescos mínimamente procesados:

- Envasado unitario: Destinado al consumidor final (bolsas de plástico cerradas, bandejas recubiertas de plásticos).
- Envasado de transporte: Para facilitar la manipulación manual y envasar cantidades fijas de producto (cajas de cartón).
- Envasado de unidades de carga: El empleo de pallet con el fin de reducir los costes de manipulación.



## Almacenes y equipos de embalaje

- Almacenes
- Equipos de embalaje
- Equipo adicional

### **2.10.2.6 DAÑOS SUFRIDOS EN EL EMBALAJE Y ENVASADO**

- Cortes, perforaciones, golpes, etc. Provocando pérdida de hidratación y deterioro del producto.
- Las condiciones ambientales también le afectan ya que deben estar refrigerados. Al que se refrigeran excesivamente puede reducir la congelación.
- Por contaminación química para el tratado de envase o por presencia de moho en las cajas de madera podridas (Melián, 2015).

## CAPITULO III

### METODOLOGÍA

La etapa experimental del presente trabajo se efectuó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en el Laboratorio 1 del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

#### 3.1 MATERIALES

- |                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| 1. Manzana Golden                     | 11. Vasos de precipitado Pyrex de 600 mL |
| 2. Agitadores magnéticos              | 12. Gradilla                             |
| 3. Cajas Petri desechables            | 13. Tubos de ensaye                      |
| 4. Espátulas                          | 14. Frascos                              |
| 5. Guantes de látex                   | 15. Probeta de 100 y 500 MI              |
| 6. Matraz Erelnmeyer Kimax de 1000 mL | 16. Perilla                              |
| 7. Micropipeta                        | 17. Tapones de tela                      |
| 8. Pipetas Kimax de 10 mL             | 18. Papel estroza                        |
| 9. Puntillas para micropipeta         | 19. Cajas de acrílico                    |
| 10. Termómetro                        |  |

### **3.2 EQUIPOS**

1. Cortador de papa
2. Balanza analítica Scout Pro
3. Balanza analítica Rhino The Toughest Machinery
4. Licuadora Osterizer
5. Mechero Fisher
6. Refrigerador
7. Parrillas de calentamiento (Lab Companion y SH-2 MAGNETIC STIRRER)
8. Autoclave ALL AMERICAN
9. Incubadoras

### **3.3 REACTIVOS**

1. Aceite esencial de canela
2. Goma Guar (GG)
3. Ácido cítrico monohidratado
4. Glicerol (GLY)
5. Chitosan, from crab Shells
6. Almidón, Fécula de Maíz
7. Peptona de Caseína
8. Agar Dextrosa y Papa (PDA)
9. Agar para métodos estándar (STD)
10. Tween

### **3.4 ETAPA EXPERIMENTAL 1. ELABORACION DE TRES FORMULACIONES DE BIORECUBRIMIENTOS FUNCIONALES**

#### **3.4.1 PREPARACION DE FORMULACIÓN A: COMPUESTA DE GG, ALMIDÓN DE MAÍZ Y ACEITE DE CANELA.**

Se preparó la formulación A compuesta por 1.5% de Glicerol (Gly), se agitó posteriormente se agregó la Goma Guar (GG) y el aceite de canela hasta disolver completamente. Una vez teniendo la mezcla se agregó el almidón. En la figura 1 se muestra la elaboración de la formulación A en la parrilla de calentamiento y agitación.

Ya preparada la formulación A, se aplicó a la manzana mínimamente procesada.



Figura 1. Elaboración formulación A

#### **3.4.2 FORMULACIÓN B: GOMA GUAR, GLICEROL Y ACEITE DE CANELA.**

Se preparó a formulación B agregando 30% de Glicerol (Gly), tween y aceite de canela, manteniendo en agitación a 3,000 rpm aproximadamente, hasta su completa disolución.

Ya completamente disuelto se agregó la Goma Guar (GG) con agitación constante como se muestra en a figura 2.



Figura 2. Elaboración formulación B

### 3.4.3 FORMULACIÓN C: CHITOSANO, ÁCIDO CÍTRICO Y ACEITE DE CANELA.

La formulación C se preparó con chitosano al 1%, ácido cítrico al 1% y con aceite de canela.

En la figura 3 se muestran las tres formulaciones.



Figura 3. Formulaciones A, B y C.

### 3.5 ETAPA EXPERIMENTAL 2. APLICACIÓN DEL ESCALDADO DE MANZANA GOLDEN

Las manzanas Golden se lavaron y desinfectaron. Se dejaron secar a medio ambiente. En la figura 4 se muestra la manzana ya desinfectada.



Figura 4. Manzana Golden desinfectada.

Se hicieron cortes de aproximadamente 1x5 cm formando pequeños rectángulos.

Una vez cortada la manzana, se eligieron los rectángulos más uniformes y que no contengan cascara, figura 5.



