



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

“ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES
A BASE DE MUCÍLAGO DE NOPAL (*Opuntia spp.*) EN COMBINACIÓN CON
OTROS POLÍMEROS Y ADICIONADAS CON UN EXTRACTO ANTIFÚNGICO”

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

PRESENTA:

ING. BERNABÉ LAUREANO LÓPEZ



ENERO 2014

Chapingo, Estado de México



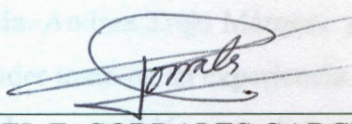
DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

**ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS
BIODEGRADABLES A BASE DE MUCÍLAGO DE NOPAL (*Opuntia* spp.) EN
COMBINACIÓN CON OTROS POLÍMEROS Y ADICIONADAS CON UN
EXTRACTO ANTIFÚNGICO**

Tesis realizada por **Bernabé Laureano López** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

DIRECTOR: _____


DR. J. JOEL E. CORRALES GARCÍA

ASESOR: _____


DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ

ASESOR: _____


DRA. MA. CARMEN YBARRA MONCADA

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico brindado para poder formarme en este grado de estudios.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por alojarme nuevamente en esta experiencia académica.

A los Doctores Joel Corrales García, Ma. Andrea Trejo Márquez y Ma. Carmen Ybarra Moncada, por haberme permitido aprender tanto de su experiencia como investigadores, pero también por su calidad humana de la que también aprendí demasiado.

A la Sra. Esperanza Salinas Banda 'Perita', por esa actitud de servicio y entrega en su trabajo pero siempre a la par de una actitud fraterna, ¡gracias por todo Perita!

A mis compañeros de posgrado, especialmente a Bety y a Rosy, a quienes considero como mis hermanas, por todos los momentos vividos, y los que nos faltan.

A todas las personas, que colaboraron en alguna parte de este trabajo.

DEDICATORIA

A mi familia, ellos representan todo para mí...

DATOS BIOGRÁFICOS

Bernabé Laureano López nació en Xicotepec de Juárez, Puebla, el 11 de junio de 1986. Realizó sus estudios de educación media superior en el Colegio de Bachilleres plantel 11, en el municipio de Xicotepec de Juárez, Puebla. Sus estudios profesionales los realizó en el Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Autónoma Chapingo, titulándose con la tesis “Elaboración de jocoque ‘escurrido’ probiótico”, con la que obtuvo el título de Ingeniero Agroindustrial en 2010. En agosto de 2011 inició sus estudios de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria de la Universidad Autónoma Chapingo, concluyendo su programa de estudios en julio de 2013.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	3
3. OBJETIVOS	4
3.1 Objetivo general	4
3.1.1 Objetivos particulares	4
4. HIPÓTESIS	6
5. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
5.1. Generalidades del nopal	7
5.1.1. Taxonomía, morfología y nomenclatura.....	8
5.1.2. Importancia económica.....	10
5.1.3. Usos del nopal.....	11
5.1.4. El mucílago de nopal	14
5.2. Películas y recubrimientos biodegradables	17
5.2.1. Definición e historia.....	17
5.2.2. Función y propiedades	18
5.2.2.1. Propiedades de barrera.	18
5.2.2.2. Propiedades mecánicas.....	19
5.2.2.3. Propiedades de transporte.	20
5.2.3. Materiales formadores de películas	20

5.2.4. Métodos de aplicación	22
5.3. Generalidades de la papaya	22
5.3.1. Papaya “Maradol”	23
5.3.2. Índice de cosecha	23
5.3.3. Pérdidas postcosecha de frutos de papaya	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.1. Secuencia metodológica	25
6.2. Desarrollo y caracterización de películas biodegradables.....	26
6.2.1. Material biológico.....	26
6.2.2. Extracción del mucílago	26
6.2.3. Formulación de las emulsiones biopoliméricas	27
6.2.4. Preparación del extracto de orégano	29
6.2.5. Cuantificación de Fenoles Totales	30
6.2.6. Caracterización de Películas Biodegradables	31
6.2.6.1. Propiedades fisicoquímicas.....	31
6.2.6.2. Propiedades físicas.....	31
6.2.6.3. Propiedades funcionales.....	32
6.2.6.4. Propiedades mecánicas.....	37
6.2.6.5. Estructura microscópica.....	37
6.3. Aplicación en frutos de papaya	38
6.3.1. Material biológico.....	38

6.3.2 Tratamiento de la muestra.....	38
6.3.3. Parámetros fisiológicos.....	39
6.3.3.1. Determinación de la tasa respiratoria.....	39
6.3.3.2. Determinación de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol).....	40
6.3.4. Parámetros de calidad	41
6.3.4.1. Color externo.....	41
6.3.4.2. Determinación de pérdida de peso.	42
6.3.4.3. Determinación de firmeza.	42
6.3.4.4. Determinación de sólidos solubles totales.	42
6.3.4.5. Determinación de pH.	42
6.3.4.6. Determinación de acidez titulable.....	42
6.4. Evaluación del efecto del extracto antifúngico sobre antracnosis en frutos de papaya (<i>Carica papaya</i> L.).....	43
6.4.1. Obtención de la solución de esporas de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	43
6.4.2. Inoculación en frutos de papaya	44
6.4.3. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto	44
6.4.4. Determinación del índice de decaimiento.....	44
6.5. Análisis estadístico	45
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
7.1. Aspecto de las emulsiones y de las películas	46
7.2. Caracterización de películas biodegradables.....	49

7.2.1. Propiedades fisicoquímicas.....	50
7.2.1.1. Viscosidad.....	50
7.2.2. Propiedades físicas.....	52
7.2.2.1 Color.....	52
7.2.3. Propiedades de barrera.....	58
7.2.3.1. Espesor.	58
7.2.3.2. Permeabilidad a vapor de agua.	59
7.2.3.3. Permeabilidad a gases (O ₂ y CO ₂).	62
7.2.4. Propiedades mecánicas (Esfuerzo de Tensión y Punción).....	64
7.2.5. Estructura microscópica.....	66
7.3. Aplicación de película biodegradable en papaya (Modelo Mixto)	69
7.3.1. Parámetros fisiológicos.....	70
7.3.1.1. Determinación de acetaldehído y etanol.	70
7.3.1.2. Determinación de la tasa respiratoria (CO ₂).	72
7.3.2. Determinación de parámetros de calidad.....	73
7.3.2.1. Color.....	73
7.3.2.2. Pérdida de peso.	75
7.3.2.3. Firmeza.....	77
7.3.2.4. Sólidos solubles totales.	79
7.3.2.5. pH.....	80
7.3.2.6. Acidez titulable.	82

7.3.3. Evaluación del efecto del extracto de orégano ‘antifúngico’ sobre antracnosis en frutos de papaya.	83
7.3.3.1. Índice de decaimiento	84
8. CONCLUSIONES	87
9. REFERENCIAS.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Volumen de producción (miles de toneladas) de las principales hortalizas cultivadas en México en 2012.....	10
Figura 2. Distribución por entidades federativas de la producción nacional de nopalitas en México para el año 2012	11
Figura 3. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales en términos de ácido gálico, por la técnica descrita por Waterman y Mole (1994)	31
Figura 4. Representación gráfica de la celda de ensayo para evaluar la permeabilidad al vapor de agua	35
Figura 5. Emulsiones a base de mucílago de nopal (<i>Opuntia ficus-indica</i> var. milpa alta) que resultaron estables	48
Figura 6. Representación gráfica de las medias de los tratamientos sobre la primera variable canónica.....	49
Figura 7. Viscosidad de diferentes emulsiones a base de mucílago de nopal y cera	51
Figura 8. Luminosidad de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal	53
Figura 9. Ángulo de tono (<i>hue</i>) de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal	54
Figura 10. Índice de cromaticidad de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal	56

Figura 11. Transparencia de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal.....	57
Figura 12. Espesor de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal.....	58
Figura 13. Permeabilidad a vapor de agua de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal	61
Figura 14. Permeabilidad al Oxígeno de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal	62
Figura 15. Permeabilidad al dióxido de carbono (PCO ₂) de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal	64
Figura 16. Evolución del contenido de etanol en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente	71
Figura 17. Evolución del contenido de acetaldehído en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente	72
Figura 18. Evolución de la tasa respiratoria en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente	73
Figura 19. Evolución del color de papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente	74

Figura 20. Evolución de la pérdida de peso (%) en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente	76
Figura 21. Evolución de la firmeza en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente	78
Figura 22. Evolución de los sólidos solubles totales (°Bx) en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente	79
Figura 23. Evolución del pH en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente.....	81
Figura 24. Evolución de la acidez titulable (mg de ácido cítrico/100 g de PF) en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente	82

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del nopal	10
Cuadro 2. Usos del nopal en las diferentes industrias existentes en México	13
Cuadro 3. Peso molecular, azúcares y ácido urónico en mucílago de <i>Opuntia ficus-indica</i>	16
Cuadro 4. Composición de emulsiones y películas biodegradables en la fase de exploración de formulaciones	29
Cuadro 5. Condiciones de temperatura de almacenamiento de cuatro tratamientos para evaluar el potencial de uso de un recubrimiento biodegradable a base de mucílago de nopal (<i>Opuntia ficus-indica</i>) y cera de abeja	39
Cuadro 6. Escala para la evaluación del índice de decaimiento	45
Cuadro 7. Evaluación visual del aspecto de nueve emulsiones a base de mucílago de nopal y cera	47
Cuadro 8. Esfuerzo de punción y esfuerzo de tensión de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal y de mucílago de nopal con cera (de abeja o carnauba)	65
Cuadro 9. Vista de las secciones transversal y superficial de las diferentes películas.....	68
Cuadro 10. Análisis de varianza para las variables en estudio, según el modelo mixto..	69
Cuadro 11. Índice de decaimiento para los diferentes tratamientos en el día 20 de su almacenamiento.....	84

Cuadro 12. Evaluación visual de la incidencia de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz.	
en diferentes tratamientos evaluados	85 y 86

“ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES A BASE DE MUCÍLAGO DE NOPAL (*Opuntia* spp.) EN COMBINACIÓN CON OTROS POLÍMEROS Y ADICIONADAS CON UN EXTRACTO ANTIFÚNGICO”

“DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF BIODEGRADABLE FILMS BASED ON CACTUS PEAR PADS (*Opuntia* spp.) MUCILAGE IN COMBINATION WITH OTHER POLYMERS ADDING ANTIFUNGAL EXTRACT

Laureano López Bernabé, Corrales García Joel²

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue desarrollar y caracterizar películas biodegradables a base de mucílago de nopal en combinación con otros polímeros y adicionado con un extracto antifúngico para valorar su potencial de uso en la calidad postcosecha y vida útil de frutos de papaya (*Carica papaya* L.) mediante la evaluación de sus propiedades físicas, funcionales, mecánicas y microestructurales. La concentración y tipo de componente lipídico tuvieron efecto significativo ($P \leq 0.05$) sobre la mayoría de las variables analizadas. La película elaborada con relación 1:1 mucílago de nopal-cera de abeja (M-C₁) fue la que presentó mejores características y, por lo tanto, fue seleccionada para ser aplicada como recubrimiento en frutos de papaya donde resultó ser efectiva, pues redujo la pérdida de peso, mantuvo la firmeza, retardó los cambios de color externo y la pudrición por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. durante 20 días simulando condiciones de almacenamiento comercial.

Palabras clave: permeabilidad a vapor de agua, pérdida de peso, extracto antifúngico.

SUMMARY

The aim of this research was to develop and characterize biodegradable films based on cactus pear pads (*Opuntia* spp.) mucilage combined with other polymers and adding some antifungal extract in order to assess its performance potential on the postharvest quality and shelf life of papaya (*Carica papaya* L.) fruits by assessment of their physical, functional, mechanical and microstructural properties. Film develop with ratio 1:1 mucilage-beeswax (M-C₁) showed the best characteristics and therefore it was selected for its application as coating on papaya fruits where it was effective inasmuch as this film decreased weight loss, preserved firmness, retarded the external color change and rottenness by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. during 20 days simulating commercial storage conditions.

Key words: water vapor permeability, weight loss, antifungal extract.

¹Tesista de la Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, C.P. 56230. E-mail: bernabelaureano@live.com.mx.

²Profesor-investigador de la Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo, Estado de México, C.P. 56230. E-mail: joelcorrales@hotmail.com.

1. INTRODUCCIÓN

México es considerado un lugar de origen de las cactáceas, así lo demuestran la riqueza de géneros y especies existentes en el país. El nopal ha tenido una gran importancia histórica y actual para México y es considerado un símbolo nacional (Martín del Campo, 1957). Nopal, derivado del náhuatl *nopalli* o *nochtli* (Martín del Campo, 1957), es el nombre común que reciben las cactáceas de los géneros *Opuntia* y *Nopalea* en México (López-Palacios *et al.*, 2010).

Conservar productos hortofrutícolas en buen estado durante mayor tiempo, acceder a mercados diversos y distantes, obtener productos diversificados con mayor valor agregado y mayor potencial de comercialización, ampliar la vida útil y disponibilidad, regular precios en caso de sobreoferta, así como generar empleo, entre otras, son las principales ventajas y razones de ser de la industrialización. La industrialización del nopal es posible y puede ser económicamente rentable dependiendo de algunos factores mercadotécnicos y organizacionales (Corrales, 2009); en este contexto, una manera de aprovechar el nopal agroindustrialmente, es a través de la extracción y empleo del mucílago.

El mucílago de nopal, un carbohidrato complejo integrado por diferentes polisacáridos estructurales, presenta gran capacidad para ejercer como matriz en la formación de películas biodegradables para la aplicación en frutos. Además, si el mucílago de nopal se mezcla con otros componentes de características propias; entonces es susceptible de formar películas biodegradables compuestas con mejores propiedades funcionales.

Diversos estudios realizados, han demostrado la posibilidad de que los recubrimientos y películas biodegradables puedan actuar como «vehículo» de algunas sustancias tales

como: antioxidantes, agentes antimicrobianos, colorantes, saborizantes, nutrientes enriquecidos y otras especies (Pranoto *et al.*, 2005; Lin y Zhao, 2007; Pascall y Lin, 2013).

Con base en lo anteriormente mencionado, el presente estudio propone elaborar y caracterizar películas biodegradables a base de mucílago de nopal y ceras, incorporando un extracto antifúngico para preservar la calidad postcosecha de papaya, así como el control de la incidencia de antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

2. JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial, han sido reconocidas más de 370 especies de *Opuntia*, y al menos 60 de ellas son nativas de México (Anderson, 2001). En México hay tres millones de hectáreas de nopal silvestre y 233 mil de nopal cultivado, de las cuales, 150 mil Ha son empleadas como forraje y 13 mil Ha son cultivadas por su fruto, con una producción de 139 193 toneladas de tuna (SIAP-SAGARPA, 2007).

En los últimos años, el creciente interés por prolongar la vida útil de los productos hortofrutícolas, asegurar su inocuidad, así como por preservar el ambiente, ha promovido el desarrollo de recubrimientos formados a partir de componentes biodegradables (Lin y Zhao, 2007; Embuscado y Huber, 2009; Kuorwel, 2011; Zhang *et al.*, 2014).

Debido a sus propiedades reológicas y viscoelásticas (Medina-Torres *et al.*, 2000; Sáenz, 2006a), el mucílago de nopal (*Opuntia* spp.) podría representar una buena opción para el desarrollo de películas biodegradables en países como México donde la producción de nopal es alta y relativamente a bajo costo, constituyendo una alternativa de uso y una fuente de recursos para comunidades de bajos niveles de ingresos.

No obstante la importancia de este recurso fitogenético de gran valor, los estudios que hay al respecto son muy escasos, particularmente en cuanto a la formulación y caracterización de películas biodegradables que incorporen elementos orientados específicamente a desempeñar alguna función, por ejemplo, el efecto antifúngico de algún compuesto.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Desarrollar películas biodegradables a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica* var. Milpa Alta) a 0.5% (m/m), componente lipídico (cera de abeja [CA] o cera de carnauba [CC] a dos diferentes concentraciones), agente surfactante (ácido oleico [AO] o tween 80 [T] a dos diferentes concentraciones), glicerol [G] como plastificante y un agente anti-fúngico (extracto de *Origanum vulgare* a [3000 ppm]) para valorar su potencial de uso en la calidad postcosecha y vida de anaquel de frutos de papaya (*Carica papaya* L.) mediante la evaluación de sus propiedades físicas, fisicoquímicas, funcionales, mecánicas y microestructurales.

3.1.1 Objetivos particulares

Extraer, aislar y deshidratar mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) variante Milpa Alta para emplearlo como matriz estructural en la formulación de películas biodegradables.

Elaborar películas biodegradables a base de mucílago de nopal y de mucílago con algún componente lipídico (cera de abaja [CA] o cera carnauba [CC]), aditivos (emulsificante y plastificante) y extracto de orégano.

Caracterizar las películas mediante sus propiedades físicas (color, transparencia, espesor), fisicoquímicas (viscosidad), mecánicas (esfuerzo de punción, resistencia a la tensión), funcionales (permeabilidad a vapor de agua, permeabilidad a oxígeno y CO₂) y microestructurales.

Evaluar el efecto de aquella película biodegradable que presente las mejores propiedades al ser aplicada como recubrimiento en papaya (*Carica papaya* L.), sobre los parámetros de calidad (color, pérdida de peso, firmeza, sólidos solubles, pH y acidez) del fruto.

Evaluar el efecto de aplicar recubrimientos biodegradables incorporando extracto de orégano (*Origanum vulgare*) como antifúngico, sobre frutos de papaya inoculada con *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

4. HIPÓTESIS

La aplicación de películas biodegradables a base de mucílago de nopal y cera, permite incrementar la vida útil de frutos de papaya (*Carica papaya* L.) en postcosecha.

La incorporación de extracto de orégano (*Origanum vulgare*) en películas biodegradables inhibirá el desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. de papayas en postcosecha.

5. REVISIÓN DE LITERATURA

5.1. Generalidades del nopal

El interés del ser humano por los nopales data de miles de años. Su origen e historia están íntimamente relacionados con las antiguas civilizaciones mesoamericanas, en particular con la cultura azteca. Existen evidencias arqueológicas que permiten afirmar que fueron las poblaciones indígenas asentadas en las zonas semiáridas de Mesoamérica las que iniciaron su cultivo de modo formal (Pimienta, 1990).

Es muy probable que ya en los muestrarios de plantas y animales llevados a España por Cristóbal Colón se incluyeran nopales y otras cactáceas como muestra de la exótica flora del nuevo mundo (Barbera, 1999; Velásquez, 1998). Cuando Hernán Cortés llegó al Valle de México en 1519, no pudo menos que asombrarse ante los *nopalli* (término náhuatl que significa nopal) y las tunas (*nochtli*), sus atractivos y deliciosos frutos.

Los nopales están ligados de modo particular a la historia de México y Mesoamérica, su centro de origen genético; por ejemplo, en el escudo de México figura un águila posada sobre un nopal, un símbolo que ha llegado hasta nuestros días del jeroglífico de la gran Tenochtitlán y significa ‘sitio del nopal que crece sobre la piedra’. Esta era la ciudad de los sacrificios de los Náhuatl, capital del Imperio Azteca, hoy ciudad de México, para los que tuvo especial relevancia en la vida económica, social y religiosa (Granados y Castañeda, 1996; Flores-Valdez, 2003).

La evidencia del conocimiento y uso del nopal por los primeros pobladores mexicanos se encuentra en las excavaciones de Tamaulipas y Tehuacán, Puebla, donde se encontraron

fosilizadas semillas y cáscaras de tuna, así como fibras de pencas de nopal, de una antigüedad de siete mil años (Flores-Valdez, 2003).

Poco después de la llegada de los conquistadores a México, otro acontecimiento hace referencia a los nopales poniendo en evidencia el atractivo de esta especie, fundamental en ese ambiente. Es el que está recogido, en lengua náhuatl, en el Nican mopohua («Aquí se narra») y hace alusión a las apariciones de la Virgen de Guadalupe. El autor, tratando de dar una idea de la transformación del entorno ante la presencia de tan excelsa belleza, señala: «Los mezquites y nopales y otras diferentes hierbecillas que allí se suelen dar, parecían de esmeralda; su follaje, finas turquesas; y sus ramas y espinas brillaban como el oro» (Valeriano, 1554). Quizá hoy, la observación que se puede hacer de esta especie no sea tan exultante; sin embargo, aún en nuestros días esconde numerosos atractivos, valiosos compuestos y un valor excepcional para la protección y el desarrollo de las zonas áridas y semiáridas que abundan en el mundo y que están ligadas generalmente a la marginalidad y a la pobreza de sus habitantes. Es por ello que su utilización es una importante alternativa para dichas áreas y sus habitantes, así como para toda la humanidad (Sáenz, 2006a).

5.1.1. Taxonomía, morfología y nomenclatura

Los nopales son originarios de América tropical y subtropical y hoy día se encuentran en una gran variedad de condiciones agroclimáticas, en forma silvestre o cultivada, en todo el continente americano. Además, se han difundido a África, Asia, Europa y Oceanía donde también se cultivan o se encuentran en forma silvestre (Sáenz, 2006a).

Los nopales pertenecen a la familia Cactaceae. La taxonomía de los nopales es sumamente compleja debido a múltiples razones, entre otras porque sus fenotipos presentan gran variabilidad según las condiciones ambientales, se encuentran frecuentemente casos de poliploidía, se reproducen en forma sexual o asexual y existen numerosos híbridos interespecíficos (Sáenz, 2006a).

Pando-Moreno *et al.*, (2007) reportan que estudios recientes han encontrado diferencias en los tipos de cristales de oxalato de calcio para subfamilias de cactáceas y mencionan la posibilidad de caracterizar especies de esta familia a partir de sus similitudes en los cristales de oxalato de calcio. Al respecto, Contreras-Padilla *et al.*, (2011) encontraron una relación positiva entre el contenido de oxalato de calcio y la etapa de maduración de los nopalitos.

Dentro de la familia Cactaceae, el género *Opuntia* es uno de los más diversos y ampliamente distribuidos en el continente americano; el cual incluye 188 especies (*sensu stricto*), 78 nativas de México (Anderson, 2001), donde se puede encontrar la mayor riqueza de variantes silvestres y cultivadas. Además, al menos 126 de las 188 especies poseen diferente grado de domesticación (Reyes-Agüero, *et al.*, 2009).

Distintos autores presentan variaciones en la colocación taxonómica de los nopales dentro de la familia Cactaceae (v.g.: Sánchez-Monge, 1991; Scheinvar, 1999; GRIN, 2005). El género se encuentra ubicado taxonómicamente en el cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del nopal.

Reino:	Vegetal
Subreino:	Embryophyta
División:	Angiosperma
Clase:	Dicotyledonea
Subclase:	Dialipetalas
Orden:	Opuntiales
Familia:	Cactaceae
Tribu:	Opuntiae
Subfamilia:	Opuntioideae
Género:	<i>Opuntia</i>
Subgénero:	Platyopuntia
Especie:	<i>Opuntia</i> spp.

Fuente: Britton y Rose (1963) citado por Bravo-Hollis, (1978).

5.1.2. Importancia económica

Según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de México (SIAP), en 2012 la superficie cultivada de nopalito en México fue de casi 12 500 ha y en este mismo año los nopalitos se posicionaron en el lugar número seis entre las hortalizas más importantes por volumen de producción anual (Figura 1) con poco más de 856 t generando un valor de la producción de \$1.4 millones de pesos (SIAP-SAGARPA, 2012).

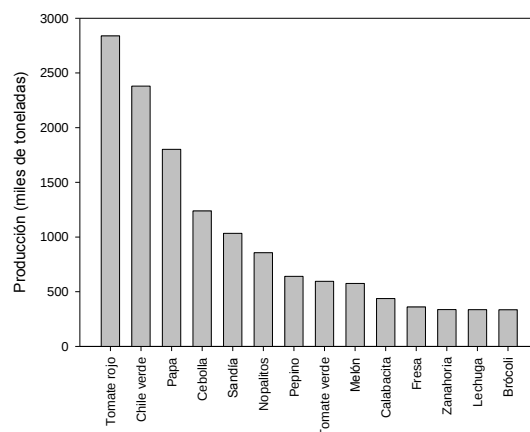


Figura 1. Volumen de producción (miles de toneladas) de las principales hortalizas cultivadas en México en 2012. Fuente: SIAP – SAGARPA (2012).