Figura 5. Manzana mínimamente procesada

Después de haber realizado los cortes de manzana se introdujeron en agua a 80°C por un tiempo de 2 minutos, se retiraron y se escurrieron.

Posteriormente se les aplicaron los diferentes recubrimientos.

### **3.6 ETAPA EXPERIMENTAL 3. APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS**

La manzana mínimamente procesada se sumerge durante 1 minuto hasta estar completamente cubierta del recubrimiento y se dejan secar a temperatura ambiente para posteriormente ponerlas en cajas de acrílico a temperatura de refrigeración (11°C) para su posterior análisis.

#### **3.6.1 CONTROL**

La manzana mínimamente procesada y escaldada se dejó remojar en agua destilada como se muestra en la figura 6.



Figura 6. Manzana sumergida en agua destilada

### 3.6.2 FORMULACIÓN A: GG + ALMIDÓN + ACEITE DE CANELA

En la figura 7 se muestra como fue sumergida la manzana en la FA.



Figura 7. Manzana sumergida en formulación A

### 3.6.3 FORMULACIÓN B: GG + GLICEROL + ACEITE DE CANELA

En la figura 8 se muestra cómo se sumergió la manzana en la FB y su posterior escurrimiento.



Figura 8. Manzana sumergida en formulación B



### 3.6.4 FORMULACIÓN C: CHITOSANO + ÁCIDO CÍTRICO Y ACEITE DE CANELA

En la figura 9 se muestra la aplicación de la FC en la manzana.



Figura 9. Manzana sumergida en formulación C

Por último en la figura 10 se muestran las tres formulaciones y el control en las cajas de acrílico para su posterior refrigeración.



Figura 10. Manzana en cajas de acrílico para refrigeración.

### 3.7 ETAPA EXPERIMENTAL 4. EVALUACION MICROBIOLÓGICA DE LA MANZANA MÍNIMAMENTE PROCESADA

Se realizó la evaluación microbiológica de la manzana mínimamente procesada y con tres formulaciones de biorecubrimientos funcionales se agregó a) combinada de GG (Goma Guar) y almidón de maíz con aceite de canela, b) GG (Goma Guar), Gly (Glicerol) y aceite de canela y c) Chitosano, ácido cítrico y aceite de canela y teniendo un control en agua destilada.

Los tratamientos se almacenaron durante 20 días a una temperatura de 11°C (refrigeración) siguiendo el procedimiento descrito por Jo et al., (2014) y Cordova (2016). Las muestras de manzanas Golden se evaluaron microbiológicamente por triplicado de cada tratamiento.

Se prepararon los medios de cultivo PDA (Agar Papa Dextrosa) y STD (Agar para Métodos Estándar), así como también se preparó agua peptonada (Peptona de caseína) lo cual correspondía a 95 mL por 4 frascos y 9 mL por 19 tubos de ensayo para preparar la muestra y hacer las respectivas diluciones, lo anterior se esterilizó junto con el material a utilizar tales como agua y puntillas de plástico. En la figura 11 se observan los medios de cultivo utilizados.



Figura 11. Medios de cultivo Peptona de caseína, PDA y STD.

En la figura 12 se muestra la elaboración de los medios de cultivo, en la figura 13 la peptona de caseína y por último en la figura 14 la autoclave en la cual fueron esterilizados cada uno de los medios.



Figura 12. Elaboración de medios.



Figura 13. Peptona de caseína.



Figura 14. Autoclave para esterilización

Ya esterilizados los medios se desinfectó el área con un desinfectante antibacterial y se colocaron mecheros en los extremos para mantener el área más desinfectada. Se vaciaron los medios en las cajas Petri y se dejaron enfriar (figura 15), posteriormente se marcaron las cajas con las siglas del medio y de acuerdo a cada tratamiento y disolución (diluciones -1, -2, -3, -4, -5).



Figura 15. Vaciado de agares en cajas Petri

Una vez teniendo los materiales listos para trabajar, las muestras de manzana refrigeradas y puestas en cajas de acrílico, se sometieron a un proceso de homogenizado el cual consiste en tomar 10 g de muestra (figura 16), se homogenizaron en agua peptonada utilizando un procesador de Master chef durante 1.5 minutos (figura 17). Con las muestras homogenizadas se realizaron una serie de diluciones para la cuenta microbiana (figura 18).



Figura 16. Pesado de 10 g de muestra.



Figura 17. Homogenizado de muestra en licuadora Osterizer



Figura 18. Muestras homogenizadas de cada uno de los tratamientos.

Se hicieron las diluciones para la cuenta microbiana como se muestra en la figura 19. Se sembraron en las cajas Petri (por barrido con un ángulo) (figura 24), la población de bacterias aeróbicas totales se contabilizará con el agar

cuenta total y las cajas Petri se incubaron a 37°C durante 48 horas. Para la población de hongos y levaduras se utilizó el medio Agar Papa Dextrosa (PDA) y las cajas Petri se incubaron a 25°C por 72 horas. La cuenta microbiana se expresó como log CFU/g.

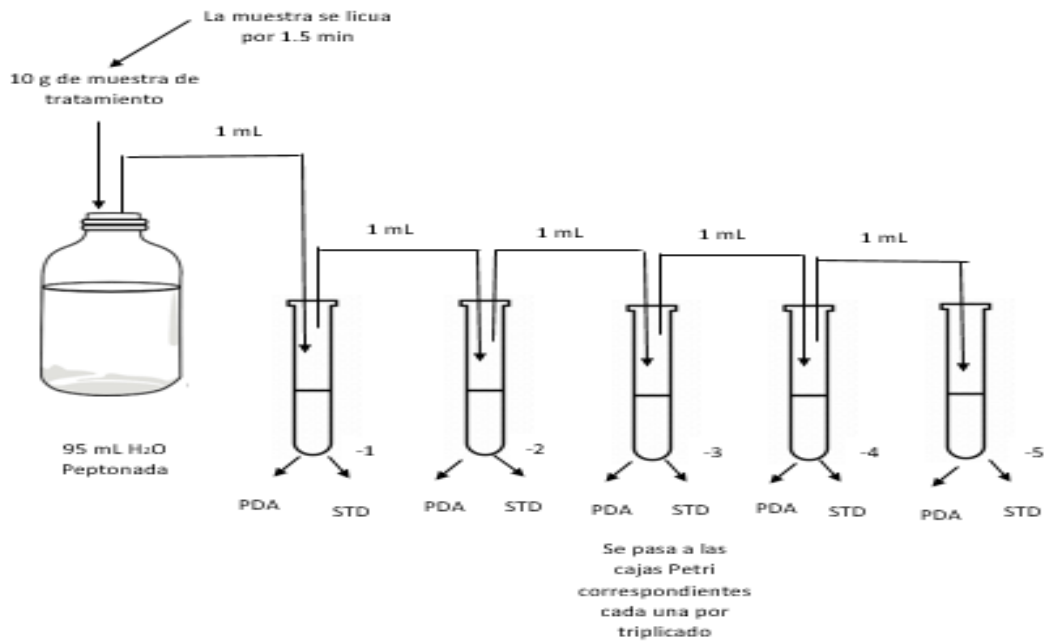


Figura 19. Preparación de diluciones



Figura 20. Sembrado en cajas Petri

## **CAPITULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **4.1 ETAPA EXPERIMENTAL 1. ELABORACION DE TRES FORMULACIONES DE BIORECUBRIMIENTOS FUNCIONALES**

##### **4.1.1 PREPARACION**

Los biorecubrimientos se obtuvieron utilizando 0.5% w/v de Goma Guar, 2.0% de Almidón de Maíz, 30% de Glicerol y variando la concentración del aceite de canela como antimicrobiano (al 10% checar intensidad de sabor), (2000 ppm= 2000mg/L o mL/L).

El haber añadido aceite esencial de canela a las formulaciones hizo que actuara como excelente antimicrobiano ya que redujo el crecimiento de microorganismos en la manzana Golden mínimamente procesada.

#### **4.2 ETAPA EXPERIMENTAL 2. APLICACIÓN DE ESCALDADO EN LA MANZANA GOLDEN.**

El escaldado se llevó a cabo gracias a que es una técnica sencilla que consiste en la cocción de los alimentos en agua o líquido hirviendo durante un periodo breve de tiempo, en este caso 2 minutos a 80°C.

Esta técnica es una etapa empleada en las industrias alimentarias, por lo cual sirvió para la inactivación de enzimas que producen la oxidación que es llevada a cabo por el oxígeno del aire, esto se realiza como etapa previa a procesos de refrigeración y/o congelación.

### **4.3 ETAPA EXPERIMENTAL 3. APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS**

La aplicación de recubrimientos comestibles es mejorar la apariencia, se utilizan para impedir la difusión del oxígeno o de vapor de agua que inicia la corrosión u oxidación.

Lo anterior es semejante a lo que menciona McHugh (2000) que los recubrimientos actúan como barrera contra la estabilidad química y microbiológica. Y con Salinas Salazar (2015) ya que también los recubrimientos sirven para la conservación de productos hortofrutícolas, retrasar el envejecimiento y mejorar la calidad.

### **4.4 ETAPA EXPERIMENTAL 4. EVALUACION MICROBIOLÓGICA DE LA MANZANA MÍNIMAMENTE PROCESADA**

Los resultados se analizaron con el paquete estadístico InfoStat versión: 2018I, aplicando un análisis de varianza y en caso de existir diferencia significativa se realizó la prueba de Fisher para comparación de medias.

La evaluación microbiológica se realizó cada 5 días por 20 días.