En México 26 entidades federativas son productoras de nopalitos, sin embargo, tan solo seis de ellas aportan el 94.8 % de la producción nacional (Figura 2).

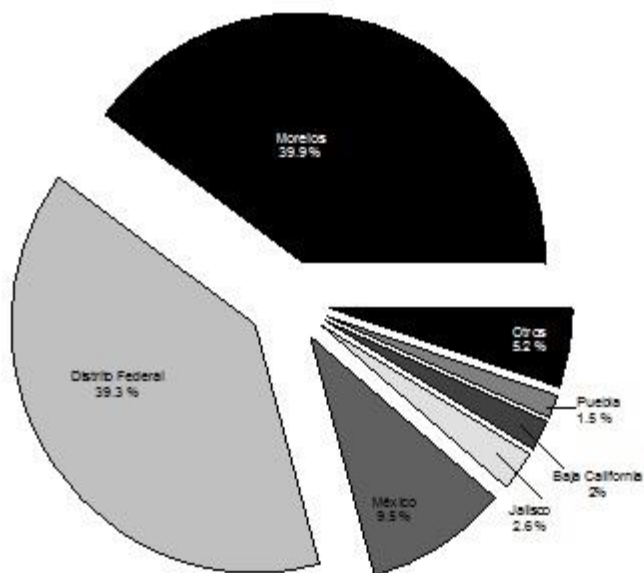


Figura 2. Distribución por entidades federativas de la producción nacional de nopalitos en México para el año 2012. Fuente: SIAP – SAGARPA (2012).

El nopal verdura es una hortaliza que adquirió importancia en el mercado de exportación, principalmente a Estados Unidos de América (E.U.A.), el cual aumentó su importación en 128.6 % entre 2000 y 2005. Este comportamiento se atribuye al aumento de la población latina y aceptación de la comida mexicana en ese país (Callejas *et al.*, 2006).

5.1.3. Usos del nopal

El nopal es cultivado con varios propósitos, del nopal se obtiene fruta, hortaliza (nopalito), forraje, pigmento grana de cochinilla, medicamentos, artesanías, cosméticos; aparte, del nopal y de la tuna se elaboran comercialmente diversos productos alimenticios, jugos y

bebidas alcohólicas. El nopal también se usa como clarificador de agua, como adherente para pinturas y encalados, como cerco vivo, para conservar suelo y para combatir el proceso de desertificación (Stintzing y Carle, 2005; Pérez-Cacho *et al.*, 2006; Díaz-Medina *et al.*, 2007; Corrales, 2009).

De acuerdo con Corrales (2009), los productos industrializados a partir del nopal y de la tuna se pueden clasificar por el tipo del sector industrial que los procesa. Así, se tienen las industrias: artesanal, químico extractiva y biotecnológica, alimentaria rústico artesanal o tradicional (Navarrete-Bolaños, 2013), alimentaria tecnificada, farmacéutica y cosmetológica, tal como se describe en el cuadro 2.

Cuadro 2. Usos del nopal en las diferentes industrias existentes en México.

Artesanal	Químico extractiva y biotecnológica	Alimentaria		Farmacéutica	Cosmetológica
		Rústico artesanal	Tecnificada		
Canastas	Espesantes	Queso de tuna	Nopalitos y tunas mínimamente procesados	Harina, polvo, cápsulas y comprimidos de nopal	Champús
Floreros	Gelificantes	Melcocha			Acondicionadores
Varios objetos	Colorantes vg: rojo carmín	Colonche	Nopalitos en salmuera		Jabones
	Edulcorantes		Nopalitos en escabeche		Cremas
	Proteína unicelular		Salsas de nopalito		Geles
	Proteína de levadura		Otros alimentos con nopal		Lociones
	Medio de cultivos		Mermelada de nopalito		Mascarillas
			Mermelada de tuna		
			Salsas de tuna		
			Dulces de tuna y nopalito		
			Jugo de tuna		
			Jugo de nopal		
			Vino de tuna		
			Aguardiente de tuna		
			Licor de tuna		
			Néctares y jarabes		

Fuente: Elaboración propia con información de Corrales, (2009).

5.1.4. El mucílago de nopal

La familia Cactaceae se caracteriza por la producción de mucílago. El mucílago es un carbohidrato complejo, parte de la fibra dietética. Por esta y otras razones, que se explican más adelante, es un componente con excelentes perspectivas como aditivo no solo para la industria de los alimentos, sino también para otros usos industriales (Sáenz *et al.*, 2004).

De acuerdo con Nobel y colaboradores (1992) citados por Sáenz *et al.*, (2004), este hidrocoloide presenta gran capacidad para embeber agua, lo que juega un papel muy importante en la fisiología de la planta, sobre todo considerando que las especies del género *Opuntia* crecen comúnmente bajo condiciones de estrés hídrico.

Peña *et al.*, (2012) desarrollaron una investigación para cuantificar el contenido de mucílago, pectina, hemicelulosa y celulosa en nopalitos de los doce cultivares Mexicanos más consumidos, así como en tunas dulces y ácidas de varias especies del género *Opuntia*. Este trabajo mostró que el contenido de mucílago fue significativamente diferente entre nopalitos y tunas de los cultivares estudiados. El cultivar con el más bajo contenido de mucílago en nopalitos fue Atlixco (3.8 % base seca) en contraste con un grupo de tres cultivares (Moradaza, Tobarito, y Toluca), de los que el contenido promedio de mucílago resultó ser de 8.41 % con base en materia seca. Recientemente, López-Palacios *et al.*, (2012) reportaron un contenido de 12 % de mucílago con base en el total de materia seca en nopalitos de *Opuntia ficus-indica*.

En cuanto a estructura química, varios investigadores, no siempre refiriéndose a la misma especie, han estudiado la composición química de los mucílagos del género *Opuntia*.

Los estudios realizados hasta ahora en *Opuntia ficus-indica* muestran también algunas diferencias. Trachtenberg y Mayer (1981) reportaron que el mucílago de *Opuntia ficus-indica* de Jerusalén está hecho de arabinosa, galactosa, ramnosa, xilosa y ácido galacturónico.

Otros estudios sobre la estructura molecular y los polisacáridos componentes del mucílago de nopal se han desarrollado utilizando técnicas cromatográficas (Saag *et al.*, 1975; McGarvie y Parolis, 1979, 1981a, 1981b, Paulsen y Lund, 1979; Forni *et al.*, 1994, Matsuhira, 2006). En general, como se ha mencionado previamente, el mucílago contiene cantidades variables de L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-xilosa y ácido galacturónico como principales fracciones. La presencia de este último componente ha sido causa de confusión para varios autores quienes hacen referencia al mucílago como una pectina o un pectinoide. De acuerdo con Trachtenberg y Mayer (1981) y Nobel *et al.*, (1992) citados por Sáenz *et al.*, (2004), el mucílago de *Opuntia ficus indica* está compuesto de 24.6–42 % de arabinosa; 21–40.1 % de galactosa; 8–12.7 % de ácido galacturónico; 7–13.1 % de ramnosa y 22–22.2 % de xilosa. Hay otros minerales presentes, tales como Ca^{2+} y el K^+ (Sepúlveda *et al.*, 2007; Peña *et al.*, 2012).

Estudios realizados por Cárdenas *et al.*, (1997) indicaron que el peso molecular de este hidrocoloide es de 3×10^6 . Este valor fue más pequeño que el reportado por Trachtenberg y Mayer (1981) de 4.3×10^6 y bastante diferente al que fue determinado por Medina-Torres *et al.*, (2000), que fue de 2.3×10^4 . Las diferencias de estos resultados podrían ser explicadas por la técnica de aislamiento empleada o por contaminación del mucílago mismo con otros compuestos celulares. El Cuadro 3 resume los resultados de diferentes

investigaciones hechas sobre el peso molecular, composición de azúcares y ácido urónico presentes en el mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*).

Cuadro 3. Peso molecular, azúcares y ácido urónico en mucílago de *Opuntia ficus-indica*.

Autor	PM	Galactosa	Ramnosa	Arabinosa	Xilosa	Ácido urónico	Galactosa/arabinosa
Goycoolea et al. (2000)	3 x 10 ⁶	+	+	+	+		2/3
Cárdenas et al. (1997)		+	+	+		+	
Sáenz y Sepúlveda (1993)		+	+	+		+	
Sáenz et al. (1992)	1.56 x 10 ⁶	+	+	+		+	
Trachtenberg y Mayer (1982)		+	+	+	+	+	
McGarvie y Parolis (1981a)		+	+	+	+	+	
McGarvie y Parolis (1981b)	4.3 x 10 ⁶	+		+	+		1.5/3
Trachtenberg y Mayer (1981)		+	+	+	+	+	4.9/3
McGarvie y Parolis (1979)		+	+	+	+	+	1.3/3
Paulsen y Lund (1979)		+	+	+	+	+	
Saag et al. (1975)		+	+	+	+	+	3.5/3
Srivastava y Plande (1974)		+		+			3/1

Fuente: Elaboración propia con datos de Sáenz *et al.*, (2004).

Por otra parte, estudios realizados por Matsuhira *et al.*, (2006) en los que utilizaron diálisis para la purificación del mucílago demostraron que este polisacárido se encuentra compuesto por al menos cinco fracciones.

5.2. Películas y recubrimientos biodegradables

5.2.1. Definición e historia

De acuerdo con McHugh (2000) citado por Falguera *et al.* (2011) un recubrimiento biodegradable es una capa delgada que forma una cubierta sobre el alimento, mientras que una película comestible es una capa preformada y delgada, la cual una vez elaborada puede ser colocada sobre el alimento. La principal diferencia entre estos sistemas alimentarios es que los recubrimientos comestibles son aplicados en forma líquida sobre el alimento, usualmente por inmersión del producto en una solución formadora de recubrimiento compuesta por la matriz estructural (carbohidrato, proteína, lípido o mezcla multicomponente), y las películas comestibles son primero preparadas en forma de láminas sólidas que después son aplicadas a manera de envoltura en el producto alimenticio (Falguera *et al.*, 2011; Embuscado y Huber; 2009).

El empleo de películas y recubrimientos comestibles para extender la vida útil de los alimentos no son un concepto nuevo, sin embargo, ha recibido más atención en años recientes. Hardenburg (1967) menciona que desde los siglos XII y XIII en China se utilizaban ceras para recubrir cítricos a fin de retardar su deshidratación. El desarrollo de ceras ‘modernas’ comenzó alrededor de 1930 en E.U.A. con la aplicación de ceras de parafina a naranjas. Estas ceras fueron sustituidas a finales de la siguiente década por las ‘ceras solventes’ o soluciones de resinas sintéticas (cumarona-indeno o colofonia) en hidrocarburos de petróleo (Hardenburg, 1967; Hall, 1981; Kaplan, 1986). Posteriormente se formularon las ‘ceras al agua’ o emulsiones acuosas de cera de carnauba, candelilla y de polietileno que retardaban la deshidratación pero no aportaban tanto brillo como las

‘ceras solventes’. Hacia 1960 se empezaron a utilizar ‘ceras al agua’ adicionadas con resinas, como la goma laca, que mejoraban sustancialmente el brillo de las ‘ceras al agua’ desarrolladas inicialmente (Petracek, *et al.*, 1999).

5.2.2. Función y propiedades

Las películas y recubrimientos comestibles son aplicados en muchos productos para controlar la transferencia de humedad y migración de solutos, intercambio de gases o procesos de oxidación (Rojas-Graü *et al.*, 2009; Pascall y Lin, 2013). La eficiencia y propiedades funcionales de los recubrimientos y películas biodegradables dependen en gran medida de las características inherentes de los materiales formadores de películas (Lacroix y Le Tien, 2005; Liu, 2005; Han, *et al.*, 2006).

Los recubrimientos comestibles tienen un alto potencial para transportar ingredientes activos tales como agentes antioxidantes, colorantes, aromáticos, elementos nutritivos, especies y compuestos antimicrobianos que pueden extender la vida útil del producto y reducir el riesgo de crecimiento de patógenos en la superficie del alimento (Krochta y Mulder-Johnson, 1997; Pranoto *et al.*, 2005; Murillo-Martínez *et al.*, 2013).

5.2.2.1. Propiedades de barrera. Una de las funciones de las películas biodegradables es actuar como una barrera que separe y proteja al producto de su exposición al ambiente. La capacidad de una película biodegradable para actuar como barrera, está influenciada por las propiedades químicas del material utilizado en su preparación; sin embargo, las condiciones ambientales, tales como temperatura, humedad relativa y el estrés de la manipulación del producto por los consumidores pueden influir en el rendimiento de las propiedades barrera de la película biodegradable (Pascall y Lin, 2013).

El potencial de los recubrimientos para proteger al fruto del deterioro depende de sus propiedades barrera y mecánicas. Las propiedades barrera que se determinan en películas aisladas preformadas en placa, incluyen la permeabilidad al vapor de agua, a los gases, a compuestos volátiles y solutos. De éstas, la permeabilidad al vapor de agua y a los gases (CO_2 y O_2) son las propiedades de mayor interés para el recubrimiento de frutas. En este contexto, los recubrimientos biodegradables disminuyen la tasa de transmisión de vapor de agua al formar una barrera sobre la superficie del producto recubierto, previniendo así su deshidratación y el deterioro de sus propiedades texturales (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2009; Oms-Oliu, *et al.*, 2010).

5.2.2.2. Propiedades mecánicas. Las propiedades mecánicas determinan la habilidad del recubrimiento para formar una capa continua con buena integridad física en torno al fruto. En general, las propiedades mecánicas de las películas biodegradables, dependen en gran medida del material del que estén formadas (Hong *et al.*, 2004). Las propiedades frecuentemente medidas para caracterizar las propiedades mecánicas de las películas biodegradables son esfuerzo de tensión, porcentaje de elongación, módulo elástico y el índice de desprendimiento. El esfuerzo de tensión, es una medida de la habilidad de una película para resistir el rompimiento ante la aplicación de una fuerza de tensión, lo que depende de la fuerza de sus fibras, de su área y de su longitud. El porcentaje de elongación, es una representación cuantitativa de la habilidad de las películas para extenderse. El módulo elástico, también llamado ‘módulo de Young’, es la medida fundamental de la habilidad de las películas para ‘estirarse’. El índice de desprendimiento, corresponde a la fuerza promedio que se necesita aplicar para desprender la película (Khwaldia *et al.*, 2010).

5.2.2.3. Propiedades de transporte. Diversos estudios realizados, han demostrado la posibilidad de que los recubrimientos y películas biodegradables puedan actuar como «vehículo» de algunas sustancias tales como: antioxidantes, agentes antimicrobianos, colorantes, saborizantes, nutrientes enriquecidos y otras especies (Pranoto *et al.*, 2005; Lin y Zhao, 2007; Pascall y Lin, 2013).

Martín-Belloso *et al.* (2010) menciona que varios compuestos han sido investigados en cuanto a su potencial de uso al incorporarse en recubrimientos biodegradables para desempeñar alguna función específica; algunos de ellos: ácidos orgánicos (acético, benzoico, láctico, propiónico, sórbico), ésteres de ácidos grasos (glicerol monolaurato), polipéptidos (lisozima, peroxidasa, lactoferrina, nisina) y aceites esenciales de plantas (canela, orégano, té limón).

5.2.3. Materiales formadores de películas

De acuerdo con Bourtoom (2008), los componentes empleados para la preparación de películas biodegradables pueden ser clasificados en tres categorías: hidrocoloides (tales como proteínas, polisacáridos y alginato), lípidos (tales como ácidos grasos, acilglicerol, ceras) y compuestos.

Los polisacáridos empleados para la elaboración de recubrimientos o películas biodegradables incluyen celulosa, derivados de almidón, derivados de pectina, extractos de algas marinas, exudado de gomas, gomas de fermentación microbiana y quitosano (Krochta y Mulder-Johnson, 1997). Los polisacáridos poseen excelentes propiedades de barrera al oxígeno debido a su estructura estrechamente acomodada mediante puentes de

hidrógeno intermoleculares (Fang y Hanna, 2000; Díaz-Sobac *et al.*, 2001; Han *et al.*, 2006; Kuorwel, *et al.*, 2011), pero sus propiedades de barrera contra el vapor de agua son pobres debido a su carácter hidrofílico (Guilbert 1986; Kester and Fennema 1986; Gennadios *et al.*, 1994; Lacroix and Le Tien 2005).

Los compuestos lipídicos utilizados como recubrimientos consisten en monoglicéridos acetilados, ceras naturales y surfactantes. Las sustancias lipídicas más efectivas son las parafinas y las ceras de abeja. La función principal de un recubrimiento lipídico es bloquear el transporte de humedad debido a su baja polaridad. En contraste, esta hidrofobicidad de los lípidos, hace que se formen películas más gruesas y más frágiles. En consecuencia, deben ser asociados con agentes formadores de películas tales como proteínas o derivados de celulosa (Debeaufort *et al.*, 1993). Generalmente, la permeabilidad a vapor de agua disminuye cuando la concentración de la fase hidrofóbica. Las películas biodegradables a base de lípidos son frecuentemente soportadas en una matriz estructural polimérica, usualmente un polisacárido, para proveerle resistencia mecánica (Bourtoom, 2008).

Los recubrimientos y películas biodegradables compuestos pueden ser de naturaleza heterogénea, lo que permite utilizar las características funcionales propias de cada material formador de película (Kester y Fenema, 1986); consisten en una mezcla de polisacáridos, proteínas y/o lípidos. La combinación entre polímeros para formar películas puede ser de proteínas y carbohidratos, proteínas y lípidos, carbohidratos y lípidos o polímeros sintéticos y polímeros naturales (Bourtoom, 2008). El objetivo principal de elaborar recubrimientos y películas compuestas es el de mejorar la permeabilidad o las propiedades mecánicas de acuerdo a la necesidad que se tenga con base en el alimento a recubrir. Estas películas heterogéneas se aplican ya sea en forma de una emulsión, suspensión o

dispersión de constituyentes no miscibles, en capas sucesivas (recubrimientos o películas multicapa), o en forma de solución en un solvente común (Bourtoom, 2008).

5.2.4. Métodos de aplicación

De acuerdo con Nussinovitch (2009) y Zhang y Mittal (2010), hay dos formas de preparar películas biodegradables, el proceso en seco y el húmedo. En el proceso en seco, se basa en las propiedades termoplásticas de los biopolímeros, mientras que el proceso húmedo, frecuentemente llamado ‘casteo’, se basa en el secado de una solución o dispersión formadora de película.

5.3. Generalidades de la papaya

El cultivo de papaya (*Carica papaya* L.) pertenece a la familia Caricaceae y es la única especie del género *Carica* (Antunes y Renner, 2012). Caricaceae es una familia pequeña de plantas dicotiledóneas con seis géneros; cuatro de origen tropical Americano (*Carica*, *Jarilla*, *Jacaratia*, *Vasconcella*) y uno, *Cylicomorpha*, de África ecuatorial. La papaya es, económicamente, la especie más importante de la familia Caricaceae (Paull y Duarte, 2011).

La papaya nunca ha sido encontrada en forma silvestre, pero se cree que es originaria de América tropical, probablemente en el sureste de México y en las regiones cercanas de América Central. Fue llevada por los Españoles a las Filipinas en el siglo 16, de donde fue luego introducida a la India, y desde entonces, el cultivo de papaya se ha extendido a otros

países tropicales y subtropicales situados geográficamente entre latitudes de los 32° latitud Norte y Sur, y hasta altitudes de 1300 metros cerca del ecuador (Lim, 2012; Carr, 2013).

5.3.1. Papaya “Maradol”

El papayo (*Carica papaya* L.) variedad Maradol es de origen cubano, introducido a México en 1978 por la Comisión nacional de Fruticultura (CONAFRUT) en el estado de Veracruz. La producción de esta variedad va en ascenso sobre otras variedades, debido a sus cualidades de fructificación temprana, alta producción, sabor, color y consistencia, precios de venta y la gran demanda en los mercados nacionales y extranjeros (Mandujano, 1995).

5.3.2. Índice de cosecha

El momento de cosecha depende de la distancia al centro de comercialización, sin embargo, las papayas se cosechan de acuerdo al cambio de color de la cáscara verde oscuro a verde claro con algo de amarillo en el extremo distal (quiebre de color), usualmente entre el quiebre de color a $\frac{1}{4}$ amarilla cuando el fruto se destina para exportación y entre $\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$ amarilla cuando se destina para mercado local. Se requiere un contenido mínimo de sólidos solubles de 11.5% de acuerdo a los estándares de clasificación de EUA (Kader, 1997; Paull, *et al.*, 1999; Manrique y Lajolo, 2004).

5.3.3. Pérdidas postcosecha de frutos de papaya

Dentro de las principales pérdidas postcosecha de frutos destacan las enfermedades, estas reducen la calidad del fruto en campo y en el mercado, son las principales responsables de pérdidas que ocurren durante el transporte; las pérdidas de papaya son del 10 al 40 %

en transporte terrestre y de 5 al 30 % en transporte aéreo, pudiendo alcanzar hasta el 75 % en la fase de comercialización. Las pérdidas ocasionadas por enfermedades varían dependiendo el manejo postcosecha y los procesos de empaque (Paull, 1997).

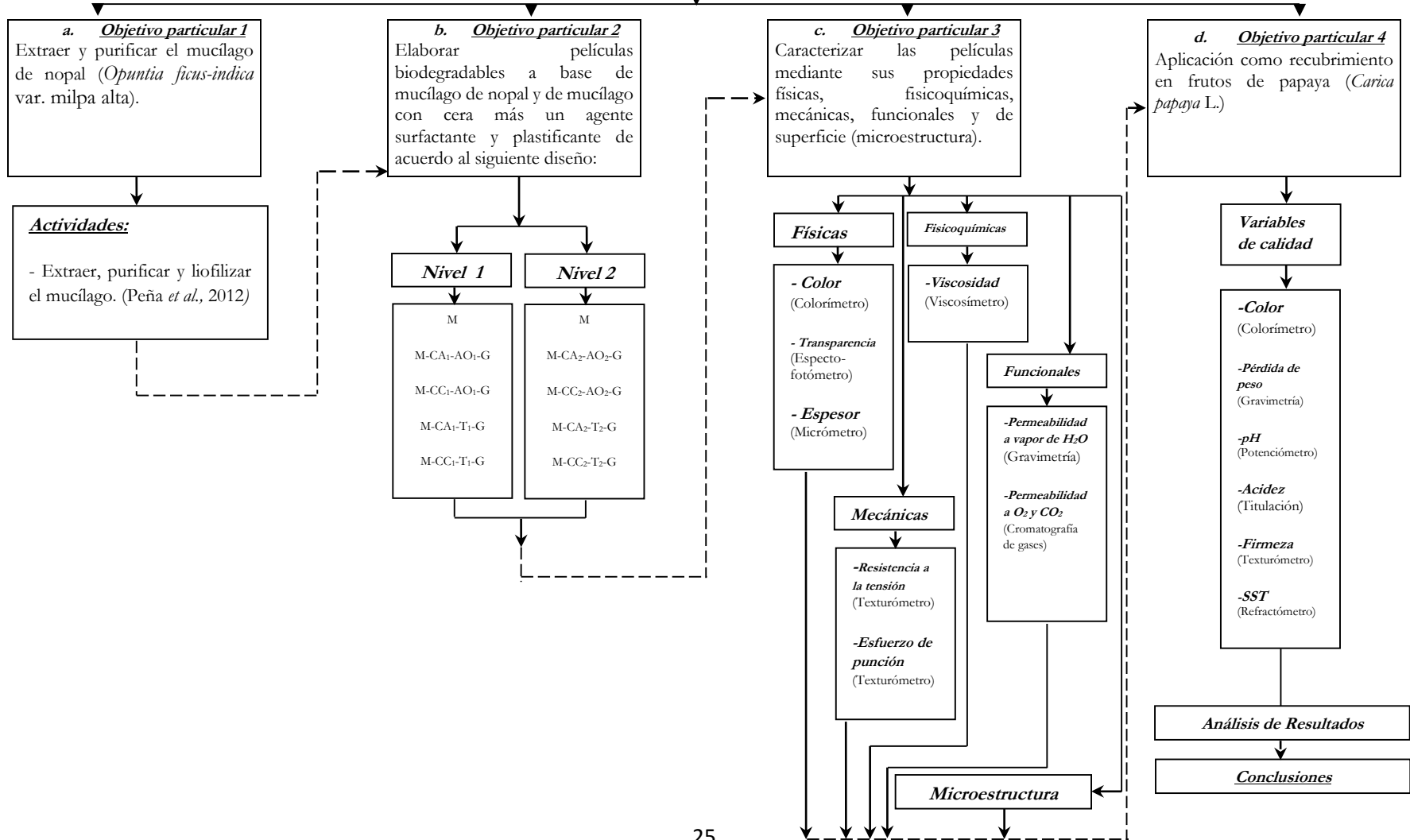
Por otra parte, *Colletotrichum gloesporioides* Penz ocasiona la enfermedad conocida como antracnosis y es el patógeno de mayor importancia en regiones tropicales y subtropicales del mundo. Esta enfermedad se puede desarrollar en una gran variedad de hospedantes, tales como: aguacate, cítricos, mango, papaya, plátanos (De Lapeyre y Chillet, 2000).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Secuencia metodológica

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar películas biodegradables a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica* var. milpa alta) a 0.5% (m/m), componente lipídico (cera de abeja [CA] o cera de carnauba [CC] a diferentes concentraciones), agente surfactante (tween 80 [T]), glicerol [G] como plastificante y un agente anti-fúngico (extracto de *Origanum vulgare* a [3000 ppm]) para valorar su potencial de uso en la calidad postcosecha y vida de anaquel de frutos de papaya (*Carica papaya* L.) mediante la evaluación de sus propiedades físicas, fisicoquímicas, funcionales, mecánicas y microestructurales.