De acuerdo al análisis estadístico se seleccionó la dilución  $10^{-2}$ , ya que se vio un mejor comportamiento de los datos.

El análisis estadístico demostró que si hubo diferencias significativas a una  $P > 0.05$ , tanto en bacterias mesófitas como en hongos y levaduras.

En el estudio de medias por días de bacterias mesófitas, los días 1 al 5 al 15 no tuvieron diferencia significativa con una  $P > 0.05$  para el desarrollo de microorganismos, con medias 5.1 UFC/mg, 5.1 UFC/mg y 17141.67 UFC/mg, respectivamente.

Y en los días 10 y 20 si hubo diferencia significativa con una  $P > 0.05$  con medias de 66250.00 UFC/mg y 199166.67 UFC/mg, respectivamente, como se observa en la gráfica (Figura 21).

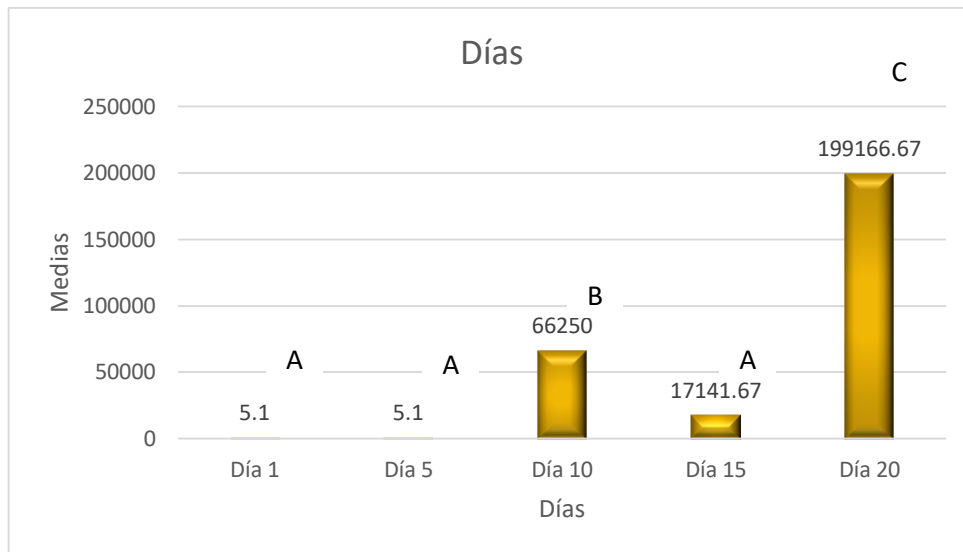


Figura 21. Análisis de medias por días de bacterias mesófilas

En cambio, con las muestras CTR (Control) y FB, se encontró que son similares con una  $P < 0.05$  y con medias de 59200.00 UFC/mg y 51846.67 UFC/mg. Y la muestra de FC y FA son significativamente diferentes con una  $P > 0.05$  y con medias de 43566.67 UFC/mg y 71433.33 UFC/mg, respectivamente. Los resultados del experimento demostraron que en la muestra de FC hubo menos crecimiento de microorganismos y en FA se observó un mayor crecimiento. Como se muestra en la gráfica (figura 22).



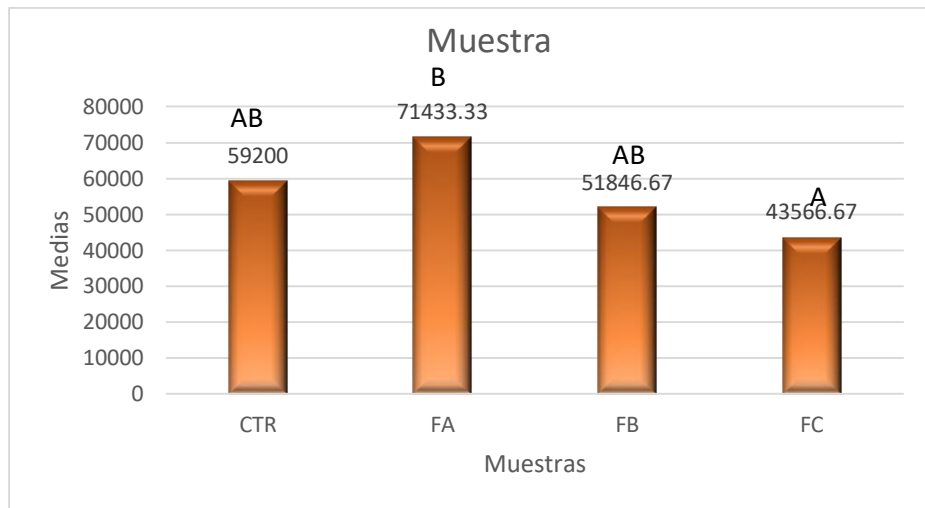


Figura 22. Análisis de medias por muestra de mesófilos

Para los hongos y levaduras, si hubo diferencia significativa tanto en los días como en las muestras con una  $P < 0.05$ .

De acuerdo a los días, 1, 5 y 10 no hubo una diferencia significativa para el desarrollo de hongos y levaduras, con una media de 0.00 UFC/mg, 0.00 UFC/mg y 25.00 UFC/mg, respectivamente. Por el contrario, el día 15 se observó similar a los días 1, 5, 10 teniendo una media de 59.17 UFC/mg y observando una diferencia significativa con el día 20 con una  $P < 0.05$  y con una media de 142.50 UFC/mg. Como se muestra en la gráfica (figura 23).

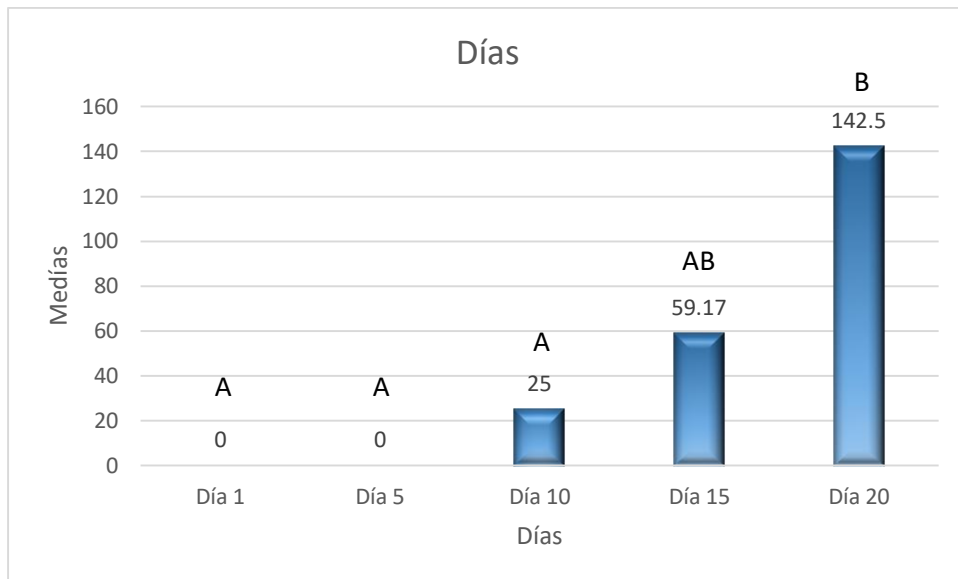


Figura 23. Análisis de medias por días para hongos y levaduras

En cuanto a las muestras (CTR, FA, FB, FC), si hubo una diferencia significativa en el CTR (control) con una  $P < 0.05$  y con una media de 180.00 UFC/mg ya que hubo mayor crecimiento de hongos y levaduras.

En cambio, en las muestras FC, FA y FB no hubo diferencia significativa a una  $P > 0.05$  y con unas medias de 0.00 UFC/mg, 0.67UFC/mg, respectivamente.

Observando que las muestras de FC fue la mejor formulación ya que no se presentó crecimiento de hongos y levaduras. Como se muestra en la gráfica (figura 24).

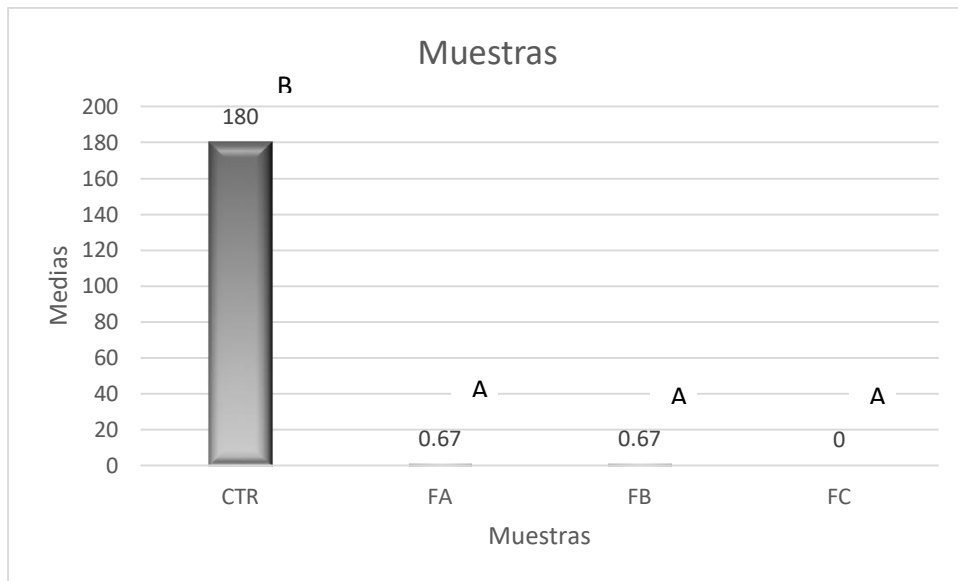


Figura 24. Análisis de medias por muestra de hongos y levaduras

En el cuadro 6 se presentan los resultados concentrados del análisis microbiológico.