6.2. Desarrollo y caracterización de películas biodegradables

6.2.1. Material biológico

Los cladodios de nopal (*Opuntia ficus-indica* variante Milpa Alta) que se emplearon, fueron cultivados bajo las mismas condiciones agroclimáticas y de manejo en el campo experimental “Dr. Facundo Barrientos Pérez” de la Universidad Autónoma Chapingo.

Los nopalitos fueron seleccionados de acuerdo al índice de cosecha propuesto por Rodríguez y Cantwell (1988), el cual corresponde a 30 días después de su brotación y aproximadamente 20 cm de longitud.

La cosecha se realizó por corte de los cladodios con un cuchillo en 5 plantas de la misma variante, tratando de no provocar ningún daño o lesión en los tejidos.

6.2.2. Extracción del mucílago

La extracción de mucílago se llevó a cabo de acuerdo a la metodología usada por Peña *et al.*, (2012). Los cladodios lavados y sin espinas se seccionaron en cuadros de 2 x 2 cm aproximadamente, se mantuvieron durante 15 min a $90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, con una proporción cactácea:agua en una relación 1:2 (p/v) respectivamente.

El líquido se decantó y luego se centrifugó a 4500 g en una centrífuga HERMLE Labortechnik (D-78564 – Z 326, Wehingen, Germany) durante 10 min. El sobrenadante se recuperó y se mezcló con etanol en una relación 1:1 (v/v), la mezcla se dejó reposar durante una noche en refrigeración a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Después la mezcla se centrifugó y se recuperó el precipitado. El mucílago se dializó en una membrana para diálisis con MWCO (molecular weight cut-off) de 2000 Daltons (Spectra/Por@Dialysis Membrane, marca

SPECTRUM, Spectrum Laboratorios Inc.) con agua desionizada durante 72 h. Durante la diálisis el agua fue renovada cada 2 horas, el primer día, y cada 4 horas, los dos días siguientes.

Al término de este proceso, el contenido de cada membrana se congeló (-35 ± 3 °C) y luego se deshidrató por liofilización en un liofilizador (LABCONCO, Freeze Dry System I Lyph Lock@4.5, Labconco Corporation, Kansas City, Missouri, EUA) durante aproximadamente 16 h.

El mucílago ya deshidratado se guardó en recipientes plásticos herméticos, durante aproximadamente dos meses, hasta su posterior empleo como componente en la formulación de películas biodegradables.

6.2.3. Formulación de las emulsiones biopoliméricas

Para la preparación tanto de los recubrimientos como de las películas biodegradables se elaboró inicialmente una solución de mucílago en agua desionizada (0.5 % p/v).

El procedimiento de preparación de esta solución incluyó dos etapas: (1ª) dispersión del mucílago de nopal (M) en agua caliente a temperatura de 60 ± 2 °C con agitación continua durante aproximadamente 45 min, y (2ª) hidratación de la solución a temperatura inferior a 20 °C durante aproximadamente 24 h con agitación constante.

Posteriormente, se añadió el resto de ingredientes de la formulación, que incluyeron el componente hidrofóbico (cera de abeja 'CA' o cera de carnauba 'CC'), el agente emulsificante (ácido oleico 'AO' o tween 80® 'T'), glicerol como plastificante (G) y agua desionizada en las cantidades correspondientes a cada formulación, como se indica en el Cuadro 4. La mezcla con estos ingredientes se calentó a 70 ± 2 °C para lograr la fusión

del componente hidrofóbico y después 45 minutos, se homogeneizó con un equipo Wiggen Hauser® (Mod. D – 500; Wiggenhauser Mashinenbau, Berlin, Alemania) durante tres ciclos de un minuto a 13 000 rpm.

Tras la homogeneización, cada emulsión preparada se enfrió al ambiente por debajo de 30 °C y después se le adicionó el extracto antifúngico ‘EA’. Las emulsiones así preparadas, se almacenaron a 5 °C durante un periodo de tiempo no superior a 48 h para su posterior vaciado en placa o aplicación en la fruta.

Para la preparación de las películas preformadas se prepararon tres réplicas de cada formulación. Las emulsiones se desgasificaron y vertieron en platos de polietileno de alta densidad de 15 cm de diámetro. La cantidad de cada emulsión vertida en cada plato fue constante (30 mL) a fin de obtener películas de espesor similar con las distintas formulaciones. Los platos conteniendo la emulsión se colocaron en una superficie horizontal nivelada durante aproximadamente dos días a temperatura y humedad relativa del ambiente. Después del secado, las películas formadas se separaron de su correspondiente plato.

El estudio se realizó en dos etapas. La primera correspondió a la exploración de formulaciones con distintas concentraciones de los componentes empleados, con el propósito de observar la estabilidad de la emulsión, así como determinar la apariencia de las películas formadas (cuando las emulsiones lograron formar película). Las diferentes formulaciones preparadas pueden observarse en el Cuadro 4.

La segunda etapa correspondió a la selección y caracterización. Se diseñó un experimento con nueve películas obtenidas de la combinación dos tipos y dos niveles de cera de abeja, dos tipos y dos niveles de emulsificante, más una obtenida a partir de mucílago solo.

Además, se añadió glicerol como plastificante (0.3 % de cada formulación) y extracto de orégano (3000 ppm) como posible antifúngico.

Cuadro 4. Composición de emulsiones y películas biodegradables en la fase de exploración de formulaciones.

Nomenclatura de película	Componente										G (%)	EA (ppm)
	Concentración (Partes)											
	M	CA ₁	CA ₂	CC ₁	CC ₂	AO ₁	AO ₂	TW ₁	TW ₂			
M	1									0.3		
M-CA ₁ -AO ₁ -G-AE	1	1				0.2				0.3	3000	
M-CA ₂ -AO ₂ -G-AE	1		3				0.4			0.3	3000	
M-CC ₁ -AO ₁ -G-AE	1			1		0.2				0.3	3000	
M-CC ₂ -AO ₂ -G-AE	1				3		0.4			0.3	3000	
M-CA ₁ -TW ₁ -G-AE	1	1						0.2		0.3	3000	
M-CA ₂ -TW ₂ -G-AE	1		3						0.4	0.3	3000	
M-CC ₁ -TW ₁ -G-AE	1			1				0.2		0.3	3000	
M-CC ₂ -TW ₂ -G-AE	1				3				0.4	0.3	3000	

M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2; AO₁ = ácido oleico a la concentración 1; AO₂ = ácido oleico a la concentración 2; TW₁ = tween 80 a la concentración 1; TW₂ = tween 80 a la concentración 2; G = glicerol; EA = extracto antifúngico.

6.2.4. Preparación del extracto de orégano

Se trituraron hojas deshidratadas de orégano (*Origanum vulgare*) con ayuda de un molino eléctrico automático (CBM 220 Black&Decker® Towson, Maryland, E.U.A.) hasta obtener 5 g de producto con tamaño de partícula ≤ 0.42 mm. A este material se adicionaron 25 mL de etanol 80 % (v/v), se dejó reposar durante 2 h a temperatura ambiente, posteriormente la mezcla se sonicó en un Ultrasonic Cleaner (Modelo 08892-21, Cole –

Parmer Instrument Company Vernon Hills, E.U.A.) por 30 minutos, se filtró y el volumen final se ajustó a 25 mL con etanol al 80 % (v/v).

Finalmente, el extracto de orégano se colocó en un frasco ámbar, y se guardó en un congelador.

6.2.5. Cuantificación de Fenoles Totales

Para el análisis de esta variable se empleó la técnica descrita por Waterman y Mole (1994) con algunas modificaciones.

Se tomaron 0.5 mL del extracto etanólico, se agregaron 10 mL de solución de Na_2CO_3 al 10 % (p/v), la mezcla se homogeneizó, se incubó a 38 °C por 15 min, se tomó una alícuota de 1 mL y se agregaron 3 mL de agua destilada y 1 mL de reactivo de Folin – Ciocalteu diluido en agua destilada 1:1 v/v.

Se mezcló y se dejó reposar durante 1 h en obscuridad a temperatura ambiente. Se midió absorbancia a 660 nm en un espectrofotómetro Genesys 10 – S, se utilizó etanol al 95 % como blanco. Se elaboró una curva tipo con ácido gálico a diferentes concentraciones (Figura 3). Los resultados estuvieron expresados en mg de ácido gálico $\cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Las lecturas se hicieron por triplicado.

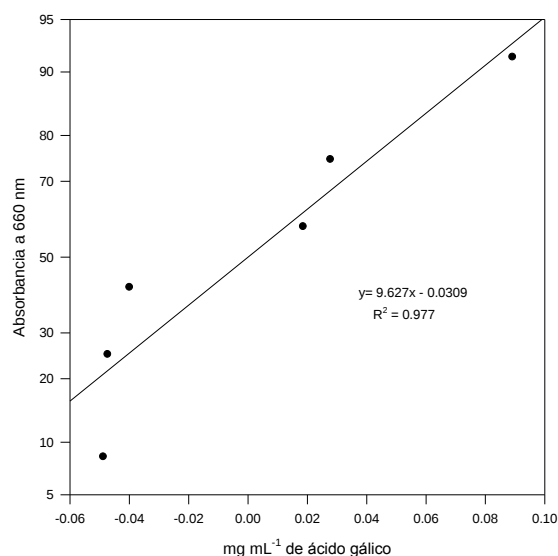


Figura 3. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales en términos de ácido gálico, por la técnica descrita por Waterman y Mole (1994).

6.2.6. Caracterización de Películas Biodegradables

6.2.6.1. Propiedades fisicoquímicas. A cada emulsión elaborada, se le determinó la viscosidad con un viscosímetro Brookfield (modelo DV-II+ Pro, Brookfield Engineering Laboratories, Inc. Middleboro, Massachussets, E.U.A.) a 60 rpm durante 1 min. La determinación se realizó por triplicado, siendo la viscosidad el valor promedio, reportada en MPa·s.

6.2.6.2. Propiedades físicas. El color se define como las ondas de luz en el espectro visible (de 380 a 770 nm) que son detectadas por la retina del ojo humano. La noción del color está basada en tres criterios: el *hue* (tono), la luminosidad (brillo) y la saturación (intensidad); estos tres elementos son los tres atributos del color (Korifi, *et al.*, 2013;

Sant'Anna *et al.*, 2013). Los parámetros de color ($L^* a^* b^*$) se determinaron con un fotocolorímetro HUNTERLAB (modelo MiniScan XE Plus, Reston, Virginia, USA). Los parámetros fueron obtenidos en la escala $CIEL^* a^* b^*$ y se calculó el ángulo de tono (H°), valor angular que indica el cuadrante correspondiente al color de la muestra en un sistema cartesiano $h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$, y el índice de cromaticidad (C) que indica la intensidad o concentración del color predominante dentro del cuadrante $C = [(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}]$ (McGuire, 1992; Sant'Anna *et al.*, 2013). El color fue determinado como la media de seis réplicas.

La transparencia de las películas se determinó con base en la norma ASTM D1746 (ASTM, 1997). Secciones de películas de 0.5 x 0.4 cm fueron colocadas en celdas de un espectrofotómetro (Spectronic Milton Roy modelo Genesys 10 UV, USA) en forma perpendicular al paso de la luz. En cada muestra fue evaluada la absorbencia en una longitud de onda de 560 nm. Como testigo se utilizó una celda vacía. El porcentaje de transparencia se calculó por medio de la siguiente expresión:

$$\% Transparencia = \frac{l_r}{l_0} \times 100$$

Donde l_r es la intensidad del haz de luz emitida por el equipo con la muestra, y l_0 es la intensidad del haz de luz emitida por el equipo sin la muestra, ambas a 560 nm. El resultado se expresó como la media aritmética de 5 repeticiones para cada película formulada.

6.2.6.3. Propiedades funcionales. Propiedades de barrera. Espesor: Se midió el espesor en cinco zonas diferentes de las películas con ayuda de un micrómetro digital (modelo Quickmike Series 293-IP-54; Mitutoyo Corp., Kanagawa, Japón) con una resolución de

0.001 mm. Cada película fue puesta dentro de los sujetadores del micrómetro y posteriormente se ajustó con el tambor del mismo micrómetro para medir el espesor. El espesor de cada película se calculó como la media aritmética de las cinco lecturas registradas.

Permeabilidad al vapor de agua (PVA): La PVA se evaluó de acuerdo con el método gravimétrico ASTM E96, con las modificaciones hechas por McHugh *et al.*, (1993) para películas hidrofílicas. La permeabilidad se midió utilizando un gradiente de humedad de 0 – 100 % HR a 25 °C. Para la realización se utilizaron celdas circulares de metacrilato. En su interior se colocaron 35 mL de agua destilada y posteriormente se fijaron las películas a evaluar entre la superficie y la tapa de la celda, dejando siempre un espacio de aire por debajo de la película. Después de haber colocado las películas en las celdas, se introdujeron en desecadores con tapa de vidrio esmerilado que contenía sílica gel (Merck, Darmstadt, Germany) para generar una humedad del 0 % en su interior (Osés, *et al.*, 2009). La tasa de transferencia de vapor de agua (WVTR, por sus siglas en inglés: water vapor transmission rate) se calcula como el cociente entre el valor de la pendiente de la curva de pérdida de agua vs tiempo y el área de la película expuesta de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$WVTR = \frac{\Delta m}{A \times \Delta t} [=] (g\ m^{-2}\ s^{-1})$$

Se evalúa en condiciones conocidas de espesor de la película, temperatura y gradiente de presión.

Si este valor de WVTR lo dividimos entre las presiones parciales de vapor de agua de las dos caras de la película ensayada obtenemos la permeación.

$$\text{Permeación} = \frac{WVTR}{P_{A_1} - P_{A_2}} [=] g s^{-1} m^{-2} Pa^{-1}$$

P_{A_2} es la presión parcial del vapor de agua por encima de la película. Por debajo de la película la norma asume que $P_{A_1} = P_{A_0}$ (presión de vapor saturado) para películas con muy baja permeabilidad. Sin embargo, McHugh *et al.* (1993) encontraron que esta igualdad no es correcta para películas hidrofílicas que impiden que se alcance el equilibrio de humedad. Por lo tanto, para conocer P_{A_1} debemos de conocer la humedad relativa exacta debajo de la película y para ello usamos la corrección propuesta por McHugh *et al.*, (1993).

$$P_{A_1} = (P - P_{A_0}) e^{\frac{WVTR \times R \times T \times Z}{P \times D}}$$

Donde:

P_{A_1} : Presión en la superficie interior de la película (Pa)

P : Presión atmosférica (Pa)

P_{A_0} : Presión en la superficie del agua o presión de vapor saturado (Pa)

$$P_{A_0} = 4.84T^2 - 52.24T + 1449.63 \quad (T \text{ en } ^\circ C)$$

WVTR: Flujo de agua en la capa de aire ($moles m^{-2} s^{-1}$)

R : Constante universal de los gases $8.314472 J mol^{-1} K^{-1}$

T : Temperatura (en K)

Z : Altura de la capa de aire (m)

D : Difusividad del agua en el aire ($m^2 s^{-1}$)

$$D = 22.441 \times 10^{-13} T^{2.8696} \quad (T \text{ en } K)$$

Finalmente, la permeabilidad al vapor de agua (WVP, por sus siglas en inglés: water vapor permeability) de cada una de las películas se calcula mediante la relación:

$$WVP = \text{Permeación} \times \text{espesor}$$

Por lo tanto, la permeabilidad de una película se expresa en:

$$WVP [=] \frac{g \cdot mm}{kPa \cdot h \cdot m^2}$$

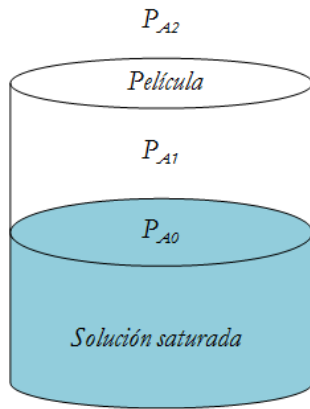


Figura 4. Representación gráfica de la celda de ensayo para evaluar la permeabilidad al vapor de agua.

Permeabilidad a gases. La permeabilidad a gases se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Valle-Guadarrama *et al.*, (2008), en donde cada película se colocó entre dos cajas de petri, para formar de esta manera una celda con dos cámaras separadas, donde la hermeticidad se creó con la aplicación de silicón térmico. Las cámaras contaban con un puerto de monitoreo y puertos de entrada y salida para permitir un flujo de gases. En la cámara superior, llamada depósito destino (D_d), se realizó un barrido de N_2 durante 30 min para eliminar el O_2 dentro de la celda. En la cámara inferior, llamada depósito fuente (D_f), se aplicó un tratamiento semejante, pero con aire normal. Posteriormente, a un tiempo cero ($t = 0$) se inyectó 1 ml de CO_2 de alta pureza (98.8 %) en (D_f) y se inició el

registro de la concentración de O₂ y CO₂ en D_d, a intervalos aproximados de 15 min, hasta completar cinco lecturas. Los resultados se ajustaron mediante regresión de la ecuación: $y_j^{d,t} = y_j^{d,0} + k_2(1 - e^{-k_1 t})$ (Banks y Nicholson, 2000), donde k_1 se definió por la ecuación: $k_1 = \frac{R(T+273.15)P_j'A^d}{V^d}$ y k_2 (igual a $y_j^f - y_j^{d,0}$) fue la línea asintótica a la curva formada por la primera ecuación (Valle-Guadarrama et al., 2002).

En las ecuaciones anteriores, R es la constante del gas ideal ($8.314 \text{ Pa} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$); T es temperatura (°C); V^d es el volumen interno (m³) de D_d; A^d es el área (m²) de la membrana que divide ambos depósitos; $y_j^{d,t}$ es la concentración (en porcentaje) de O₂ o CO₂ en D_d al tiempo t (s); $y_j^{d,0}$ es la concentración (en porcentaje) de O₂ o CO₂ en el mismo depósito al tiempo cero (t=0); y_j^f es la concentración (en porcentaje) de O₂ o CO₂ en D_f y P_j' es la permanencia ($\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{Pa}^{-1}$); de la película de prueba a O₂ o CO₂ (Banks *et al.*, 1995) Adicionalmente, se midió el espesor y se calculó la permeabilidad del recubrimiento (P_j en $\text{mol} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{Pa}^{-1}$), multiplicando la permanencia por dicho espesor de membrana (Banks *et al.*, 1995).

Las concentraciones de O₂ y CO₂ fueron determinadas con un cromatógrafo de gases (Varian modelo 3400 CX, USA) equipado con TCD y columnas PoropakQS 80/100 (1.2 m x 0.32 cm) y tamiz molecular, 5 Å 45/60 (1.2 m x 0.32 cm). Las temperaturas de trabajo del cromatógrafo fueron 80, 150 y 170 °C en la columna, inyector y detectores, respectivamente.

6.2.6.4. Propiedades mecánicas. Esfuerzo de punción, compresión y tensión: Las propiedades mecánicas de las películas fueron evaluadas con base en la norma ASTM D882 (ASTM 2000); para ello, se utilizó un analizador de textura (TA-XT2i, Stable Micro Systems, UK). En las pruebas de esfuerzo de punción se aplicó una fuerza de 0.001 N mediante una sonda de aguja a una velocidad de ensayo de $0.001 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ hasta completar un recorrido de 0.05 m. En el esfuerzo de compresión se aplicó también una fuerza de 0.001 N pero se utilizó una sonda esférica de 2 mm de diámetro a una velocidad de ensayo de $0.001 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ hasta completar un recorrido de 0.050 m. Para el esfuerzo de tensión se adaptaron al equipo analizador de textura secciones rectangulares de películas de 0.07 m de largo y 0.015 m de ancho. Esta determinación se realizó a las mismas condiciones de fuerza, velocidad y distancia de recorrido empleadas en los esfuerzos de punción y compresión. Las mediciones fueron realizadas por triplicado.

6.2.6.5. Estructura microscópica. La microestructura de las películas biodegradables fue determinada mediante un microscopio electrónico de barrido (JSM-6390, JEOL, Akishima, Japón) de la Unidad de Microscopía Electrónica del Colegio de Postgraduados, operado a 15 KV. Se prepararon cortes de películas biodegradables de aproximadamente 3 mm de largo por 3 mm de ancho y fueron cubiertas con una capa fina de oro con un sistema de vacío (Ion Sputter JFC-1100, JEOL, Fine Coat). Finalmente, se fijaron sobre cinta de carbón con doble adhesivo de manera perpendicular a la superficie de un soporte y se procedió a su inspección.

6.3. Aplicación en frutos de papaya

6.3.1. Material biológico

Las papayas estudiadas fueron variedad Maradol; las cuales procedieron del estado de Oaxaca y fueron adquiridas en la Central de Abastos de la Ciudad de México, en donde se verificó que no fueran tratadas previamente con fungicidas, etileno, o algún otro agente que acelere la maduración. Posteriormente, se trasladaron al laboratorio de Fisiología Postcosecha del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la UACH, donde se almacenaron a 14 ± 1 °C durante aproximadamente cuatro horas, hasta iniciar sus tratamientos.

6.3.2 Tratamiento de la muestra

Los frutos utilizados se encontraban en 3/4 de madurez fisiológica, se seleccionaron de acuerdo al color de manera visual y se eliminaron aquellos frutos que presentaron daños mecánicos, fisiológicos, enfermedades o plagas. Los frutos seleccionados fueron lavados y desinfectados mediante ozonización en lotes de tres papayas, aplicando a cada lote dos ciclos de lavado con una duración de al menos 3 min/ciclo y haciendo un cambio de agua en cada lote, posteriormente se secaron con gasas estériles.

Se formaron cuatro lotes homogéneos con 25 frutos cada uno tal y como se describe en el Cuadro 5: 1) Tratamiento control ‘sin recubrimiento’ (SR), 2) ‘Infectados con hongo’ (ICH), 3) Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico (ICH + RB + EA), 4) Infectadas con hongo (ICH), La aplicación de recubrimientos biodegradables se realizó con la solución de mucílago 0.5 % y cera de

abeja 0.5 % (considerada como la mejor película con base en las propiedades evaluadas). El Cuadro 5 ilustra las condiciones en que se desarrolló el experimento. Los análisis de calidad postcosecha de las papayas fueron realizados al día 0, 5, 10, 15 y 20 de almacenamiento.

Cuadro 5. Condiciones de temperatura de almacenamiento de cuatro tratamientos para evaluar el potencial de uso de un recubrimiento biodegradable a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) y cera de abeja.