En el cuadro 6. Resultados concentrados del análisis microbiológico.

Formulaciones	Medias Fisher	
	Bacterias mesófilas aerobias UFC/mg	Hongos y levaduras UFC/mg
CTR (Control)	59200.00 AB	180.00 B
FA	71433.33 B	0.67 A
FB	51846.67 AB	0.67 A
FC	43566.77 A	0.00 A

Los valores son las medias de Fisher de los resultados de la evaluación microbiológica. Las letras iguales en la misma indican que no hubo diferencias significativas estadísticamente ( $P > 0.05$ ).

De acuerdo con la evaluación comparativa de la calidad microbiológica de los biorecubrimientos funcionales en manzana Golden mínimamente procesada, se consideró que el mejor biorecubrimiento de acuerdo con los resultados obtenidos es la formulación C, ya que presenta menor crecimiento tanto de mesófilos como de hongos y levaduras lo cual presenta una vida de anaquel de 10 días.

En la figura 25 se muestran cada una de las formulaciones a los 10 días de almacenamiento.



Figura 25. Cambio en las muestras de manzana Golden con los diferentes biorecubrimientos a los 10 días de almacenamiento.

Cabe mencionar que un recuento de bacterias mesófilas refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima y la calidad del alimento (Coronado, 2007).

Y para ello se realizó un conteo de bacterias mesófilas para cada formulación y/o recubrimiento tomando en cuenta el tiempo de almacenamiento y la adecuada manipulación higiénica de la manzana Golden.

En las figuras 26 y 27 se observa que hubo mayor concentración de microorganismos en el Control (CTR) y en la formulación A, tanto para mesófilos como para hongos y levaduras.

Lo anterior es semejante a lo que menciona Adier (2010) ya que dice que la FC tiene propiedades tales como biodegradabilidad y en especial propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Estos aspectos lo hacen de vital interés para la preservación de alimentos.

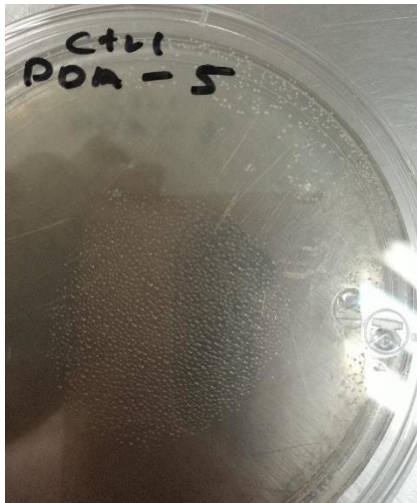


Figura 26. Control con crecimiento de hongos y levaduras.



Figura 27. Formulación A con crecimiento de hongos y levaduras

## **V. CONCLUSIONES**

Se evaluó la calidad microbiológica comparativa de biorecubrimientos en manzana Golden mínimamente procesada en las formulaciones: CTR (Control), FA: GG+Alm+Gly (Goma Guar + Almidon +Glicerol + Aceite Esencial de Canela), FB: GG + Gly (Goma Guar + Glicerol + Aceite Esencial de Canela) y FC: Chitosano (Chitosano + Ácido Cítrico + Aceite Esencial de Canela), obteniendo mejores resultados en la FC aplicada en la manzana Golden mínimamente procesada ya que disminuye el crecimiento de microorganismos, siendo eficiente para la conservación de la calidad microbiana del producto durante su vida de anaquel.

## V.I BIBLIOGRAFIA

- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *Food science and technology*.43., 837 – 842. .
- Aranda, G. L. (2017). “GLICEROL: SÍNTESIS Y APLICACIONES” . *TRABAJO DE FIN DE MÁSTER* , 6-9.
- Arredondo-Ochoa, T. (2012). Diseño de empaques comestibles activos a base de almidón modificado para su posible aplicación en alimentos en fresco (Tesis Maestría). 1-82.
- Arvanitoyannis, I. P. (1997). Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols, Part 3. . *Food Chemistry*. 60 (4)., 593 – 604. .
- Ávila-Sosa, R. P.-M. (2012). Antifúngica actividad por contacto de vapor de aceites esenciales añadidos al amaranto, quitosano, o películas comestibles de almidón. *Revista Internacional de Microbiología de Alimentos*, 66-72.
- Baratta, T. D. (1998). Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *Journal of Essential Oil Research*., 618-627.
- Bosquez, M. V. (2000). Películas y Cubiertas Comestibles para la Conservación en Fresco de Frutas y Hortalizas. . *Industria Alimentaria*. 22(1), 14-29, 32-36.
- Burt. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food. *International Journal of Food Microbiology*., 94:223-253.
- Burt, S. A. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. . *International Journal of Food Microbiology*. , 223-253.
- Cagri, A. U. (2004). Películas comestibles antimicrobianas. *Journal of Food Protection*, 67 (4), 833-848.
- Camacho A, G. M. (2014). Agar cuenta estándar: fundamento, preparación y usos. *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. 2ª ed. *Facultad de Química, UNAM. México*. . Obtenido de Agar cuenta estándar: fundamento, preparación y usos: <https://www.lifeder.com/agar-cuenta-estandar/>