Tratamiento	Nomenclatura	Temperatura de almacenamiento	
		Días 0 – 15	Días 15 - 20
Tratamiento control ‘sin recubrimiento’	SR	13 ± 1 °C	Ambiente 20-25 °C
Infectados con hongo	ICH	13 ± 1 °C	Ambiente 20-25 °C
Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico	ICH + RB + EA	13 ± 1 °C	Ambiente 20-25 °C
Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable	ICH + RB	13 ± 1 °C	Ambiente 20-25 °C

6.3.3. Parámetros fisiológicos

6.3.3.1. Determinación de la tasa respiratoria. Para determinar la tasa respiratoria ($mL \text{ de } CO_2 \cdot kg^{-1}h^{-1}$) se colocaron los frutos en recipientes cerrados herméticamente de 4 litros de capacidad (un fruto por cada recipiente) y se almacenaron a 20 °C. Después de 2 horas se tomaron con ayuda de una jeringa 5 mL de muestra del aire del interior del recipiente y se colocaron en un recipiente de vidrio al vacío (vacutainer) de 5 mL; posteriormente se almacenaron en refrigeración (4 °C) hasta su evaluación. Para la evaluación, se tomó 1 mL de muestra gaseosa del espacio de cabeza del vacutainer con

una jeringa (1 mL) y se analizó por cromatografía de gases. Para ello se utilizó un cromatógrafo de gases marca Varian Star 3400® (USA), columna SS empacada Poropak N, 2 m x 3 mm de diámetro externo y 2 mm de diámetro interno, equipado con detector de termoconductividad (TCD) y detector de ionización de flama (FID). Las temperaturas de trabajo del cromatógrafo fueron de 80, 150, 250 y 170 °C para columna, inyector, auxiliar y detector, respectivamente. El tiempo de retención para identificar CO₂ fue de 0.81 min con estándares comerciales de CO₂ (INFRA®, México). Las concentraciones de los gases (CO₂ y etileno) en las muestras se determinaron mediante la siguiente ecuación:

$$mLCO_2 \cdot kg^{-1}h^{-1} = \frac{\left(\left[\frac{(Am - AT) * (CP)}{AbcP} \right] / (10000) \right)}{100} * \frac{esp\ vacio}{peso\ muestra\ (kg)}$$

Donde:

Am = área de la muestra

AT = área del testigo

CP = concentración del patrón de CO₂

Abc P = área del blanco patrón

esp vacío = volumen del frasco (L) – volumen de la muestra (L)

6.3.3.2. Determinación de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol). Las concentraciones de acetaldehído y etanol se determinaron por cromatografía de gases mediante la técnica de espacio de cabeza descrita por Davis y Chase (1969). Con un sacabocados de 1 cm de diámetro se tomó una muestra de pulpa de los frutos (5 g) y se introdujo en un vial de vidrio de 25 mL, éste inmediatamente se selló y enseguida se congeló con nitrógeno líquido, luego se mantuvo en congelación a –20 °C hasta el

momento de su determinación. Para hacer la cuantificación, las muestras congeladas se incubaron en baño maría a 60 °C durante 10 min para provocar la volatilización total de los compuestos de interés (acetaldehído y etanol). Luego se homogeneizó por 1 min y se tomó una muestra gaseosa del espacio de cabeza del vial con una jeringa (1 mL) y se inyectó en el mismo cromatógrafo de gases empleado para la determinación de la tasa respiratoria (medida como CO₂ producido). Las temperaturas de trabajo del cromatógrafo fueron de 160, 170, 170 y 170 °C en columna, inyector, auxiliar y detector, respectivamente; el gas de arrastre fue Helio. El tiempo de retención para identificar acetaldehído fue de 2.19 min y el de etanol de 3.9 min. Se realizó una curva para obtener las concentraciones de etanol y acetaldehído en las muestras analizadas, con estándares comerciales de etanol y acetaldehído (J.T. Baker®, México), Los valores registrados se reportaron en $mg \cdot 100 g^{-1}$.

6.3.4. Parámetros de calidad

6.3.4.1. Color externo. El color se midió en el espacio de color CieLab* y se expresó con los parámetros ángulo de tono, índice de cromaticidad y luminosidad. A partir de los valores de a^* y b^* se calculó el ángulo de tono ($^{\circ}Hue$), valor angular que indica el cuadrante correspondiente al color de la muestra en un sistema cartesiano, calculado como: $^{\circ}Hue = \tan^{-1}(b^*/a^*)$, donde el eje X corresponde a los valores de a^* y el eje Y a los de b^* (0° = color rojo-púrpura; 90° = color amarillo; 180° = color azul-verdoso y 270° = color azul) y el índice de cromaticidad (C), que indica la intensidad o concentración del color predominante dentro del cuadrante, calculado como $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ (McGuire, 1992). El color externo fue determinado como la media de 5 réplicas.

6.3.4.2. Determinación de pérdida de peso. Se determinó utilizando una balanza semianalítica marca OHAUS Scout Pro® (modelo SP6001). El resultado se determinó como la media aritmética de cinco repeticiones y se expresó como porcentaje de pérdida de peso respecto al peso inicial.

6.3.4.3. Determinación de firmeza. La firmeza se determinó con un texturómetro modelo TA-XT2I, marca Stable Micro Systems (Reino Unido) con una celda de carga de 5 kg. Se aplicó una rutina de medición de punción (con una sonda de aguja Batch No. 3426) en la superficie del fruto con una velocidad de ensayo de $1\text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. Los resultados se reportaron como la fuerza (N) necesaria para la penetración de la cáscara del fruto.

6.3.4.4. Determinación de sólidos solubles totales. El contenido de sólidos solubles totales (°Bx) se determinó con un refractómetro digital Atago® (modelo PAL-1; Atago Co. Ltd, Japón), con rango de medida de 0 a 53 %, el cual se calibró con agua desionizada a 25 °C. Los resultados se expresaron como la media aritmética de cinco repeticiones.

6.3.4.5. Determinación de pH. El pH se determinó con ayuda de un pH-metro Thermo Scientific® Orion® (modelo 3-Star Plus). Para realizar la determinación, se tomaron 10 g de muestra del fruto, se mezcló con 90 mL de agua destilada y se filtró. La solución obtenida se depositó en un vaso de precipitados de 250 mL y se le colocó el electrodo del pH-metro. El valor de pH se determinó como la media aritmética de cinco repeticiones.

6.3.4.6. Determinación de acidez titulable. Esta variable se evaluó por titulación directa de jugo de la pulpa de papaya con una solución de NaOH 0.1 N y fenolftaleína como indicador. Se calculó la cantidad de ácido cítrico presente en los frutos y se expresó como g de ácido cítrico por 100 g de peso fresco mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Ácido cítrico (\%)} = \frac{\text{gasto} \times N \times \text{meq} \times v_m}{p_m \times \text{alícuota}} \times 100$$

Donde:

Gasto =	gasto de NaOH (0.1 N) en mL
N =	normalidad del NaOH
Meq =	miliequivalentes de ácido cítrico = 0.064
Pm =	peso de la muestra (g)
Vm =	volumen recuperado (mL)

6.4. Evaluación del efecto del extracto antifúngico sobre antracnosis en frutos de papaya (*Carica papaya* L.)

6.4.1. Obtención de la solución de esporas de *Colletotrichum gloeosporioides*

Se realizó una siembra por superficie de *Colletotrichum gloeosporioides*, previamente aislado y purificado en el Centro de Asimilación Tecnológica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, en agar papa dextrosa y se incubó a 25 °C en fotoperiodo (luz blanca – luz negra, cada 12 h) durante 8 a 10 días aproximadamente (Agrios, 2005).

Para obtener la solución de esporas; a cada caja petri donde se realizó el crecimiento masivo del hongo, se le agregaron 10 mL de solución de Tween al 0.5 % (v/v), previamente esterilizada, y se rasparon las colonias con un bisturí estéril de manera que todas las esporas posibles fueran colectadas. Los lavados resultantes de las tres cajas se recogieron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL que se mantuvo en agitación constante. Posteriormente, las esporas se contaron mediante una cámara de Neubauer y a partir de ahí la suspensión se diluyó hasta ajustarla a una concentración de 1×10^6 esporas/mL.

6.4.2. Inoculación en frutos de papaya

Para la inoculación del *C. gloeosporioides*, las papayas seleccionadas y separadas en lotes de acuerdo al tratamiento a aplicar fueron lavadas como se describe en el apartado 6.3.2. Posteriormente, los frutos fueron inoculados con la suspensión de esporas, por frotación en áreas específicas, con ayuda de gasas estériles. Finalmente, fueron colocadas en una cámara frigorífica a 14 ± 1 °C y 90 % HR. El lote tomado como control no se inoculó, sin embargo, fue almacenado a las mismas condiciones que los otros tratamientos.

6.4.3. Evaluación de la actividad antifúngica del extracto

La concentración de aceite esencial de orégano utilizada en los ensayos, se determinaron a partir de tres diferentes concentraciones evaluadas ($1000 \mu\text{L L}^{-1}$, $2000 \mu\text{L L}^{-1}$ y $3000 \mu\text{L L}^{-1}$), las cuales presentan antecedentes de efecto antifúngico, que ya se han descrito en este trabajo.

El extracto de orégano a $3000 \mu\text{L L}^{-1}$ se incorporó a cada emulsión preparada, como se reporta en el cuadro de composición de emulsiones y películas biodegradables (Cuadro 4).

6.4.4. Determinación del índice de decaimiento

Para evaluar el efecto del extracto antifúngico sobre el control de *C. gloeosporioides*, se determinó el índice de decaimiento (IDC) simulando condiciones comerciales de almacenamiento (15 días a 14 ± 1 °C y 90 % HR., más 5 días a temperatura y humedad relativa del ambiente), evaluando el nivel de daño en la superficie del fruto de acuerdo al Cuadro 6.

Cuadro 6. Escala para la evaluación del índice de decaimiento.

Escala	Daño en la superficie del fruto
1	Sin daño
2	< 25 %
3	25 - 50 %
4	> 50 y < 75 %
5	75 - 100 %

Una vez asignada la escala de acuerdo al nivel de daño, el índice de decaimiento se determinó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$IDC = \sum \frac{(\text{No. de frutos por nivel} \cdot \text{Nivel de daño})}{\text{No. total de frutos}}$$

6.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos para la etapa de caracterización de la película biodegradable se efectuó mediante análisis multivariado de varianza (por sus siglas en inglés, MANOVA). Se calculó inicialmente la matriz de correlación de Pearson, que evidenció la existencia de correlación entre croma y viscosidad – permeabilidad a oxígeno – croma y, permeabilidad a CO₂ – croma. Se aplicó el procedimiento GLM y se empleó la técnica de comparación múltiple LSD (diferencia mínima significativa).

El análisis estadístico de los datos generados a partir de cada una de las variables respuesta medidas en la etapa de evaluación del efecto de la aplicación de la mejor película biodegradable al ser aplicada como recubrimiento en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) consistió en utilizar PROC GLM con arreglo factorial 4X8 y comparación por pares con prueba de Tukey. Para el análisis de los datos se emplearon los softwares estadístico SAS 9.0 – Cary, N.C., USA y Minitab® 17.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Aspecto de las emulsiones y de las películas

La turbidez y estabilidad de las emulsiones así como el brillo, opacidad y separación de fases de las películas tienen un efecto en la calidad del fruto recubierto (Navarro-Tarazaga, *et al.*, 2011). Diversos investigadores han observado una correlación entre la turbidez de las emulsiones y propiedades como la estabilidad, la capacidad de impregnar una superficie con tales emulsiones y el brillo del recubrimiento resultante (Osés, *et al.*, 2009; Ramos, *et al.*, 2013; Rezvani, *et al.*, 2013).

En el presente estudio, de las nueve formulaciones evaluadas, cinco fueron estables, es decir, no presentaron separación de fases inmediata ni después de 24 h de su preparación y cuatro de ellas no fueron estables, es decir, que presentaron separación de fases ya sea poco tiempo después de su preparación o después de varias horas (*i.e.*: de 12 a 24 h).

Por otra parte, las emulsiones con 0.2 y 0.4 partes de AO, independientemente del tipo de cera empleada (CA o CC), después de 24 h de su elaboración, presentaron una capa blanca y opaca enriquecida en lípido sobre la emulsión clarificada, que tras la agitación, volvía a dar una emulsión homogénea. Al respecto, algunos autores reportan que una modificación en el contenido y tipo de componente lipídico de las formulaciones afectará tanto la estabilidad de las emulsiones, como a las propiedades funcionales de las películas formadas (Han *et al.*, 2006; Chao *et al.*, 2010).

El Cuadro 7 resume el aspecto visual de las emulsiones preparadas en cuanto a sus características de turbidez, separación de fases inmediata, separación de fases después de

24 h de haber sido preparadas, opacidad y brillantez al aplicar como recubrimiento sobre frutos de papaya.

Cuadro 7. Evaluación visual del aspecto de nueve emulsiones a base de mucílago de nopal y cera.

Nomenclatura de película	Turbidez	Separación de fases inmediata	Separación de fases (a las 24 h)	Opacidad	Brillantez al aplicar en fruto
M	No	No	No	No	No
M-CA ₁ -AO ₁ -G-AE	Si	No	Si	Si	Si
M-CA ₂ -AO ₂ -G-AE	Si	Si	Si	Si	Si
M-CC ₁ -AO ₁ -G-AE	Si	No	Si	Si	Si
M-CC ₂ -AO ₂ -G-AE	Si	Si	Si	Si	Si
M-CA ₁ -TW ₁ -G-AE	Poca	No	No	Si	Si
M-CA ₂ -TW ₂ -G-AE	Poca	No	No	Si	Si
M-CC ₁ -TW ₁ -G-AE	Poca	No	No	Si	Si
M-CC ₂ -TW ₂ -G-AE	Poca	No	No	Si	Si

M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2; AO₁ = ácido oleico a la concentración 1; AO₂ = ácido oleico a la concentración 2; TW₁ = tween 80 a la concentración 1; TW₂ = tween 80 a la concentración 2; G = glicerol; EA = extracto antifúngico.

El contenido en cera de las formulaciones mostró un efecto en el aspecto de las emulsiones. La ausencia de lípido (CA o CC) en la formulación dio lugar a películas transparentes, de color ligeramente blanco, mientras que, la adición de lípido redujo la transparencia de las emulsiones y les aportó un color ligeramente amarillo (Figura 5). Algunos autores han observado también el efecto de los lípidos reduciendo la transparencia de emulsiones elaboradas a partir de una matriz hidrocoloide de distinto

tipo, particularmente cuando se incorporan componentes lipídicos (Valencia-Chamorro *et al.*, 2011; Sapei, *et al.*, 2012 y Byun, 2012).

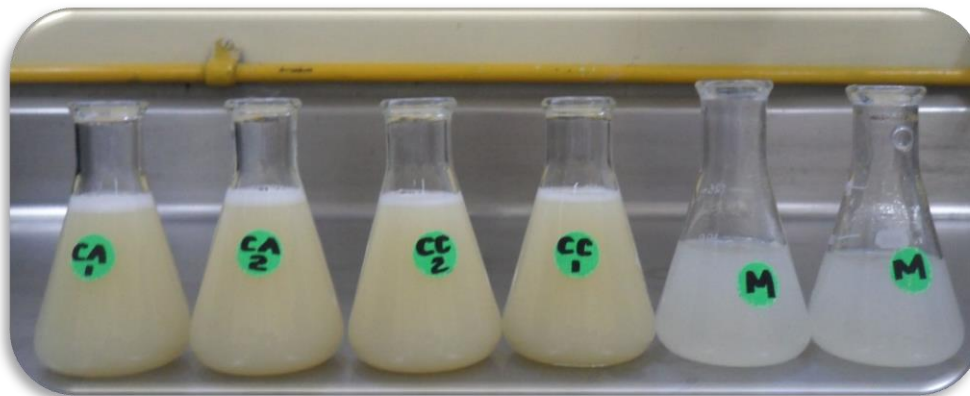


Figura 5. Emulsiones a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica* var. milpa alta) que resultaron estables.

En cuanto a la turbidez y opacidad de las emulsiones, estas variables aumentaron al incrementar el contenido de cera de las formulaciones. La turbidez y estabilidad de las emulsiones así como el brillo, opacidad y separación de fases de las películas tienen un efecto en la calidad del producto sobre el que se aplican (Navarro-Tarazaga, 2011).

Algunos investigadores han reportado, con base en estudios realizados, que la turbidez y estabilidad de las emulsiones y películas biodegradables depende, entre otros factores, del tamaño de partícula y contenido de lípido en suspensión (McClemets, 1999; Huang, *et al.*, 2001; Rao y McClements, 2012). En general, un aumento de tamaño de partícula y del contenido de lípido aumenta la turbidez y promueve, en cierto grado, la separación de fases de la emulsión y de la película resultante (Pérez-Gago y Krochta, 2009; Huang, *et al.*, 2001; Dickinson, 2008).

7.2. Caracterización de películas biodegradables

La matriz de correlación de Pearson evidenció que el 9 % de los coeficientes fueron superiores a 0.80 en las variables estudiadas. La Figura 6 representa las medias de los tratamientos sobre la primera variable canónica, con las barras de errores estándar que tienen longitudes iguales a la mitad de la LSD para comparar un par de medias. En esta gráfica, las barras de todos los tratamientos no se traslapan, por lo que son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

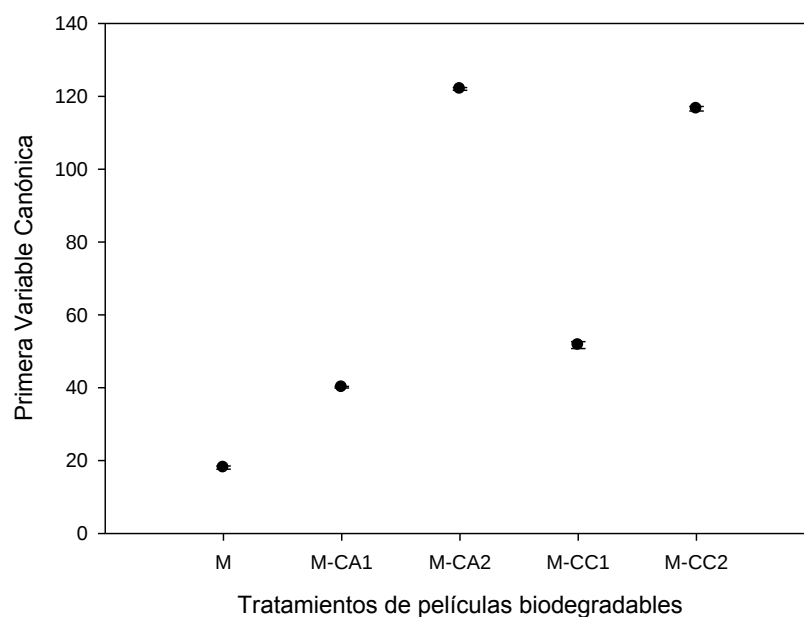


Figura 6. Representación gráfica de las medias de los tratamientos sobre la primera variable canónica. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2; AO₁ = ácido oleico a la concentración 1; AO₂ = ácido oleico a la concentración 2; TW₁ = tween 80 a la concentración 1; TW₂ = tween 80 a la concentración 2; G = glicerol; EA = extracto antifúngico.

Las características deseables para designar a la película biodegradable ideal son baja permeabilidad al vapor de agua, elevado esfuerzo de tensión y punción, poco espesor, elevada transparencia y elevado Hue y croma. Cada una de estas variables respuesta tiene coeficientes positivos en el cálculo de la primera variable canónica excepto luminosidad y transparencia. Por tanto, los mejores tratamientos son aquellos que tienen los valores más pequeños para su media para la primera variable canónica. Con base en la Figura 6, los tratamientos 1, 2 y 3 presentan valores considerablemente bajos en comparación con los tratamientos 4 y 5. No obstante, el tratamiento 1 presenta los valores más elevados de permeabilidad de agua, y por este hecho, su funcionalidad se ve afectada, de forma tal que, en términos prácticos, el tratamiento 2 es el que mejores características presenta.

7.2.1. Propiedades fisicoquímicas

7.2.1.1. Viscosidad. La viscosidad de las dispersiones de mucílago de nopal evaluadas mostró similitud estadística ($P \leq 0.05$) en las emulsiones formadas, independientemente del tipo y concentración de cera presente en su composición (Figura 7); sin embargo, existió diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en la formulación elaborada únicamente a base de mucílago de nopal.

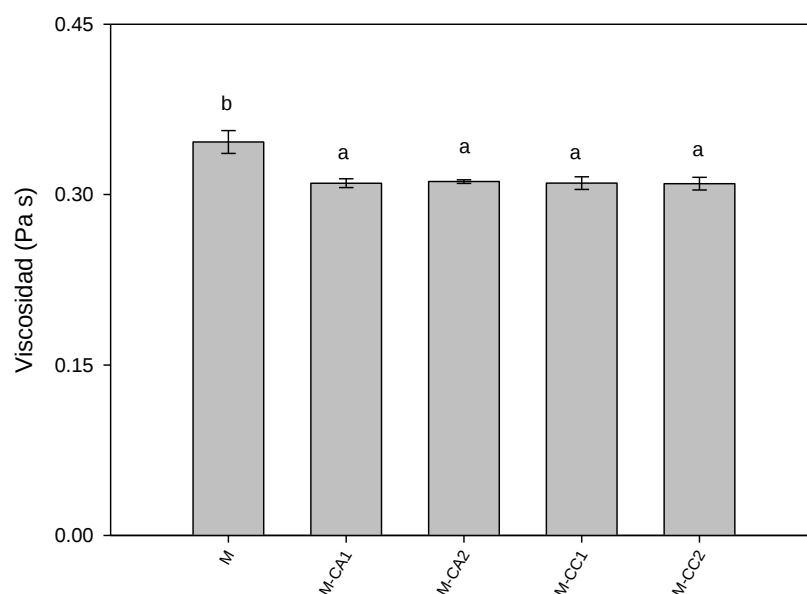


Figura 7. Viscosidad de (Pa · s) de diferentes emulsiones a base de mucílago de nopal y cera. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

El comportamiento de la viscosidad hallado en la presente investigación concuerda con el documentado por otros autores para dispersiones de mucílagos de diferentes especies de *Opuntia* (Cárdenas *et al.*, 1997; Medina-Torres, *et al.*, 2000; Abraján, 2008; Calvo, 2008), y al obtenido de otras fuentes vegetales, como semillas de *Alyssum homolocarpum* (Koocheki *et al.*, 2009), okra (*Hibiscus esculentus*) e *Irvingia gabonensis* (Ndjoyenkeu *et al.*, 1996).

Las gomas mucilaginosas utilizadas en la industria alimentaria son extraídas principalmente de semillas o tallos jóvenes de okra (*H. esculentus*), *Plantago* spp.,

mostaza amarilla (*Sinapis alba*) y lino (*Linum usitissimum*); estas gomas son preferidas sobre otras, debido a sus propiedades de viscosidad, gelificación y la capacidad para retener agua (Izydorczyk *et al.*, 2005). Se ha comprobado que los geles de mucílago de *Opuntia* al 10 %, muestran un comportamiento similar al de la goma xantana al 1 % (Medina-Torres *et al.*, 2000). Esta característica permite visualizar el gran potencial de los mucilagos de *Opuntia* spp. como agentes espesantes con uso industrial en la elaboración de alimentos, cosméticos, productos farmacéuticos y otros (Cárdenas *et al.*, 2007; Sáenz *et al.*, 2004). Por otra parte, se ha documentado que el contenido de mucílago determina la selección, aceptación por los consumidores y comercialización del nopalito, lo cual puede variar regionalmente (Razo y Sánchez, 2002) o por factores culturales (López-Palacios *et al.*, 2010).

7.2.2. Propiedades físicas

7.2.2.1 Color. Para los consumidores, el color es uno de los principales atributos que afectan la percepción de la calidad de los alimentos (Oms-Oliu *et al.*, 2010; Sant’Anna *et al.*, 2013); por esta razón, es más que necesario que cualquier tecnología postcosecha (incluidos los recubrimientos y películas biodegradables) altere lo menos posible el color original del producto sobre el que se aplican.

Luminosidad. Sant’Anna *et al.*, (2013) mencionan que el índice L^* está relacionado con la luminosidad; de acuerdo a esta propiedad, cada color puede ser considerado como equivalente a un miembro en la escala de grises, es decir, entre negro ($L^* = 0$) y blanco ($L^* = 100$). Los valores de luminosidad que presentaron los tratamientos evaluados se encuentran en el intervalo de 80 – 90 %.

La luminosidad de las películas biodegradables varió con el tipo de componente lipídico (Figura 8); es decir, las películas que incluyeron cera de abeja en su formulación, presentaron mayor luminosidad que aquellas películas elaboradas con cera carnauba y, estas últimas, presentaron mayor luminosidad que las elaboradas solo con mucílago de nopal.