- Carmona Gallego, J. A. (2007). Influencia del pH y de la fuerza. *Grasas y aceites*, 289-296.
- Carneiro-da-Cunha, M. G. (2009). Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Journal of Food Engineering*. 95., 379 – 385. .
- Castillo, S. N.-R. (2010). .Antifungal efficiency of Aloe vera in vitro and its use as a preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. . *Postharvest Biology and technology*.57, 183 – 188.
- Cordova, L. A. (2016). “Influencia de la Calidad Microbiológica y Sensorial de un Biorecubrimiento Funcional a base de Goma Guar y Aceite de Oliva sobre la Vida de Anaquel de Guayaba”. *Tesis. Saltillo, Coahuila, México*.
- Coronado, A. P. (2007). Técnicas de Almacenamiento y Conservación de Frutas y Hortalizas. *Facultad de Ingeniería Universidad Nacional de Colombia, Bogota D.C.*, 1-2.
- Dorman, H. a. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*., 308-316.
- Escobar, D. S. (2009). Películas biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo: estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador. *Revista del Laboratorio tecnológico del Uruguay*, 33-36.
- Falguera, V. J. (2011). Edible films and coatings: structures , active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*, 292-303.
- Guilbert, S. G. (1996). Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. . *Lebensmittel Wissenschaft und Technology*, 29, 10 – 17.
- Hernández, M. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, 93-118.
- Jaworek, A. T. (2008). Ruta de pulverización electrostática a nanotecnología: una visión general. *Revista de electrostática*, 197-219.
- Kester, J. y. (47-59.). Edible Films and Coatings. *A Review. Food Technol.*, 1986.
- Krochta, J. M.-C. (1994). Recubrimientos y películas comestibles para mejorar la calidad de los alimentos. *Florida, Estados Unidos de América: CRC Press*.



- Lemoine, M. L. (2007). Influence of postharvest UV-C Treatment on Refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. (87)6, 1132-1139.
- Lima, A. M. (2010). New edible coatings composed of galactomannans and collagen blends to improve the postharvest quality of fruits – Influence on fruits gas transfer rate. *Journal of Food Engineering*. 97, 101-109.
- López Malo, A. A. (2005). Naturally occurring compounds Plant sources. *Antimicrobials in food*., 429-451.
- Man, D. (2008). *Discoverer' of Golden Delicious Apple*.
- Martínez-M., A. (2003). Aceites esenciales. Facultad química farmacéutica. Medellín,.
- McHugh, T. H. (2000). Interacciones proteína-lípidos en películas comestibles y revestimientos. *Nahrung*, 148-151.
- Melián, S. M. (9 de Marzo de 2015). *Envasado y Embalaje de la manzana*. Obtenido de Envasado y Embalaje de la manzana: <https://prezi.com/rt1s682j7xnt/envasado-y-embalaje-de-la-manzana/>
- Miranda, L. S. (2013). Determinación de compuestos funcionales en Canela (*Cinnamomum zelanicum?* Tesis, 16-17.
- Molina, B. (2003). “Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka).”. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa. México.
- Monroy-Villagrana, A. C.-S.-B. (2014). Optimización acoplada de taguchi-rsm de las condiciones para emulsionar  $\alpha$ -tocoferol en una goma maltodextrina árabe matriz por microfluidización. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 679-688.
- Moreno, B. V. (2000). Microorganismos de los alimentos. . *Acribia* S.A. Zaragoza, España., 13-14 p.
- Murray, P. E. (1995). American Society for Microbiology, Washington, D.C. *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. .
- Padrón, M. B. (2010). Componentes químicos con actividad bactericida, fungicida y citotóxica de plantas de la familia myrtaceae y lauraceae.