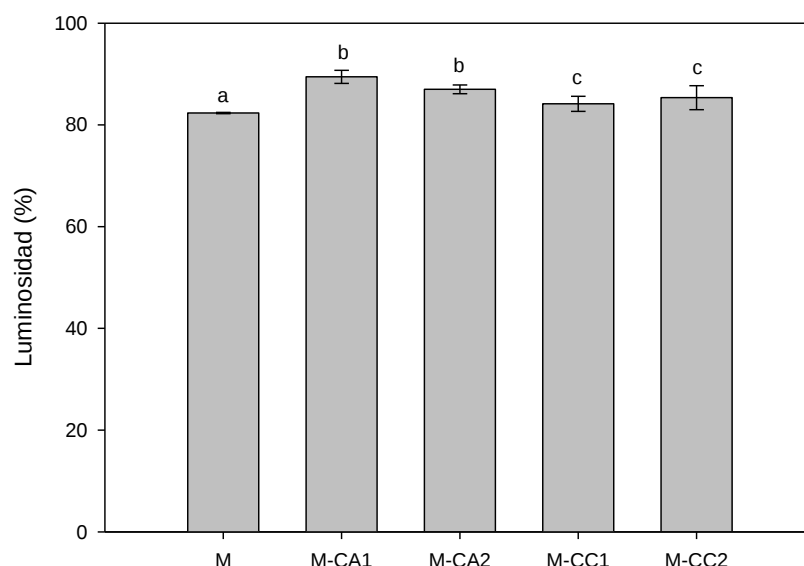


Figura 8. Luminosidad de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Ángulo de tono (*hue*). Los tratamientos evaluados presentaron diferencia significativa ($P \leq 0.05$) asociada a la formulación de las películas biodegradables. Se encontró que las películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal presentaron valores más

altos de *Hue* en comparación con las elaboradas a base de mucílago con cera de abeja y mucílago con cera de carnauba. El *Hue* es el valor en grados que define el color correspondiente en un diagrama tridimensional (*i.e.*, 0° para rojo, 90° para amarillo, 180° para verde y 270° para azul) tal y como son observados por el ojo humano (Sant’Anna *et al.*, 2013). Los valores del ángulo de tono ‘*Hue*’ obtenidos para esta investigación, sugieren que en el caso de las películas biodegradables evaluadas, el color se encontró definido principalmente por el tipo de lípido empleado más que por la concentración del mismo (Figura 9).

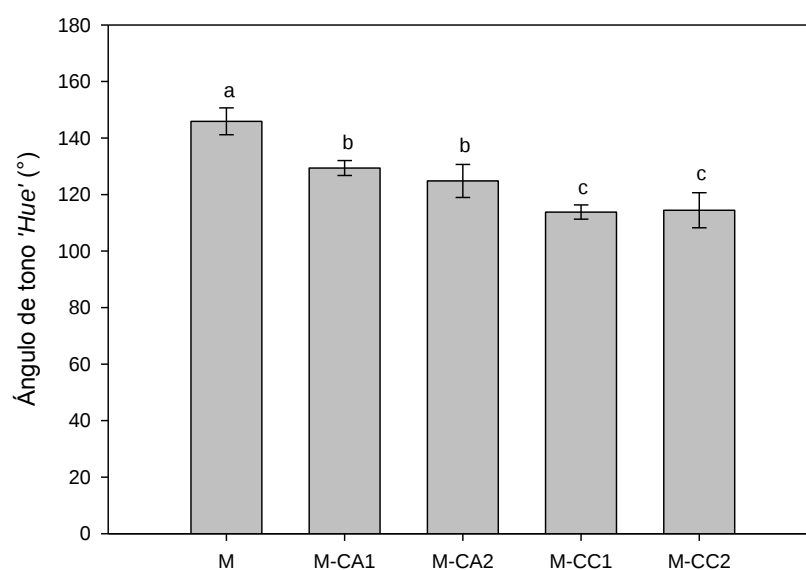


Figura 9. Ángulo de tono (*hue*) de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Los valores obtenidos para las películas M-CC₁ y M-CC₂ se encuentran ambos más cercanos a los 90° que las películas M-CA₁ y M-CA₂, lo que significa que la cera de carnauba confiere tonos de color que tienden más a colores amarillos que a verdes. Por otro lado, las películas biodegradables preparadas a base de mucílago de nopal, se acerca más que todas las otras a los 180°, lo cual implica que tiende más a tonos verdes que amarillos.

Los valores de *Hue* encontrados en esta investigación son consistentes con los reportados por Pires *et al.*, (2011) quienes caracterizaron películas biodegradables a base de proteínas y aceites esenciales y obtuvieron valores de *Hue* en el intervalo de 106 a 107; sin embargo, difieren ligeramente de los reportados por Espino-Díaz *et al.*, (2010), que se encontraron en el intervalo de 96.76 a 99.59, lo que los sitúa en una posición más cercana a los tonos amarillos en la esfera de color CIELAB.

Índice de saturación o ‘Croma’: Dado que en el mundo real encontramos mezclas de colores, la saturación es el atributo del color que es esencial para describir las infinitas variaciones del color; además, el croma provee información acerca de la viveza de un color. En esta investigación, en general se hallaron valores bajos de croma (Figura 10), sin embargo, cabe destacar que el valor de croma encontrado para películas biodegradables elaboradas exclusivamente a base de mucílago de nopal fue significativamente ($P \leq 0.05$) mayor que el obtenido en todas las demás formulaciones. Esta tendencia puede deberse a que la adición de lípidos en las formulaciones produjo un enturbiamiento de las emulsiones preparadas, y como resultado, al momento de formar películas, estas tomaron colores menos ‘puros’.

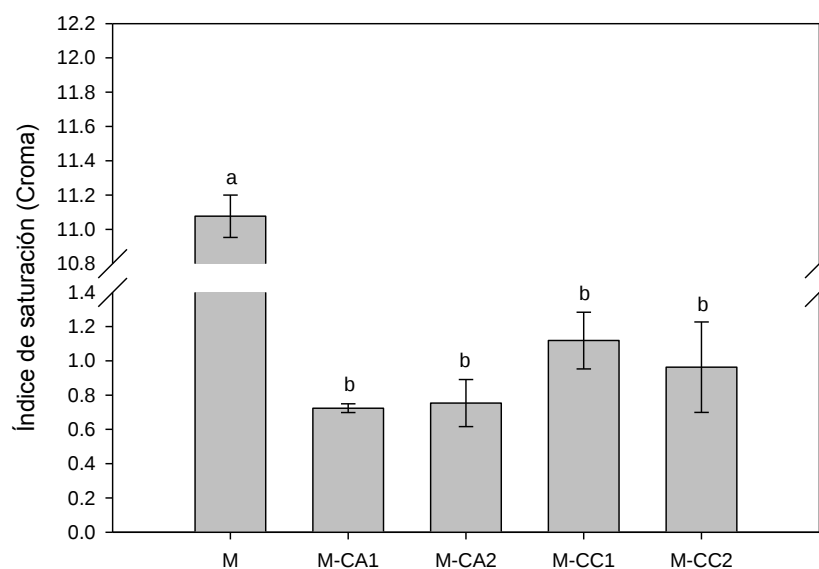


Figura 10. Índice de cromaticidad de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Los valores obtenidos en esta experiencia, son similares a los reportados por Chana-Thaworn *et al.* (2011) y ligeramente diferentes a los reportados por Pires *et al.*, (2011) en relación a las películas formadas a partir de dos componentes. Para el caso de las películas elaboradas a partir de mucílago de nopal, los valores obtenidos de croma, son muy similares a los reportados por Espino-Díaz *et al.*, (2010), quienes caracterizaron películas biodegradables a base de mucílago de nopal.

Transparencia. El porcentaje de transparencia de las películas biodegradables con y sin extracto de orégano fue relativamente baja (Figura 11), pero fue significativamente más

alta ($P \leq 0.05$) para las películas M, M-CA₁ y M-CA₂ que para las películas M-CC₁ y M-CC₂. Los resultados obtenidos sugieren un efecto del tipo de componente lipídico empleado en la formulación de las películas biodegradables; no obstante, no se encontró diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en cuanto a las concentraciones evaluadas.

Los valores de porcentaje de transparencia que presentaron las películas elaboradas a base de emulsiones mucílago de nopal-cera de abeja o carnauba, en general, fueron similares a los reportados por Pires *et al.*, (2011) y Pires *et al.*, (2013) no obstante que, los valores de transparencia reportados por estos investigadores, fueron calculados mediante la ecuación reportada por Shiku *et al.*, (2003) y consecuentemente los autores explican que de acuerdo a esta ecuación, valores de transparencia altos indican una baja transparencia.

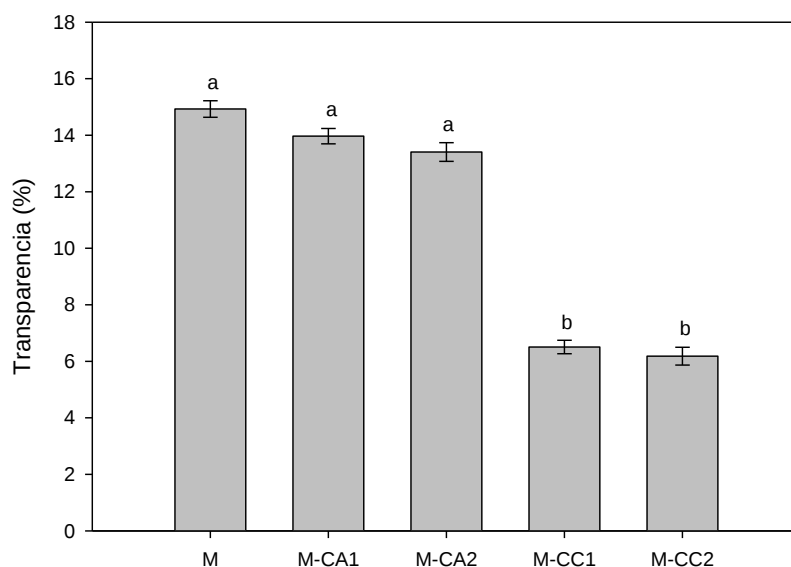


Figura 11. Transparencia de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

7.2.3. Propiedades de barrera

7.2.3.1. Espesor. La diferencia de los espesores de las películas biodegradables fue no significativa ($P \leq 0.05$) entre las formulaciones que incluían componente lipídico en su composición independientemente del tipo y la concentración presente del mismo (Figura 12). Las películas elaboradas únicamente a base de mucílago de nopal, presentaron menor espesor en relación a las formuladas a base de mucílago de nopal y cera, lo que sugiere que, la adición de elementos formadores de matrices estructurales afecta de manera directa al espesor de las películas formadas.

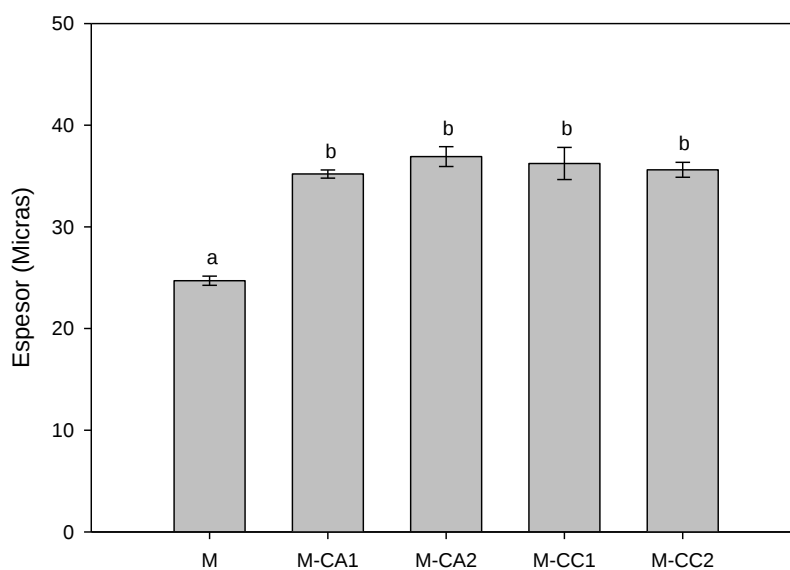


Figura 12. Espesor de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Cabe destacar que estos resultados obtenidos, son consistentes con las determinaciones de espesor realizadas a películas biodegradables con la misma formulación mediante estudios de microscopía electrónica de barrido.

Por otra parte, los valores de espesor determinados en este trabajo, son muy similares a los reportados por Al-Hassan y Norziah (2012) quienes evaluaron esta misma variable en películas elaboradas a base de almidón de sagú-gelatina de pescado adicionadas con glicerol o sorbitol como plastificante y obtuvieron valores de espesor en el intervalo de 0.05 y 0.07 mm para todas sus películas, así como los obtenidos por Jouki *et al.*, (2014) quienes reportaron valores de espesor en el rango de 0.063 a 0.076 mm en películas elaboradas a base de mucílago de semillas de membrillo.

7.2.3.2. Permeabilidad a vapor de agua. La permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas biodegradables es uno de los parámetros más importantes que definen su funcionalidad. Esta propiedad cuantifica la efectividad de la película para prevenir los intercambios de humedad entre el alimento y el ambiente que le rodea, proceso que afecta la firmeza y apariencia del producto (Sánchez-González *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2014).

Los valores de la permeabilidad al vapor de agua de las películas biodegradables fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) entre algunos tratamientos evaluados. Así, se encontró que películas biodegradables elaboradas exclusivamente de mucílago de nopal, presentaron valores más grandes de PVA en relación a aquellas películas que contenían algún componente lipídico en su formulación (hasta 3.1 veces más que las películas con la menor PVA), independientemente de la concentración del mismo.

Al respecto se sabe que, si bien el mucílago de nopal posee características para ejercer como matriz estructural en la elaboración de recubrimientos y películas biodegradables (Garti y Lesesr, 2001; Espino-Díaz, *et al.*, 2010), la función fisiológica para la que este carbohidrato complejo se encuentra diseñado en la naturaleza es precisamente la de retener agua en las células de algunas plantas donde se encuentra presente. Este hecho, además de su naturaleza hidrocoloide, explica adecuadamente la relativamente alta PVA de las películas elaboradas exclusivamente a base de mucílago de nopal.

Por otra parte, no se encontró efecto significativo ($P \leq 0.05$) de la concentración de componente lipídico sobre los tratamientos evaluados pero sí en cuanto al tipo; así, las películas elaboradas con cera carnauba, presentaron valores más altos de PVA (hasta 1.3 veces más que las películas con la menor PVA) en comparación con las elaboradas con cera de abeja. El comportamiento similar de los tratamientos con el mismo tipo de componente lipídico podría deberse a que no se evaluaron varias concentraciones de mucílago-cera, o el intervalo de las que se evaluaron, no fue lo suficientemente amplio como para mostrar un efecto significativo. En este sentido, Wu *et al.*, (2013) realizaron una investigación en donde reportan no haber encontrado diferencia significativa entre tratamientos que evalúan el efecto de diferentes concentraciones de carboximetilquitosano – pululano sobre la PVA de películas biodegradables en el intervalo de 0:0.4 a 4:0.

Las películas elaboradas a base de mucílago de nopal y cera de abeja presentaron la menor PVA con un valor de $0.8 \text{ g} \cdot \text{mm} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-2} \cdot \text{h}$. Estos valores sugieren que películas biodegradables elaboradas a partir de mucílago de nopal y cera de abeja podrían actuar como una buena barrera ante la migración de humedad del producto recubierto con su atmósfera circundante.

La Figura 13 ilustra el efecto de los tratamientos evaluados sobre la PVA de las películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal – cera de abeja a dos ratios diferentes de concentración.

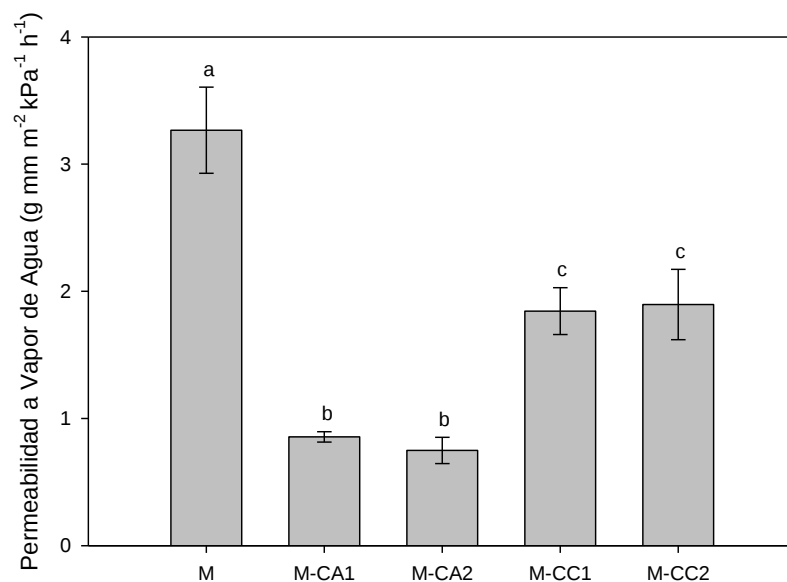


Figura 13. Permeabilidad a vapor de agua de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

Los resultados obtenidos en este trabajo, son muy similares a los reportados por Wu *et al.*, (2013) quienes obtuvieron valores de PVA en el intervalo de 0.4 a 0.9 g · mm · m⁻² · kPa⁻² · h para películas biodegradables a base de quitosano – pululano y carboximetil quitosano – pululano en diferentes ratios de concentración. Así mismo, son consistentes con los reportados por Peretto, *et al.*, (2014) quienes reportaron valores de PVA en el

intervalo de 0.61 a 0.92 $\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-2} \cdot \text{h}$ para películas biodegradables que incluían carvacrol y metil cinamato en su formulación.

7.2.3.3. Permeabilidad a gases (O_2 y CO_2). El oxígeno es el factor clave que podría causar oxidación, lo que puede originar varios cambios en los alimentos en el olor, color, sabor y deterioro de nutrientes (Wang *et al.*, 2011). La obtención de películas con una barrera adecuada al oxígeno puede ayudar a mejorar la calidad del alimento y a extender su vida útil (Sothornvit y Pitak, 2007). Generalmente, las películas biopoliméricas hidrofílicas han mostrado buenas propiedades de barrera al oxígeno.

Los valores de la permeabilidad al oxígeno (PO) de las películas biodegradables fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) entre algunos tratamientos evaluados (Figura 14).

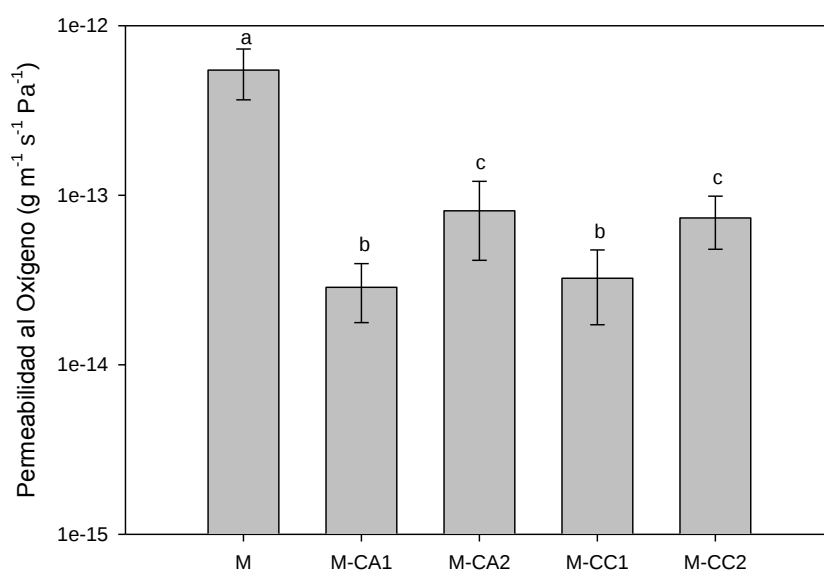


Figura 14. Permeabilidad al Oxígeno de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal. M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales

representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

El valor más alto de PO fue el de las películas a base de mucílago de nopal ($5.47 \times 10^{-13} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) y el más bajo fue el de las películas a base de mucílago-cera de abeja₁ ($8.1 \times 10^{-14} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$).

Además, el tipo de cera en la formulación ejerció un efecto significativo ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos, aunque no se observa este mismo comportamiento en relación a la concentración del mismo; es decir, las películas biodegradables que incluyeron cera de abeja o cera de carnauba a la misma concentración, no presentaron diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

En cuanto a la permeabilidad al dióxido de carbono (PCO_2), los valores de la de las películas biodegradables fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) entre algunos tratamientos evaluados (Figura 15). El valor más alto de (PCO_2) fue el de las películas a base de mucílago de nopal ($6.4 \times 10^{-14} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) y el más bajo fue el de las películas a base de mucílago-cera carnauba₁ ($2.2 \times 10^{-14} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$).

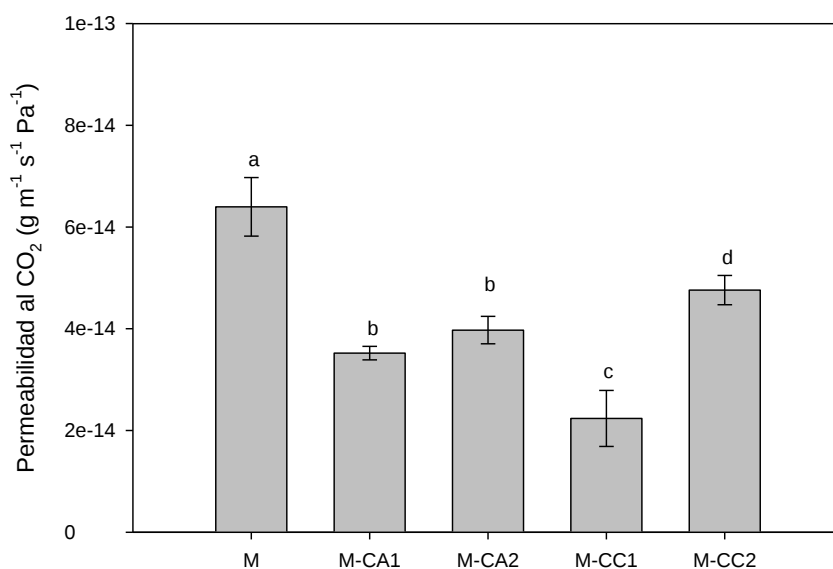


Figura 15. Permeabilidad al dióxido de carbono (PCO_2) de diferentes películas biodegradables a base de mucílago de nopal. M = mucílago de nopal en relación 1; CA_1 = cera de abeja a la concentración 1; CA_2 = cera de abeja a la concentración 2; CC_1 = cera de carnauba a la concentración 1; CC_2 = cera de carnauba a la concentración 2. Las barras verticales representan la media de cinco repeticiones $\pm$ su desviación estándar. Las letras diferentes indican diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

7.2.4. Propiedades mecánicas (Esfuerzo de Tensión y Punción)

Las propiedades mecánicas de las películas se encuentran directamente relacionadas con su estructura química (Fabra *et al.*, 2010). Los valores de esfuerzo de tensión encontrados en películas biodegradables a base de mucílago de nopal podrían ser dependientes de factores tales como el tamaño de las moléculas, las asociaciones intra e intermoleculares, el peso molecular del mucílago y la distribución del peso molecular (Espino-Díaz *et al.*, 2010).

De acuerdo con Lazaridou *et al.*, (2003) las propiedades funcionales de los biopolímeros van a estar en función del grado de desorden de sus moléculas, cuyas interacciones dependen principalmente del espacio disponible para ellas o de que tan capaces sean las estructuras de establecer asociaciones dentro de redes compactas.

Las propiedades mecánicas de las películas biodegradables están fuertemente afectadas por la humedad relativa. En general, en tanto la humedad relativa aumente, el esfuerzo de tensión decrece (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2008).

En el Cuadro 8 se reportan las propiedades mecánicas evaluadas de las películas biodegradables caracterizadas en esta investigación. Puede notarse que los valores más bajos de esfuerzo de tensión y esfuerzo de punción, son los reportados para películas biodegradables elaboradas exclusivamente a base de mucílago de nopal, en tanto que, los valores más altos fueron los que reportan las películas elaboradas a partir de cera de abeja a la concentración 2.

Cuadro 8. Esfuerzo de punción y esfuerzo de tensión de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal y de mucílago de nopal con cera (de abeja o carnauba).

Nomenclatura de película	Esfuerzo de Punción (Mpa)	Esfuerzo de Tensión (Mpa)
M	1.092 ± 0.015	0.887 ± 0.012
M-CA ₁	2.43 ± 0.11	2.45 ± 0.14
M-CA ₂	7.3 ± 0.22	6.65 ± 0.17
M-CC ₁	1.88 ± 0.1	1.21 ± 0.02
M-CC ₂	5.88 ± 0.33	4.85 ± 0.25

M = mucílago de nopal en relación 1; CA₁ = cera de abeja a la concentración 1; CA₂ = cera de abeja a la concentración 2; CC₁ = cera de carnauba a la concentración 1; CC₂ = cera de carnauba a la concentración 2.

Diversos estudios reportan que los valores de esfuerzo de tensión de las películas biodegradables pueden ser bastante variables entre sí (Chiou, *et al.*, 2009; Galus y Lenart, 2013; Kanmani y Lim, 2013; Pérez *et al.*, 2014), principalmente en función del tipo y la concentración del polímero empleado para su elaboración. Así mismo, las características mecánicas de una película biodegradable pueden ser mejoradas mediante el empleo de mezclas de polímeros; sin embargo, los valores obtenidos en esta experiencia, son similares a los reportados por Soazo *et al.*, (2011) quienes evaluaron el efecto de la temperatura y el contenido de cera de abeja sobre las propiedades físicas de emulsiones de proteína de trigo, y a los reportados por Taqi *et al.*, (2013) quienes evaluaron el esfuerzo de tensión de películas biodegradables a base de complejos almidón – pectina con diferentes concentraciones de aceite esencial de *Laurus nobilis* y ácido oleico.

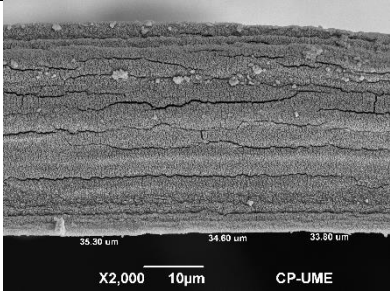
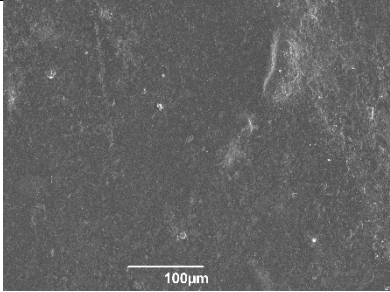
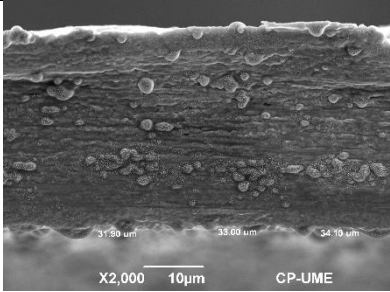
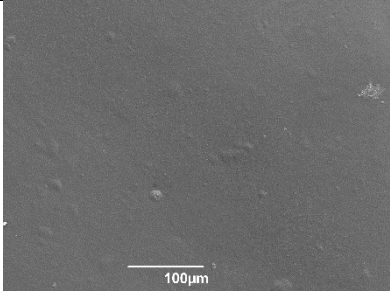
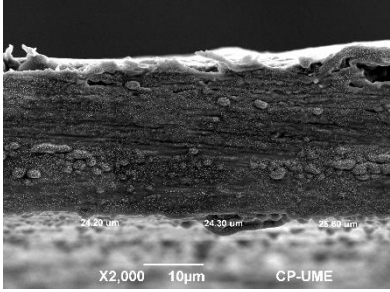
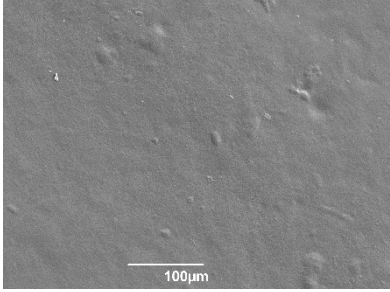
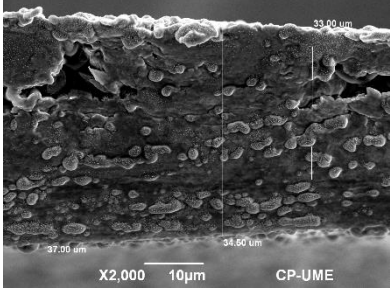
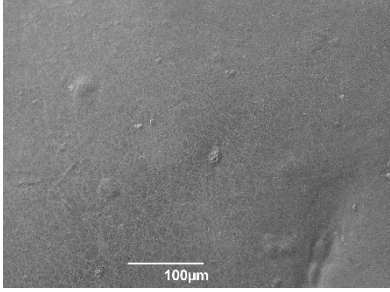
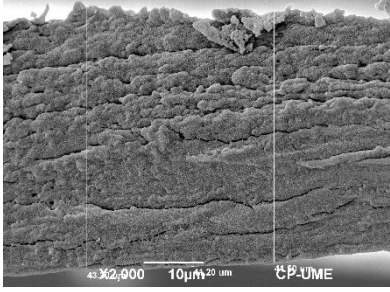
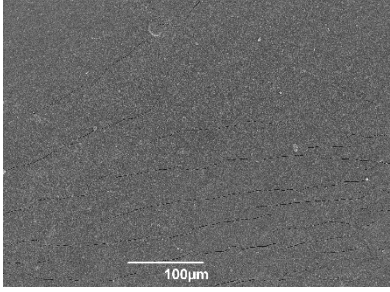
7.2.5. Estructura microscópica

Es un hecho que, la apariencia transparente de las películas biodegradables solo dan información parcial sobre la estructura de la película (Phan, *et al.*, 2009b). El Cuadro 9 muestra cortes de la sección transversal de las diferentes películas formuladas (imágenes en el lado izquierdo del cuadro), así como una vista de su superficie (imágenes del lado derecho del cuadro). Puede apreciarse que la estructura del corte transversal de la película elaborada exclusivamente a base de mucílago de nopal no presenta las gotitas del componente lipídico que presentan los cortes transversales de las formulaciones (M-CA₁, M-CA₂ y M-CC₁).

Se observa también que en la película biodegradable M-CC₂ no se visualizan las pequeñas gotitas emulsificadas, pese a que la formulación incluye también cera de carnauba a la concentración 2; esto puede ser posiblemente asociado a una baja interacción en la interfase o a una baja estabilidad de los complejos mucílago-cera carnauba, quienes finalmente formaron agregados carentes de un arreglo bien estructurado.

La superficie de las películas biodegradables elaboradas resultó ser más o menos regular, con excepción de las películas biodegradables elaboradas a base de mucílago y cera de carnauba a la concentración 2 (M-CC₂), cuya superficie muestra grietas bien definidas en su superficie, lo que puede ser explicado por la formación de ríos en las soluciones formadoras de película al momento de la preparación.

Cuadro 9. Vista de las secciones transversal y superficial de las diferentes películas.

 M	 M
 M-CA₁	 M-CA₁
 M-CA₂	 M-CA₂
 M-CC₁	 M-CC₁
 M-CC₂	 M-CC₂

7.3. Aplicación de película biodegradable en papaya (Modelo Mixto)

En este segundo análisis se obtuvieron los estadísticos de ajuste o criterios de información para cada una de las variables en estudio. Como criterios de ajuste del modelo se consideró, en primer lugar, la verosimilitud y los criterios de información de Akaike y Bayesiano. Estos se basan en estimaciones de la pérdida de información, son insesgados, de mínima varianza, y adaptables a experimentos con datos desbalanceados (desigual número de observaciones por celda).

El AIC toma en cuenta la entropía presente en los datos y el BIC calcula la probabilidad *a posteriori* y además, incorpora información externa al estudio. Estos criterios penalizan el logaritmo de la función de verosimilitud por el número de parámetros, la mayor parte de las veces desde la formulación marginal del modelo (Vallejo *et al.*, 2010). Para lograr un mejor ajuste del modelo se eligieron los estadísticos que mostraron menor valor para ambas variables.

Cuadro 10. Análisis de varianza para las variables en estudio, según el modelo mixto.

Variable	Coefficiente de determinación (R^2)	Coefficiente de Variación	Pr > F
SST	0.9041	4.1111	<.0001
%PP	0.9952	8.0007	<.0001
pH	0.9014	2.4390	<.0001
Firmeza	0.9072	10.3725	<.0001
AT	0.9952	8.0007	<.0001

SST=sólidos solubles totales, %PP= porcentaje de pérdida de peso, AT=acidez titulable.

En postcosecha, las frutas y hortalizas, al ser productos perecederos experimentan un proceso acelerado de degradación y senescencia caracterizado por una serie de cambios

del estado físico y pérdida de propiedades fisicoquímicas, sensoriales y nutricionales debidas al metabolismo del propio organismo (Toivonen y Brummell, 2008).

Las películas biodegradables se utilizan como una cubierta sobre los alimentos; el mecanismo por el cual estos recubrimientos conservan la calidad de las frutas es debido a que crean una barrera a los gases, produciendo una atmósfera modificada alrededor del producto. Esta atmósfera reduce la disponibilidad de O_2 e incrementa la concentración de CO_2 , de manera tal que se reduce la tasa de respiración y la pérdida de agua, entre otros procesos, aumentando así la vida útil del producto (Valencia-Chamorro *et al.*, 2009).

7.3.1. Parámetros fisiológicos

7.3.1.1. Determinación de acetaldehído y etanol. Al aplicar recubrimientos que ejercen una barrera a O_2 y CO_2 se podría producir una modificación en la atmósfera interna del fruto con un incremento en el contenido de CO_2 y un empobrecimiento en O_2 (Banks *et al.*, 1993 y Cisneros-Zevallos y Krochta, 2002), con el consiguiente incremento de los niveles de acetaldehído y etanol en el fruto.

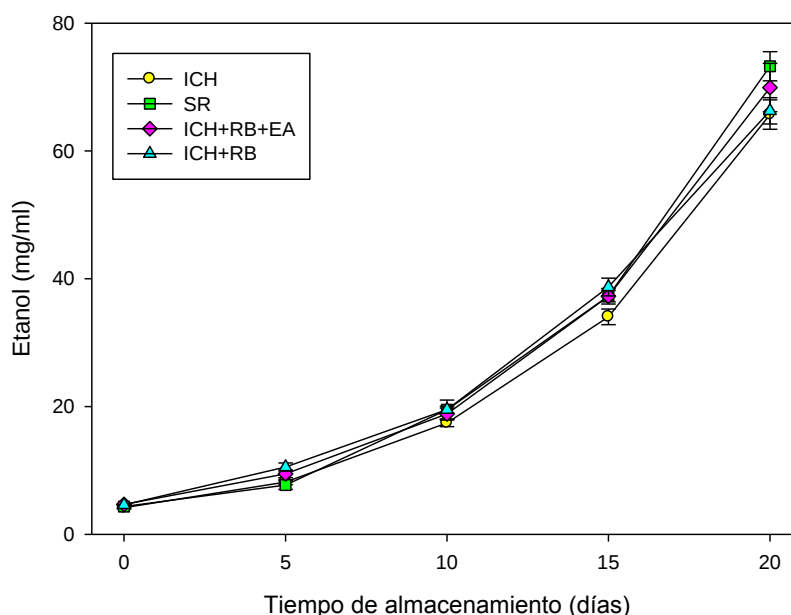


Figura 16. Evolución del contenido de etanol en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infectadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) $n=5$.

La figura 16 muestra el contenido de etanol en papayas a través del tiempo de almacenamiento. Se observó un incremento de los niveles de etanol y acetaldehído al prolongar el almacenamiento. Los frutos del tratamiento SR dieron lugar a valores mayores de etanol que el resto de los recubrimientos.

El acetaldehído aumentó de manera de manera significativa en el día 15 del almacenamiento (Figura 17), lo cual podría ser explicado con base en las condiciones de temperatura establecidas en ese punto.

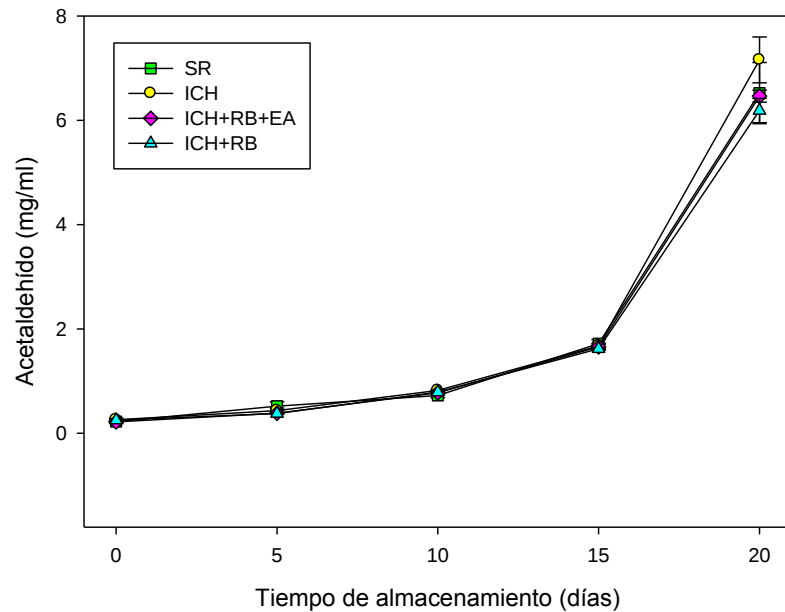


Figura 17. Evolución del contenido de acetaldehído en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infectadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) $n=5$.

7.3.1.2. Determinación de la tasa respiratoria (CO₂). Los tratamientos evaluados (ICH, SR, ICH+RB+EA, ICH+RB) se encontraron estadísticamente diferentes entre sí ($P \leq 0.05$). En general, la concentración de CO₂ presentó un incremento a través del tiempo de almacenamiento (Figura 18) en los cuatro tratamientos evaluados, sin embargo, tal aumento fue hasta tres veces mayor en los tratamientos infectados con hongo (ICH) y sin recubrimiento (SR). Se observa un incremento significativo durante los primeros cinco

días de almacenamiento, en los cuatro tratamientos mientras que, a partir de este tiempo se el incremento en la producción de CO₂ es marcadamente diferente para tratamiento con y sin recubrimiento biodegradable.

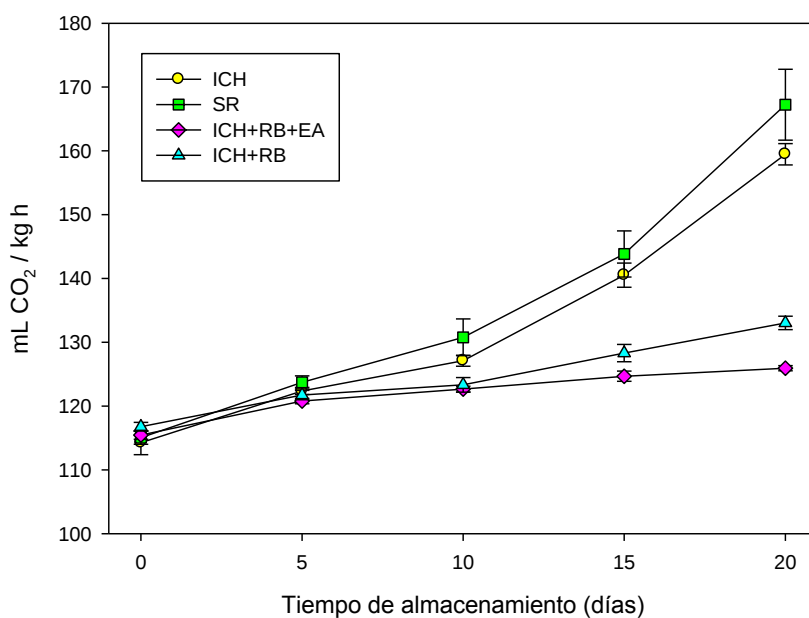


Figura 18. Evolución de la tasa respiratoria (mLCO₂/kg · h) en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infectadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) n=5.

7.3.2. Determinación de parámetros de calidad

7.3.2.1. Color. En general, al prolongar el almacenamiento, los valores del ángulo de tono *Hue*, de los diferentes tratamientos evaluados se vieron disminuidos, lo que se tradujo en

un cambio de coloración de los tonos verdes a los amarillos. Los tratamientos sin recubrimiento biodegradable fueron los que presentaron mayores cambios en la coloración, mientras que los recubiertos, presentaron menos tal cambio. Los valores de saturación del color, se encuentran en la parte más externa de la gráfica, lo que indica colores bien definidos y con cierta pureza.

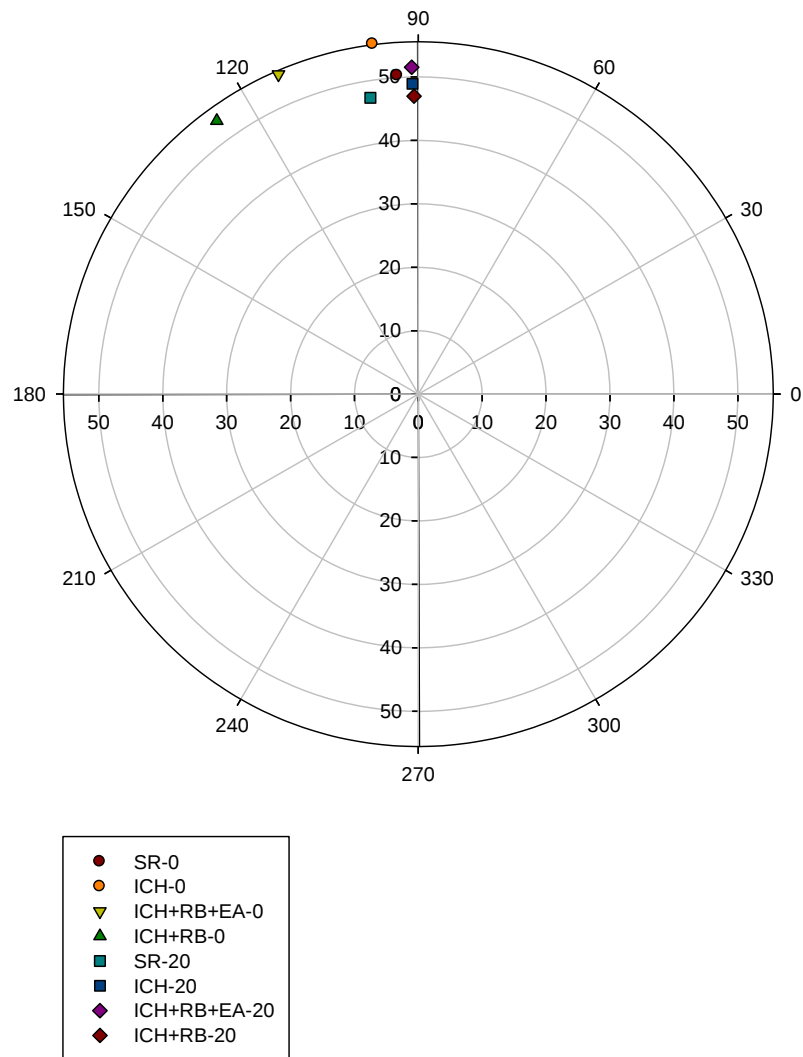


Figura 19. Evolución del color de papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infectadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infectadas con hongo más

recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) $n=5$.

En resumen, la aplicación de recubrimientos biodegradables retardó el cambio de coloración en los frutos, lo que tiene que ver de manera directa con un incremento en vida útil, y muy probablemente con calidad composicional del producto.

7.3.2.2. Pérdida de peso. En general, el porcentaje de pérdida de peso incrementó con el tiempo de almacenamiento. La Figura 20 muestra diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos con recubrimiento (ICH+RB+EA; ICH+RB) y sin recubrimiento biodegradable (ICH; SR). De los cuatro tratamientos evaluados, puede notarse que el incremento en la pérdida de peso fue mayor en los tratamientos sin recubrimiento y menor en los tratamientos recubiertos; además, las pérdidas de peso que registraron los tratamientos sin recubrimiento representan casi el doble de las que registran los tratamientos con recubrimiento.

En frutos de papaya, se considera que la principal vía para que se presente la pérdida de peso es a través de la piel (Seymour, 1993). Al parecer, los tratamientos con recubrimiento biodegradables a base de mucílago de nopal y cera de abeja aplicados formaron una barrera adicional en la superficie del fruto que evitó considerablemente la migración de humedad hacia el medio a través de los estomas.

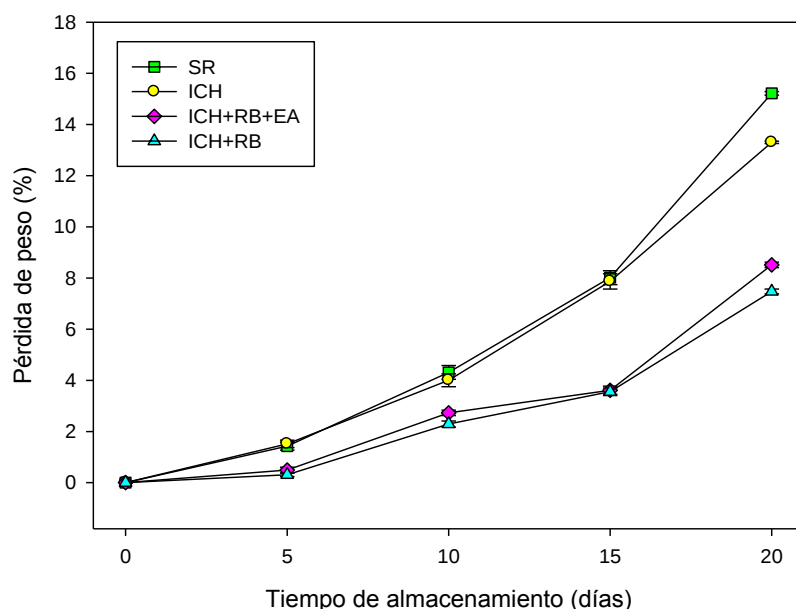


Figura 20. Evolución de la pérdida de peso (%) en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infectadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) $n=5$.

Diversos estudios han evaluado el efecto de la aplicación de recubrimientos sobre la pérdida de peso de diferentes productos hortofrutícolas (Pérez-Gago, *et al.*, 2006); en el caso particular de frutos de papaya, en un estudio realizado por Ali *et al.*, (2011) lograron reducir las pérdidas de peso hasta 2 y 3 % mediante la aplicación de recubrimientos a base de quitosano al 2 % en frutos de papaya (*Carica papaya*) variedad Eksotik II en un periodo de almacenamiento de cinco semanas. En el presente estudio, se reportan pérdidas de peso de entre 7 y 8 % para frutos de papaya variedad Maradol mediante la aplicación de

recubrimientos biodegradables a base de mucílago de nopal al 0.5 % en un periodo de almacenamiento de 20 días.

7.3.2.3. Firmeza. En el caso de la papaya, la firmeza es el atributo principal que dicta su vida útil y calidad en postcosecha (Ali *et al.*, 2011; Mustaffa *et al.*, 2013; Waghmare y Annapure, 2013). La disminución de la firmeza en frutos puede ocurrir principalmente por medio de dos mecanismos de acción. El primer mecanismo se debe al rompimiento de carbohidratos poliméricos que ocurre durante la maduración, lo que causa el debilitamiento de las paredes celulares (Mustaffa *et al.*, 2013; Iniestra-González, *et al.*, 2013). El segundo mecanismo que contribuye a la pérdida de firmeza del fruto está relacionado a la pérdida de agua por transpiración que genera pérdida en la turgencia celular (García y Barret, 2002).

En este experimento, la firmeza de las papayas disminuyó gradualmente con el tiempo de almacenamiento. La figura 21 muestra diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en el efecto de los tratamientos con recubrimiento (ICH+RB+EA; ICH+RB) y sin recubrimiento biodegradable (ICH; SR) sobre la pérdida de firmeza durante el almacenamiento. Las papayas del tratamiento que más perdieron firmeza fueron las del ICH (infectado con hongo), quienes registraron pérdidas de hasta 76.5 % en relación al valor de firmeza que registraron al inicio del tiempo de almacenamiento (día cero) y, por el contrario, las que menos perdieron firmeza durante el almacenamiento fueron las del ICH+RB quienes registraron pérdidas del 24 %.