*Tesis, universidad autónoma de nuevo león facultad de ciencias biológicas, 8-9.*

- Pasquel, A. (2001). Gomas: Una aproximación a la industria de alimentos. *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 3.
- Penelo, L. (11 de Junio de 2018). *lavanguardia.com*. Obtenido de Manzana: Tipos, propiedades y su valor nutricional: <https://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20180611/444212284842/fruta-manzana-propiedades.html>
- Ramírez, O. (2013). Antifungal protection and antioxidant enhancement of table grapes treated with emulsions, vapors, and coatings of cinnamon leaf oil. *Postharvest Biology and Technology*., 321-328.
- Ramos-García,(2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28: 4457.
- Ramos-García,(2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28 (1), 44 – 57.
- Ratón, T. d. (2004). Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Revista Cubana de Salud Pública*.
- Roberts, H. W. (5 de 06 de 2015). Microorganismos de los alimentos. *Técnicas de análisis microbiológico. Vol. 1*. Obtenido de Microbiología de los alimentos: [https://www.ecured.cu/Microbiolog%C3%ADa\\_de\\_los\\_alimentos](https://www.ecured.cu/Microbiolog%C3%ADa_de_los_alimentos)
- Roblero, M. M. (2014). Generalidades y aplicacion de peliculas y recubrimientos comestibles en la cadena hortofrutícola. *Tesis Licenciatura. Saltillo Coahuila, México*.
- Rodriguez-Garcia, I. (2013). Aceite esencial de orégano adicionado a recubrimientos de pectina como tratamiento antifúngico, antioxidante y saborizante en frutos de tomate. *Master. Maestría en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Hermosillo, Sonora, México*.
- Rosas-Gallo, A. y.-M. (2011). Actividad antimicrobiana de aceite esencial de tomillo. Departamento de ingeniería química, alimentos y ambiental,

fundación Universidad de las Américas, Puebla. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 41-50.

SAGARPA-UNIFRUT. ( 7 de Septiembre de 2013). *Estudio de infraestructura logística para la manzana*. Obtenido de Estudio de infraestructura logística para la manzana: [www.sagarpa.org.mx](http://www.sagarpa.org.mx).

Salinas Salazar, V. M. (2015). Propiedades físicas, mecánicas y de barrera de películas comestibles a base de mucílago de Nopal como alternativa para la aplicación en frutos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 193-198.

Sharma, S. y. (2015). Recubrimiento comestible a base de goma xantana enriquecido con ácido cinámico previene el dorado y se extiende la vida útil de las peras recién cortadas. *LWT-Food Science y tecnología*, 791-800.

Villegas, C. (2016). Aplicación y efecto de un recubrimiento comestible sobre la vida útil de la mora de castilla (*rubus glaucus benth*). *Vitae, revista de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, 202-203.

Zambrano, P. (9 de Octubre de 2017). [naturaleza.paradais-sphynx.com](http://naturaleza.paradais-sphynx.com). Obtenido de Manzana: características, propiedades y tipos. Manzano árbol, su cultivo: <https://naturaleza.paradais-sphynx.com/plantas/tipos-de-frutas/manzana-propiedades-tipos-manzano-arbol.htm>

## ANEXOS

### Hongos y levaduras

Nueva tabla : 10/7/2019 - 1:08:31 AM - [Versión : 9/20/2018]

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
UFC	60	0.49	0.42	229.79

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	532583.33	7	76083.33	7.01	<0.0001
DIA	169876.67	4	42469.17	3.91	0.0075
MUESTRA	362706.67	3	120902.22	11.14	<0.0001
Error	564310.00	52	10852.12		
Total	1096893.33	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=85.33996

Error: 10852.1154 gl: 52

DIA Medias n E.E.

5	0.00	12	30.07	A
1	0.00	12	30.07	A
10	25.00	12	30.07	A
15	59.17	12	30.07	A B
20	142.50	12	30.07	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=76.33038

Error: 10852.1154 gl: 52

MUESTRA Medias n E.E.

CHITOSANO	0.00	15	26.90	A
GG+ALM+GLY	0.67	15	26.90	A
GG+GLY	0.67	15	26.90	A
CTR	180.00	15	26.90	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

## Bacterias mesófitas

Nueva tabla : 10/7/2019 - 12:11:20 AM - [Versión : 9/20/2018]

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
UFC	60	0.86	0.84	59.43

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	346877293833.33	7	49553899119.05	43.93	<0.0001
Día	340589016000.00	4	85147254000.00	75.49	<0.0001
Muestra	6288277833.33	3	2096092611.11	1.86	0.1482
Error	58655788000.00	52	1127995923.08		
Total	405533081833.33	59			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=27513.69945

Error: 1127995923.0769 gl: 52

Día	Medias	n	E.E.	
5	-5.1E-11	12	9695.34	A
1	-5.1E-11	12	9695.34	A
15	17141.67	12	9695.34	A
10	66250.00	12	9695.34	B
20	199166.67	12	9695.34	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=24609.00092

Error: 1127995923.0769 gl: 52

Muestra	Medias	n	E.E.	
CHITOSANO	43566.67	15	8671.78	A
GG+GLY	51846.67	15	8671.78	A B
CTR	59200.00	15	8671.78	A B
GG+ALM+GLY	71433.33	15	8671.78	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)