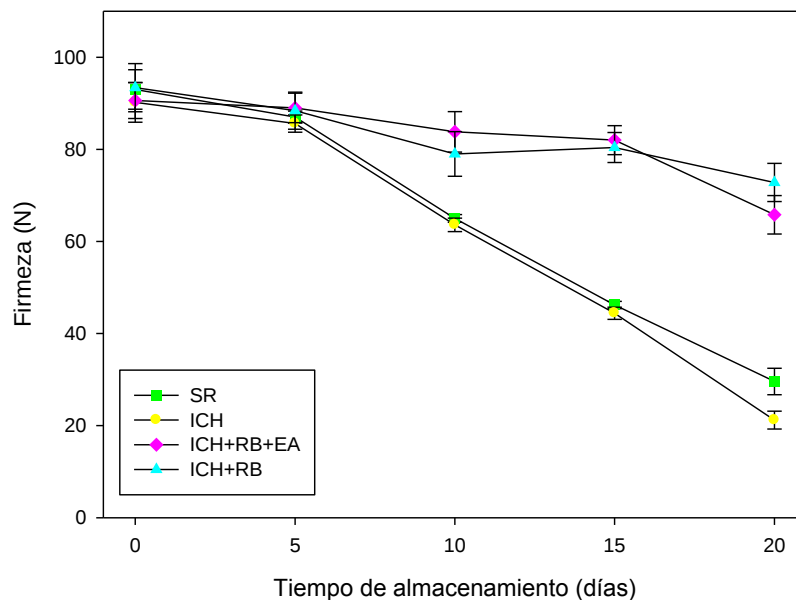


Figura 21. Evolución de la firmeza (N) en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infectadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) $n=5$.

En un estudio realizado por Maqbool *et al.* (2011) en donde evalúan el efecto de la aplicación postcosecha de goma arábica y aceites esenciales para controlar antracnosis y calidad en papaya; estos autores reportan pérdidas de firmeza de 40 % después de treinta y tres días de almacenamiento al aplicar un recubrimiento cuya formulación incluía goma arábica al 10 % y aceite esencial al 0.4 %.

7.3.2.4. Sólidos solubles totales. Los sólidos solubles totales (SST), en general, incrementaron durante el almacenamiento en los cuatro tratamientos evaluados (Figura 22), lo que sugiere la solubilización y síntesis de carbohidratos.

Antunes *et al.* (2003) mencionan que la concentración de SST está estrechamente relacionada con la maduración del fruto. En esta experiencia, se encontró que existe diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos con recubrimiento y aquellos sin recubrir.

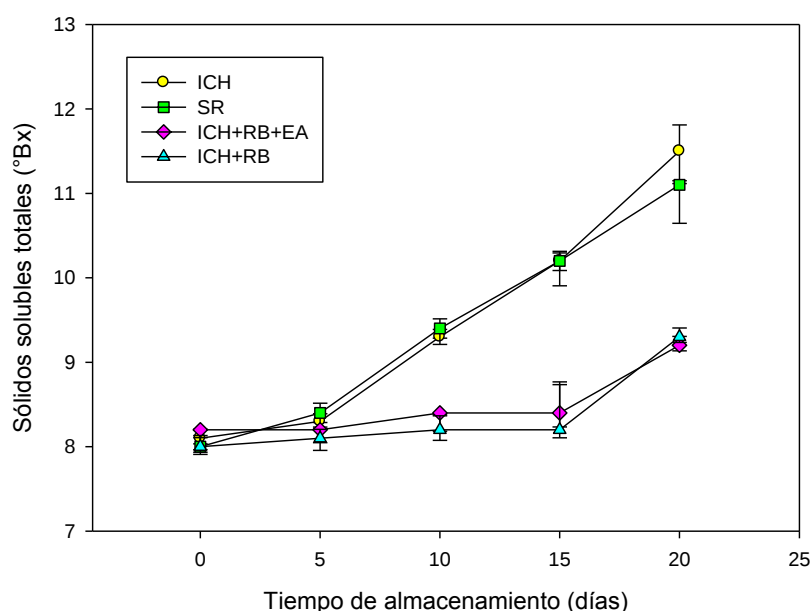


Figura 22. Evolución de los sólidos solubles totales (°Bx) en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infectadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) $n=5$.

Las papayas evaluadas tenían un contenido inicial promedio de SST de 8 % y fue aumentando ligeramente durante el almacenamiento como consecuencia de la maduración y senescencia del producto; sin embargo, se puede observar que los dos tratamientos sin recubrimiento (ICH y SR) tienen los más altos niveles de SST, pues alcanzaron una concentración promedio de 11.2 % al término del periodo de almacenamiento. Por otra parte, los tratamientos en los que se aplicó el recubrimiento biodegradable (ICH+RB+EA y ICH+RB), alcanzaron en promedio valores de 9.27 % al término del almacenamiento, lo que implica una diferencia del 17 % en su concentración de SST en relación a los tratamientos sin recubrir.

En un estudio realizado por Laminkara *et al.* (2000), encontraron una disminución del 17 % en el contenido de SST en melón cantaloupe mínimamente procesado almacenado a 20 °C. Con estos resultados se puede asumir que el recubrimiento biodegradable a base de mucílago de nopal y cera de abeja fue capaz de retardar la maduración y senescencia de las papayas en el tiempo de almacenamiento evaluado.

7.3.2.5. pH. Waghmare y Annapure (2013) explican que los cambios en el valor de pH de papaya durante el periodo de almacenamiento podrían estar asociados con el crecimiento de microorganismos y la subsecuente producción de ácidos orgánicos.

El pH de las papayas osciló entre 5.4 y 6.4 durante el periodo de almacenamiento en todos los tratamientos y no se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), aun con respecto al control (Figura 23). En esta experiencia, se encontró que el recubrimiento biodegradable a base de mucílago de nopal y cera de abeja no afectó el pH de las papayas evaluadas durante el tiempo de evaluación.

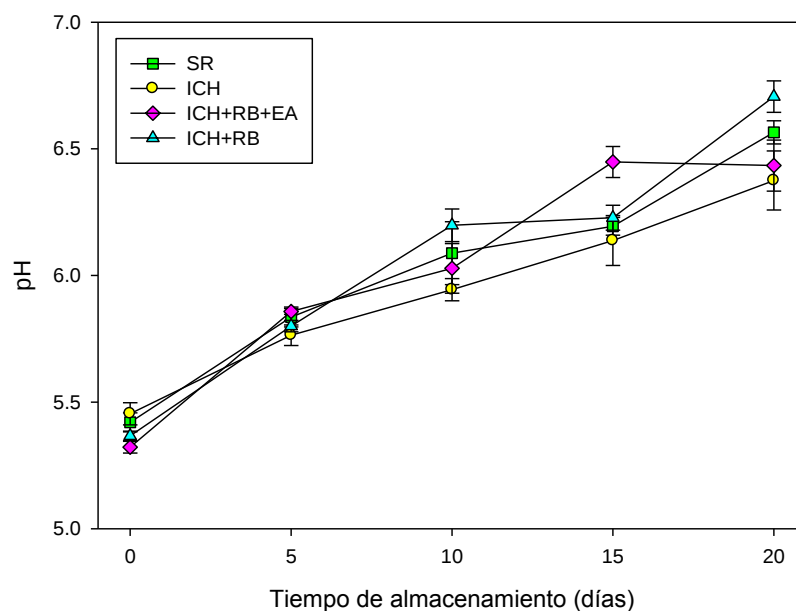


Figura 23. Evolución del pH en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infeccionadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infeccionadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infeccionadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) $n=5$.

Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Almora *et al.* (2004), quienes tampoco encontraron diferencias significativas en el pH al realizar una evaluación de los compuestos volátiles durante el proceso de maduración en papaya Maradol roja.

7.3.2.6. Acidez titulable. El ácido cítrico es el principal ácido orgánico presente en frutos de papaya (Ali *et al.*, 2011). Los valores de acidez titulable decrecieron con el tiempo de almacenamiento tanto en los tratamientos con recubrimiento biodegradable como en los que no fueron recubiertos. Aunque los resultados obtenidos no permiten observar una tendencia bastante definida (Figura 24), en general, es posible afirmar que aquellos tratamientos que no fueron recubiertos, presentan valores menores de acidez titulable, lo que sugiere el desarrollo más acelerado de la maduración como proceso.

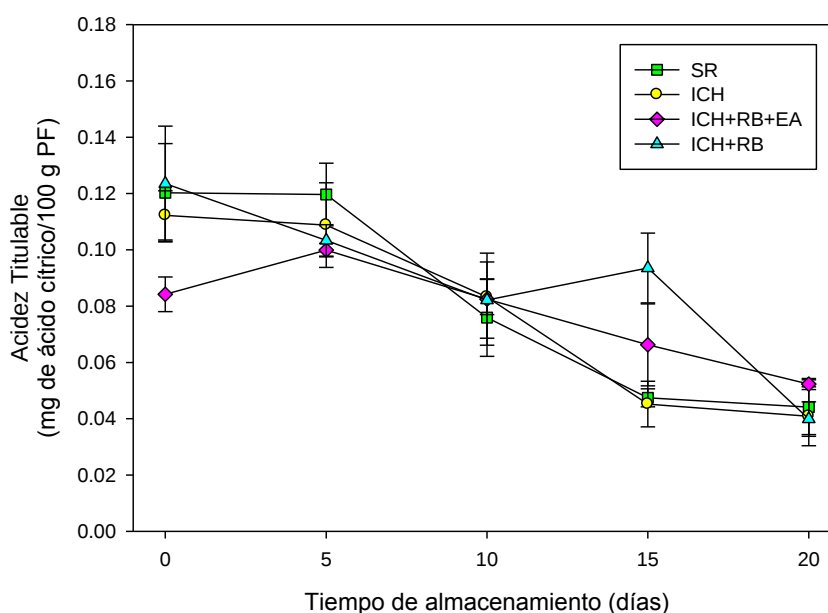


Figura 24. Evolución de la acidez titulable (mg de ácido cítrico/100 g de PF) en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 15 días a 13 ± 1 °C más 5 días a temperatura ambiente. SR: sin recubrimiento, ICH: Infectadas con Hongo, ICH+RB+EA: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable más extracto antifúngico, ICH+RB: Infectadas con hongo más recubrimiento biodegradable. Barras verticales representan el error estándar de la media ($P \leq 0.05$) $n=5$.

7.3.3. Evaluación del efecto del extracto de orégano ‘antifúngico’ sobre antracnosis en frutos de papaya.

Es bien conocido que las plantas producen compuestos antimicrobianos que podrían estar presentes en diferentes órganos, *i.e.*: semillas, hojas, flores, etc. Para la papaya, se ha demostrado que varias especies de plantas de diferentes familias botánicas presentan, en cierto grado, un potencial fungicida o fungostático contra enfermedades fúngicas (Bautista-Baños *et al.*, 2013).

En estudios previos, se ha demostrado que el contenido de extractos metanólicos de plantas medicinales como algunas especies del género *Origanum* contienen antimicrobianos, antioxidantes y otras actividades biológicas que podrían cambiar con base en las diferencias de forma de cultivo, origen, etapa vegetativa y época de crecimiento de la planta (Şahin *et al.*, 2004).

La actividad antimicrobiana de los extractos metabólicos de orégano se encuentra relacionada a un número de pequeños terpenoides y compuestos fenólicos tales como el timol, carvacrol y el eugenol (Oussalah, *et al.*, 2007). Los terpenos tienen la habilidad de irrumpir y penetrar la estructura lipídica de la pared celular de las bacterias, permitiendo la así la desnaturalización de proteínas y la destrucción de la membrana celular, la salida del contenido citoplasmático, la lisis celular y eventualmente la muerte celular (Emiroglu *et al.*, 2010).

7.3.3.1. Índice de decaimiento. El primer día de almacenamiento ninguno de los frutos de papaya evaluados presentaron síntomas de antracnosis asociada a *C. gloeosporioides* Penz., lo mismo ocurrió para el día cinco, sin embargo, para el día diez, los frutos infectados con hongo manifestaron los primeros síntomas (Cuadro 11) para desarrollarse ligeramente hasta el día 15; en tanto que para el día 20, el área de evaluación quedó cubierta en un 100 %.

El cuadro 11 describe la evolución de los tratamiento a lo largo de su almacenamiento y se observa el efecto benéfico de las papayas que fueron tratadas con el recubrimiento biodegradable más el extracto antifúngico e infectada con el hongo, ya que en estos productos no se manifestó un daño asociado a *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

Por otra parte, cabe destacar que en los tratamientos sin extracto antifúngico el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Se manifestó totalmente cuando las papayas fueron almacenadas a temperatura ambiente. Esto se explica debido a que la temperatura óptima de desarrollo del hongo se encuentra entre los 22 y los 25 °C.

Cuadro 11. Índice de decaimiento para los diferentes tratamientos en el día 20 de su almacenamiento.

Tratamiento	IDC
SR	5
ICH	5
ICH+RB+EA	1
ICH+RB	4

Los resultados de índice de decaimiento (IDC) para los diferentes tratamientos evaluados se reportan en el Cuadro 10 para el día 12 de almacenamiento de las papayas.

Cuadro 12. Evaluación visual de la incidencia de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en diferentes tratamientos evaluados.

Tratamiento	Tiempo de Almacenamiento				
	0	5	10	15	20
S.R.					
					
ICH					
					

ICH+RB+EA



ICH+RB



8. CONCLUSIONES

El mucílago de nopal deshidratado es apto para ejercer como matriz estructural en la formación de películas biodegradables.

Es posible estabilizar emulsiones a base de mucílago de nopal y cera de abeja en concentraciones 1:1 y =1:3 mediante el empleo de glicerol al 4%.

La adición de glicerol como plastificante, confiere a las películas biodegradables buenas características mecánicas y les confiere mayor aptitud para funcionar como recubrimiento en frutos de papaya (*Carica papaya* L. var. Maradol), ya que proporciona brillo a los frutos recubiertos.

La incorporación de extracto de orégano en la formulación de películas biodegradables permite controlar en cierta medida la incidencia de antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. en frutos de papaya (*Carica papaya* L. var. Maradol).

9. REFERENCIAS

- Acosta-Ramos, M.;** Nieto-Ángel, D.; Domínguez-Álvarez, J. L.; Delgadillo-Sánchez, F. 2001. Calidad y tolerancia en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación del hongo *Colletotrichum gloesporioides* Penz., en postcosecha. Revista Chapingo serie Horticultura. 7(1): 119-130.
- Acosta-Ramos, M.;** Nieto-Ángel, D.; Nieto-Ángel, R.; Mena-Nevárez, G.; Téliz, D.; Vaquera-Huerta, H. 2001. Presencia de la pulpa negra en frutos de mango ‘haden’ durante postcosecha. Revista Chapingo serie Horticultura. 7(1): 131 – 141.
- Agrios, G.N.** 2005. Plant pathology 5th Ed. Academic of Phytopathological Society Press, San Diego, CA, EUA. 922 pp.
- Ali, A.;** Muda Muhammad, M.T.; Sijam, K.; Siddiqui, Y. 2011. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. Food Chemistry 124: 620 – 626.
- Almora, K.;** Pino, J.A.; Hernández, M.; Duarte, C.; González, J.; Roncal, E. 2004. Evaluation of volátiles from ripening papaya (*Carica papaya* L., var. Maradol roja). Food Chemistry. 86:127 – 130.
- Anderson-Edward, F.** 2001. The cactus family. Timber Press. Portland, Oregon. U.S.A. 776 pp.
- Antunes, M.D.C.;** Correira, M.P.; Miguel, M.G.; Martins, M.A.; Neves, M.A. 2003. The effect of calcium chloride postharvest application on fruit storage ability and

quality of 'Beliana' and 'Lindo' apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. *Acta Horticulturae*. 604:721 – 726.

Antunes, C. F.; Renner S.S. 2012. A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 65:46 – 53.

Banks, N.H.; Dadzie, B.K.; Cleland, D.J. 1993. Reducing gas exchange of fruits with surface coatings. *Postharvest Biology and Technology*. 3: 269 – 284.

Banks, N.H.; Cleland, D.J.; Cameron, A.C.; Beaudry, R.M.; Kader, A.A. 1995. Proposal for rationalized system of units for postharvest research in gas exchange. *HortScience* 30(6): 1129 – 1131.

Banks, N.H.; Nicholson, S.E. 2000. Internal atmosphere composition and skin permeance to gases of pepper fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 18(1): 33 – 41.

Barbera, G. 1999. Historia e importancia económica y agroecológica. pp. 1 – 12. *In:* G. Barbera, P. Inglese y E. Pimienta, eds. *Agroecología, cultivo y usos del nopal*. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal, 132. Roma.

Barbosa-Cánovas, G. V.; Olivas, G.I.; Mattison, D.S. 2007. Alginate coatings for preservation of minimally processed 'Gala' apples. *Postharvest Biology and Technology* 45: 89-96.

- Bautista-Baños, S.;** Sivakumar, D.; Bello-Pérez, A.; Villanueva-Arce, R.; Hernández-López, M. 2013. A review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. *Crop Protection*. 49:8 – 20.
- Bourtoom, T.** 2008. Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*. 15(3): 237 – 248.
- Bravo-Hollis, H.** 1978. Las cactáceas de México, 2ª ed. Vol. 1. UNAM, México.
- Bruneton, J.** 2001. Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales, 2ª edición. Editorial Acribia. España. 1120 pp.
- Byun, Y.;** Ward, A. Whiteside, S. 2012. Formation and characterization of shellac-hydroxypropyl methylcellulose composite films. *Food Hydrocolloids*. 27:364 – 370.
- Callejas, N.,** J. Matus, J. García, M. Martínez, y J. Salas. 2006. Situación actual y perspectivas del mercado para la tuna, el nopalito y derivados en el Estado de México. *Agrociencia* 43: 73 – 82.
- Cantwell, M.;** Rodríguez-Feliz, A. and Robles-Contreras, F. 1992. Postharvest physiology of prickly pear cactus stems. *Scientia Horticulturae*. 50: 1-9.
- Cárdenas, A.,** Higuera-Ciapara, I., Goycoolea, F. M. 1997. Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 2: 152–159.
- Carr, M.K.V.** 2013. The water relations and irrigation requirements of papaya (*Carica papaya* L.): A review. *Experimental Agriculture*: 1 – 14 ©Cambridge University Press 2013. doi: 10.1017/S0014479713000380

- Chana-Thaworn; J.;** Chanthachum, S. y Wittaya, T. (2011). Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceotatum*) extract. *Food Science and Technology*. 44: 284-292.
- Chao, Z.;** Yue, M.; Xiaoyan, Z.; Dan, M. 2010. Development of soybean protein-isolate edible films incorporated with beeswax, span 20, and glicerol. *Journal of food science*. 75(6): 493 – 497.
- Chen, G.;** Zhang, B.; Zhao, J.; Chen, H. 2014. Development and characterization of food packaging film from cellulose sulfate. *Food Hydrocolloids*. 35:476 – 483.
- Chiou, B-S.;** Avena-Bustillos, R.J.; Bechtel, P.J.; Imam, S.H.; Glenn, G.M.; Orts, W.J. 2009. *Journal of Food Engineering*. 95:327 – 331.
- Cisneros-Zevallos, L.;** Krochta, J.M. 2002. Internal modified atmospheres of coated fresh fruits and vegetables: understanding relative humidity effects. *Journal of Food Science*. 67(8):2792 – 2797.
- Contreras-Padilla, M.,** Pérez-Torrero, E., Hernández-Urbiola, M.I., Hernández-Quevedo, G., Del Real, A., Rivera-Muñoz, E.M., Rodríguez-García, M.E. 2011. Evaluation of oxalates and calcium in nopal pads (*Opuntia ficus-indica* var. redonda) at different maturity stages. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24: 38 – 43.
- Corrales-García, J. y** Flores-Verduzco, C. A. 2003. Tendencias actuales y futuras en el procesamiento del nopal y la tuna. En: Flores V. C. A. (ed). *Nopalitos y tunas*,

producción, comercialización, poscosecha e industrialización. Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM. México. pp: 171-215.

Corrales-García, J.; Peña-Valdivia, C. B.; Razo-Martínez, Y.; Sánchez-Hernández, M. 2004. Acidity changes and pH-buffering capacity of nopalitos (*Opuntia* spp.). *Postharvest Biology and Technology*. 32: 169-174.

Corrales-García, J. 2009. Industrialization of cactus pads and fruit in Mexico: challenges and perspectives. In: *Acta Horticulture Number 811. Proceedings of the Sixth international congress on cactus pear and cochineal*. ISHS. Editors: F.A.P. Campos, J.C.B. Dubeux Jr., S. de Melo Silva.

Davis, P.L.; Chace, W.G., Jr., 1969. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. *HortScience* 4,117.

Debeaufort, F.; Martin-Polo, M.; Voilley, A. 1993. Polarity homogeneity and structure affect water vapor permeability of model edible films. *Journal of Food Science*. 58: 426 – 434.

De Lapeyre, de B.L.; Chillet, M. 2000. Elaboration of an Early Quantification Method of Quiescent Infections of *Colletotrichum musae* on Bananas. *Plant Disease*. 84:128 – 133.

Del-Valle, V.; Hernández-Muñoz, P.; Guarda, A.; Galotto, M. J. 2005. Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry*. 91:751-756.

- Díaz-Medina, E.M.;** Rodríguez-Rodríguez, E.M.; Díaz-Romero, C. 2007. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus-indica* fruits. *Food Chemistry*. 103:38 – 45.
- Díaz-Sobac, R.;** Beristain, C.I.; Vernon-Carter, E.J. 2001. Water vapor permeability of an emulsion coating of maltodextrin and surfactants. *Journal of Food Processing and Preservation*. 25:25 – 34.
- Dickinson, E.** 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*. 23:1473 – 1482.
- Embuscado, M.E.;** Huber, K.C. 2009. *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Springer.
- Espino-Díaz, M.;** Ornelas-Paz, J. de J.; Martínez-Téllez, M. A.; Santillán, C.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Zamudio-Flores, P. B. & Olivas, G. I. 2010. Development and Characterization of Edible Films Based on Mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). *Journal of Food Science*. 75(6): 347-352.
- Fabra M.J.;** Talens, P.; Chiralt, A. 2010. Influence of calcium on tensile, optical and water vapour permeability properties of sodium caseinate edible films. *Journal of Food Engineering*. 96:356 – 364.
- Falguera, V.,** Quintero, J.P., Jiménez, A., Muñoz, J.A., Ibarz, A., (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in food science & technology* 22: 292 – 303.

- Fang, Q.;** Hanna, M.A. 2000. Water adsorption characteristics and abrasion resistance of starch-based foams. *Trans ASAE* 43:89 – 94.
- Flores-Valdez, C.** 2003. Importancia del nopal. pp. 1 – 18. In: C.A. Flores Valdez, ed. *Nopalitos y tunas, producción, comercialización, postcosecha e industrialización*. 1ª Ed. Universidad Autónoma Chapingo, CUESTAAM. México.
- Forni, E.,** Penci, M., Polessello, A., 1994. A preliminary characterization of some pectin's from quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) peel. *Carbohydrate Polymers* 23(4): 231 – 234.
- Galus, S.;** Lenart, A. 2013. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering*. 115:459 – 465.
- García, E.;** Barret, D.M. 2002. Preservatives treatment for fresh cut fruits and vegetables. In: Lamikanra, O. (Ed.), *Fresh-Cut Fruit and Vegetables*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 267 – 304.
- Garti, N.;** Leser, M.E. 2001. Emulsification properties of hydrocolloids. *Polymers for advanced Technologies*. 12:123 – 135.
- Gennadios, A.;** McHugh, T.H.; Weller, C.L.; Krochta, J.M. 1994. Edible coatings and films based on proteins. In: Krochta, J.M.; Baldwin, E.A.; Nisperos-Carriedo, M., editors. *Edible coatings and films to improve food quality*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Co., Inc. p 201 – 277.
- Goycoolea, F.M.,** Cárdenas, A., Hernández, G., Lizardi, J., Álvarez, G., Soto, F.J., Valdéz, M., Rinaudo, M., Milas, M., Hernández, J., 2000. Polisacáridos aislados del

mezquite y otras plantas del desierto. Memorias del II Simposium Internacional sobre la utilización y aprovechamiento de la flora silvestre de zonas áridas. Hermosillo, Sonora, México, pp. 245 – 260.

Granados, D. y Castañeda, A.D. 1996. El nopal. 2ª Reimpresión, Ed. Trillas, México.

Granato, D.; Calado, V.M.deA.; Jarvis, B. 2014. Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology. Food Research International. 55: 137 – 149.

GRIN. 2005. Genetic Resources Information Network. U. S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service. <http://www.ars-grin.gov/>

Guilbert, S. 1986. Technology and application of edible protective films. In: Mathlouthi, M., editor. Food packaging and preservation: theory and practice. London, U.K.: Elsevier Applied Science Publishing Co. p 371 – 394.

Hall, D.J., 1981. Innovations in citrus waxing. An overview. Proc. Fla. State. Hort. Soc., 94: 258 – 263.

Han, J.H.; Seo, G.H.; Park, I.M.; Kim, G.N.; Lee, D.S. 2006. Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. Journal of food science. 71(6):290 – 296.

Hardenburg, R.E. 1967. Wax and related coatings for horticultural products. Ed. U.S.D.A., Agric. Res. Serv. Publ., AR, 51 – 15.

Hernández-Montes, A.; Calvo-Arriaga, A. O.; Peña-Valdivia, C. B.; Corrales-García, J.; Aguirre-Mandujano, E. 2010. Preference mapping and rheological properties of

four nopal (*Opuntia* spp.) cultivars. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 12: 127-142.

Hong, S.I.; Han, J.H.; Krochta, J.M. 2004. Optical and surface properties of whey protein isolate coatings on plastic films as influenced by substrate, protein concentration, and plasticizer type. *Journal of Applied Polymer Science*. 92:335 – 343.

Huang, X.; Kakuda, Y.; Cui, W. 2001. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*. 15:533 – 542.

Iniestra-González, J.J.; Lino-López, G.J.; Paull, R.E.; Barba de la Rosa, A.P.; Mancilla-Margalli, N.A.; Sañudo-Barajas, J.A.; Ibarra-Junquera, V.; Chen, N.J.; Hernández-Velasco, M.A.; Osuna-Castro, J.A. (2013). Papaya endoxylanase biochemical characterization and isoforms expressed during fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*. 81:13 – 22.

Kader, A.A. 1997. Papaya: recommendations for Maintaining Postharvest Quality. *Perishables Handling*, 90. ©UC Davis Postharvest Technology.

Kader, A.A. and Saltveit, M.E. 2003. Respiration and gas exchange. In: *Postharvest physiology and pathology of vegetables*. Bartz, A.J. y Brecht, K.J. (eds). 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp 7-29.

Kanmani, P.; Lim, S.T. 2013. Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films. *Food Chemistry*. 141:1041 – 1049.

- Kaplan, H.J.** 1986. Washing, waxing and color adding. In: Fresh Citrus Fruits. Eds. W.F. Wardowski, S. Nagy, W. Grierson, AVI Pub. Co., New York, U.S.A., pp. 379 – 395.
- Kester, J.J.; Fennema, O.** 1986. Edible films and coatings: a review. Food Technology. 40(12):47 – 59.
- Khwaldia, K.; Arab-Tehrany, E.; Desobry, S.** 2010. Biopolymer Coatings on Paper Packaging Materials. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 9:82 – 91.
- Korifi, R.; Le Dréau, Y.; Antinelli, J-F.; Valls, R.; Dupuy, N.** 2013. CIEL*a*b* color space predictive models for colorimetry devices – Analysis of perfume quality. Talanta. 104:58 – 66.
- Krochta, J.M. y Mulder-Johnson, C.D.** 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. Food Technology. 51(2): 61 – 74.
- Kuorwel, K.K.; Cran, M.J.; Sonneveld, K.; Miltz, J.; Bigger, S.W.** 2011. Antimicrobial Activity of Biodegradable Polysaccharide and Protein-Based Films Containing Active Agents. Journal of Food Science. 76(3):90 – 102.
- Lacroix, M.; Le Tien, C.** 2005. Edible films and coatings from non-starch polysaccharides. In: Han JH, editor. Innovations in food packaging. Oxford, U.K.: Elsevier Academic Press. pp 338 – 361.

- Laminkara, O.;** Chen, J.C.; Banks, D.; Hunter, P.A. 2000. Biochemical and microbial changes during the storage of minimally processed cantaloupe. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 48:5955 – 5961.
- Lazaridou, A.;** Biliaderis, C.G.; Kontogiorgos, V. 2003. Molecular weight effects on solution rheology of pullulan and mechanical properties of its films. *Carbohydrate polymers*. 52:151 – 166.
- Lim, T.K.** 2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 1, Fruits*, © Springer Science+Business Media B.V. 2012. DOI 10.1007/978-90-481-8661-7_97
- Lin, D.;** Zhao, Y. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 6:60 – 75.
- Liu, Z.** 2005. Edible films and coatings from starches. In: Han JH, editor. *Innovations in food packaging*. Oxford, U.K.: Elsevier Academic Press. Pp 318 – 337.
- López-Palacios, C.;** Reyes-Agüero, J.A.; Ramírez-Tobías, H.M.; Juárez-Flores, B.I.; Aguirre-Rivera, J.R.; Yañez-Espinoza, L.; Ruíz-Cabrera, M.A. 2010. Evaluation of attributes associated with the quality of nopalito (*Opuntia* spp. and *Nopalea* spp.). *Italian Journal of Food Science*. 22:423 – 431.
- López-Palacios, C.,** Peña-Valdivia, C.B., Reyes-Agüero, J.A., Rodríguez-Hernández, A.I., 2012. Effects of domestication on structural polysaccharides and dietary fiber in nopalitos (*Opuntia* spp.). *Journal of Genetic Resources and Crop Evolution* 59:1015 – 1026.

- McClemends, D.J.** (1999). Food Emulsions, New York: CRC Press. Reichman, D. (1992). Characterization of hydrocolloids-surface activity and interactions with monomeric emulsifier at the interface. PhD Thesis, The Hebrew University of Jerusalem, Israel.
- Mandujano, B.R.A.** 1995. Conservación de la pureza genética del cultivar papaya “maradol”, y su importancia en la propagación. En: Memoria de la Reunión técnica sobre cultivo de papaya roja en la Costa de Jalisco. Gobierno del Estado de Jalisco y S.D.R. pp. 8 – 20.
- Manrique, G.D.;** Lajolo, F.M. 2004. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). Postharvest Biology and Technology. 33:11 – 26.
- Martín-Belloso, O.;** Oms-Oliu, G.; Rojas-Graü, M.A.; Alandes-González, L.; Varela, P.; Soliva-Fortuny, R.; Hernando-Hernando, M.I.; Pérez-Munuera, I.; Fiszman, S. 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. Postharvest Biology and Technology. 57:139 – 148.
- Martín del Campo, R.** 1957. Las Cactáceas entre los Mexicanas. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 2:27 – 38.
- Maqbool, M.;** Ali, A.; Alderson, P.G.; Muda-Mohamed, M.T.; Siddiqui, Y.; Zahid, N. (2011). Postharvest application of gum Arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. Postharvest Biology and Technology. 62:71 – 76.

- Matsuhiro, B.,** Lillo, L.E., Sáenz,C., Urzúa, C.C., Zárate, O. 2006. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus-indica*. Carbohydrate polymers 63, 263 – 267.
- McGarvie, D.** and Parolis, P. H., 1979. The mucilage of *Opuntia ficus-indica*. Carbohydrate Research 69, 171 – 179.
- McGarvie, D.** and Parolis, P. H., 1981a. Methylation analysis of the mucilage of *Opuntia ficus-indica*. Carbohydrate Research 88, 305 – 314.
- McGarvie, D.** and Parolis, P. H., 1981b. The acid-labile, peripheral chains of the mucilage of *Opuntia ficus-indica*. Carbohydrate Research 94, 57 – 65.
- McGuire, R.G.** 1992. Reporting of objective color measurements. Hort Science 27(12): 1254 – 1255.
- McHugh, T.H.;** Avena-Bustillos, R.; Krochta, J.M. 1993. Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. Journal of Food Science. 58(4): 899 – 903.
- McHugh, T.H.** (2000). Protein-lipid interactions in edible films and coatings. Nahrung, 44: 148 – 151.
- Medina-Torres, L.;** Brito-De la Fuente, E.; Torrestiana-Sánchez, B. y Katthain, R. 2000. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). Food Hydrocolloids. 14: 417–424.

Medina-Torres, L.; Brito-De la Fuente, E.; Torrestiana-Sánchez, B. y Alonso, S. 2003.

Mechanical properties of gels formed by mixtures of mucilage gum (*Opuntia ficus indica*) and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*. 52:143 – 150.

Miller, S. M.; Fugate, E. J.; Craver, V. O.; Smith, J. A.; & Zimmerman, J. B. 2008.

Toward understanding the efficacy and mechanism of *Opuntia* spp. as a natural coagulant for potential application in water treatment. *Environmental Science Technology*. 42 (12), 4274–4279.

Murillo-Martínez, M.M.; Pedroza-Islas, R.; Lobato-Calleros, C.; Martínez-Ferez, A.;

Vernon-Carter, E.J. 2011. Designing W1/O/W2 double emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes for producing edible films: Rheological, mechanical and water vapour properties. *Food Hydrocolloids*. 25:577-585.

Murillo-Martínez, M.M.; Tello-Solís, S.R.; García-Sánchez, M.A.; Ponce-Alquicira,

E. 2013. Antimicrobial activity and hydrophobicity of edible whey protein isolate films formulated with Nisin and/or Glucose Oxidase. *Journal of Food Science*. 78:4

Mustaffa, H.H.; Osman, A.; Ping, T.C.; Mohamad, G.F. (2013). Carrageenan as an

alternative coating for papaya (*Carica papaya* L. cv. Eksotika). *Postharvest Biology and Technology*. 75:142 – 146.

Navarrete-Bolaños, J.L.; Fato-Aldeco, E.; Gutiérrez-Moreno, K.; Botello-Álvarez,

J.E.; Jiménez-Islas, H.; Rico-Martínez, R. 2013. A strategy to design efficient fermentation processes for traditional beverages production: Prickly Pear Wine. *Journal of Food Science*. 78:10

- Navarro-Tarazaga, M.L.;** Massa, A.; Pérez-Gago, M.B. 2011. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno). *LWT – Food Science and Technology*. 44:2328 – 2334.
- Nobel, P.,** Cavelier, J., Andrade, J.L., 1992. Mucilage in cacti: its apoplastic capacitance, associated solutes, and influence on tissue water relations. *Journal of Experimental Botany* 43 (250): 641 – 648.
- Nussinovitch, A.** (2009). Biopolymer Films and Composite Coatings. In: Kasapis, Norton and Ubbink: *Modern Biopolymer Science*. Pp 295 – 326.
- Olivas, G.I.;** Barbosa-Cánovas, G.V. 2008. Alginate-calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *LWT-Food Science and Technology*. 41:359 – 366.
- Olivas, G.;** Barbosa-Cánovas, G. 2009. Edible films and coatings for fruits and vegetables. In: Embuscado, M.E.; Huber, K.C. (Eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Springer, New York, pp. 211 – 244.
- Oms-Oliu, G.;** Rojas-Graü, M.A.; Alandes, G.L.; Varela, P.; Soliva-Fortuny, R.; Hernando, H.M.I.; Pérez, M.I.; Fiszman, S.; Martín-Belloso, O. 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology*. 57:139 – 148.

- Osés, J.;** Fabregat-Vázquez, M.; Pedroza-Islas, R., Tomás, S.A.; Cruz-Orea, A.; Maté, J.I. 2009. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. *Journal of Food Engineering*. 92: 56 – 62.
- Oussalah, M.;** Caillet, S.; Saucier, L.; Lacroix, M. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* 0157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18(5):414 – 420.
- Pando-Moreno, M.,** Tovar-Puente, A., González-Rodríguez, H., Scott-Morales, L. and Méndez-Gallegos, S. de J. 2007. Density of Calcium Oxalate Crystals in 15 Prickly Pear Cultivated Species. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 9:91 – 98.
- Pascall, M.A.** y Lin S. 2013. The application of edible polymeric films and coatings in the food industry. *Food Processing and Technology*. 4:2.
- Paull, R.E.;** Nishijima, W.; Reyes, M.; Cavaletto, C.C. 1997. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 11: 165 – 179.
- Paull, R.E.;** Gross, K.; Qiu, Y. 1999. Changes in papaya cell walls during fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*. 16:79 – 89.
- Paull, R.E.;** Duarte, O. 2011. Papaya. In: Paull, R.E.; Duarte, O. 2011. *Tropical Fruits*, 2nd Edition, Volume 1, ©CAB International 2011.

- Paulsen, B. S.** and Lund, P. S. 1979. Water-soluble polysaccharides of *Opuntia ficus-indica* cv “Burbank’s spineless”. *Phytochemistry* 18, 569 – 571.
- Peña-Valdivia, C. B.;** Trejo-López, C.; Arroyo-Peña, V. B.; Sánchez-Urdaneta, A. B.; Balois-Morales, R. 2012. Diversity of unavailable polysaccharides and dietary fiber in domesticated nopalito and cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Chemistry & Biodiversity*. 9:1599-1610.
- Peretto, G.;** Du, W-X.; Avena-Bustillos, R.J.; Sarreal, S.B.L.; Hua, S.S.T.; Sambo, P.; McHugh, T.H. 2014. Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. *Postharvest Biology and Technology*. 89:11 – 18.
- Pérez-Cacho, M.P.;** Galán-Soldevilla, H.; Corrales-García, J.; Hernández-Montes, A. 2006. Sensory characterization of nopalitos (*Opuntia* spp.). *Food Research International*. 39:285 – 293.
- Pérez-Gago M.B.;** Krochta, J.M. 2009. Water vapor permeability of whey protein emulsion films as affected by pH. *Journal of Food Science*. 64(4):695 – 698.
- Pérez-Gago M.B.;** Llanos Navarro-Tarazaga. M.; Massa, A. 2011. Effect of beeswax on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno). *LWT-Food Science and Technology*. 44:2328-2334.

- Pérez-Gago, M.B.;** Serra, M.; Del Río, M.A. (2006). Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 39:84 – 92.
- Pérez, E.P.J.;** Du, W-X.; Avena-Bustillos, R.J.; Ferreira, S.N.F.; McHugh, T.H. 2014. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties – A review. *Food Hydrocolloids*. 35:287 – 296.
- Petracek, P.D.;** Hagenmaier, R.D., Dou, H. 1999. Waxing effects on citrus fruit physiology. In: *Advances in postharvest diseases and disorders control of citrus fruit*. Ed. M. Schirra, Research Signpost, India. pp. 71 – 92.
- Phan, T.D.;** Debeaufort, F.; Voilley, A.; Luu, D. 2009a. Influence of hydrocolloid nature on the structure and functional properties of emulsified edible films. *Food Hydrocolloids*. 23:691 – 699.
- Phan, T.D.;** Debeaufort, F.; Voilley, A.; Luu, D. 2009b. Biopolymer interactions affect the functional properties of edible films based on agar, cassava starch and arabinoxylan blends. *Journal of Food Engineering*, 90:548 – 558.
- Pires, C.;** Ramos, C.; Teixeira, G.; Batista, I.; Mendes, R.; Nunes, L.; Marques, A. 2011. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *Journal of Food Engineering*. 105:422 – 428.
- Pires, C.;** Ramos, C.; Teixeira, B.; Batista, I.; Nunes, M.L.; Marques, A. 2013. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*. 30:224 – 231.

- Pimienta, E.** 1990. El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, México.
- Pranoto, Y.;** Salokhe, V.M.; Rakshit, S.K. 2005. Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. Food Research International. 38: 267 – 272.
- Ramos, O.L.;** Reinas, I.; Silva, S.I.; Fernandes, J.C.; Cerqueira, M.A.; Pereira, R.N.; Vicente, A.A.; Poças, M.F.; Pintado, M.E.; Malcata, F.X. 2013. Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. Food Hydrocolloids. 30:110 – 112.
- Rao, J.;** McClements, D.J. 2012. Food-grade microemulsions and nanoemulsions: Role of oil phase composition on formation and stability. Food Hydrocolloids. 29:326 – 334.
- Reyes-Agüero, J. A.,** Aguirre-Rivera, J. R., Carlín-Castelán, F.; González-Durán, A. 2009. Catálogo de las principales variantes silvestres y cultivadas de Opuntia en la Altiplanicie Meridional de México, UASLP, SAGARPA y CONACYT, San Luis Potosí, México.
- Rezvani, E.;** Schleining, G.; Sümen, G.; Taherian, A.R. (2013). Assessment of physical and mechanical properties of sodium caseinate and stearic acid based film-forming emulsions and edible films. Journal of Food Engineering. 116:598 – 605.
- Rodríguez-Félix, A.** and M. Cantwell. 1988. Developmental changes in the composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). Plants Food for human Nutrition 38: 83-93.

- Rojas-Graü, M.A.,** Soliva-Fortuny, R., and Martín-Belloso, O. 2009. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends in food science and technology* 20: 438 – 447.
- Saag, K. M. L.,** Sanderson, G., Moyna, P., Ramos, G., 1975. Cactaceae mucilage composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 26, 993 – 1000.
- Sáenz, C.,** Vásquez, M., Trumper, S., Fluxá, C., 1992. Extracción y composición química de mucílago de tuna (*Opuntia ficus-indica*). *Actas: II Congreso Internacional de la tuna y cochinilla*. Santiago, Chile, pp. 93 – 96.
- Sáenz-Hernández, C.;** Corrales-García, J.; Aquino-Pérez, G. 2002. Nopalitos, mucilage, fiber and cochineal. In: P.S. Nobel (Ed.), *Cacti: Biology and uses* pp. 211-234. Berkeley, Los Angeles, London: University of California Press.
- Sáenz-Hernández, C.;** Sepúlveda, E. y Matsuhira, B. 2004. *Opuntia* spp. mucilage's: a functional component with industrial perspectives. *Journal of Arid Environments*. 57: 275–290.
- Sáenz-Hernández, C.** 2006a. Los nopales como recurso natural. pp. 1 – 6. In: C. Rosell ed. *Utilización agroindustrial del nopal*. Boletín de servicios agrícolas de la FAO 162. Roma.
- Sáenz-Hernández, C.** 2006b. Características y composición química de los nopales. pp. 7-22. In: C. Rosell ed. *Utilización agroindustrial del nopal*. Boletín de servicios agrícolas de la FAO 162. Roma.

- Şahin F.;** Güllüce, M.; Daferera, D.; Sökmen, A.; Sökmen M.; Polissiou, M.; Agar, G.; Özer, H. 2004. Biological activities of the essential oils and metanol extract of *Origanum vulgare* spp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*. 15:549 – 557.
- Sánchez-González, L.;** Quintero, S.J.I.; Chiralt, A. 2014. Antilisterial and physical properties of biopolymer films containing lactic acid bacteria. *Food Control*. 35:200 – 206.
- Sánchez-Monge, E.** 1991. *Flora Agrícola*. Tomo I/II. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. España.
- Sant’Anna, V.;** Gurak, P.D.; Ferreira-Marczak, L.D. 2013 Tracking bioactive compounds with colour changes in foods – A review. *Dyes and Pigments*. 98:601 – 608.
- Sapei, L.;** Naqvi, M.A.; Rousseau, D. 2012. Stability and release properties of double emulsions for food applications. *Food Hydrocolloids*. 27:316 – 323.
- Scheinvar, L.** 1999. Taxonomía de las *Opuntias* utilizadas. pp. 21-28. In: *Agroecología, cultivo y usos del nopal*. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal No 132. Roma.
- Sepúlveda, E.;** Sáenz, C.; Aliaga, E. & Aceituno, C. 2007. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*. 68: 534-545.

- Seymour, G.B.;** Taylor, J.E.; Tucker, G.A. (Eds.). (1993). Biochemistry of fruit ripening (pp. 1 – 454). Chapman and Hall.
- Shiku, Y.;** Hamaguchi, P.Y.; Tanaka, M. 2003. Effect of pH on the preparation of edible films based on fish myofibrillar proteins. *Fisheries Science*. 69(5):1026 – 1032.
- Soazo, M.;** Rubiolo, A.C.; Verdini, R.A. 2011. Effect of drying temperatura and beeswax contento n physical properties of whey protein emulsion films. *Food Hydrocolloids*. 25:1251 – 1255.
- Sothornvit, R.;** Pitak, N. 2007. Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. *Food Research International*. 40(3):365 – 370.
- Srivastava, B.K.,** Pande, C.S., 1974. Arabinogalactan from pads of *Opuntia dillenii*. *Planta medica* 25, 92 – 97.
- Stintzing, F.C.;** Carle, R. 2005. Cactus steams (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res*. 49:175 – 194.
- Taqi, A.;** Mutihac, L.; Stamatina, I. 2013. Physical and barrier properties of apple pectin/cassava starch composite films incorporating *Laurus nobilis* L. oil and oleic acid. *Journal of Food Processing and Preservation*. ISSN 1745 – 4549.
- Toivonen, P.M.A.;** Brummell, D.A. 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 48:1 – 14.
- Torres-Acosta, A.** y Cano-Barrita, J. 2007. Las bondades del nopal. *Revista de Construccion y Tecnologia*, 44–50.

Tovar-Soto, A.; Hernández, M.M.; Cristóbal, A.J.; Romero, H.R.; Mora, A.G. 2002.

Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*Colletotrichum gloesporioides* Penz) en chirimoyo (*Annona cherimola* Mill). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 20(1): 103 - 109.

Trachtenberg, S. and Mayer, A. M. 1981. Composition and properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *Phytochemistry*. 20, 2665 – 2668.

Trachtenberg, S. and Mayer, A. M. 1982. Biophysical properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *Phytochemistry*. 21(12), 2835-2843.

Valencia-Chamorro, S.A.; Pérez-Gago, M.B.; Del Río, M.A.; Palou, L. 2009. Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-lipid edible composite coatings on postharvest decay development and quality attributes of cold-stored ‘Valencia’ oranges. *Postharvest Biology and Technology*. 54: 72 – 79.

Valencia-Chamorro, S.A.; Palou, L.; Del Río, M.A.; Pérez-Gago, M.B. 2011. Performance of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-lipid edible coatings with antifungal food additives during cold storage of ‘Clemenules’ mandarins. *LWT – Food Science and Technology*. 44:2342 – 2348.

Valeriano, A. 1554. *Nican Mopohua*. Traducción de Primo Feliciano Velázquez. Ed. por Obra Nacional de la Buena Prensa, A.C. México.

Velásquez, E. 1998. *El nopal y su historia*. Editorial Clío. México.

Valle-Guadarrama, S.; Saucedo-Veloz, C.; Peña-Valdivia, C.B.; Corrales-García, J.J.E.; Chávez-Franco, S.H.; Espinoza-Solares, T. 2002. Skin permeance and

internal gas composition in ‘Hass’ avocado (*Persea americana* Mill.) fruits. Food Science and Technology International. 8(6): 365 – 373.

Valle-Guadarrama, S.; López-Rivera, O.; Reyes-Vigil, M.; Castillo-Merino, J.; Santos-Moreno, A. 2008. Recubrimiento comestible basado en goma arábica y carboximetilcelulosa para conservar frutas en atmósfera modificada. Revista Chapingo Serie Horticultura. 14(3): 235 – 241.

Vallejo, G., Arnau, J.; Bono, R., Fernández, P. & Tuero, E. 2010. Selección de modelos anidados para datos longitudinales usando criterios de información y la estrategia de ajuste condicional. Psicothema 22 (2), 323-333

Ventolà, L.; Vendrell, M.; Giraldez, P. and Merino, L. 2011. Traditional organic additives improve lime mortars: New old materials for restoration and building natural stone fabrics. Construction and Building Materials. 25: 3313 - 3318.

Vernon-Carter, E. J.; Jiménez-Alvarado, R.; Beristain, C. I.; Medina-Torres, L.; Román-Guerrero, A. 2009. Ferrous bisglycinate content and release in $W_1/O/W_2$ multiple emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes. Food Hydrocolloids 23: 2425-2433.

Voss, D.H. 1992. Relating colorimeter measurement of plant color to the Royal Horticultural Society Colour Chart. Hort Science 27(12): 1256 – 1260.

Waghmare, R.B.; Annapure, U.S. 2013. Combined effect of chemical treatment and/or modified atmosphere packaging (MAP) on quality of fresh-cut papaya. Postharvest Biology and Technology. 85:147 – 153.

- Wang, X.;** Sun, X.; Liu, H.; Li, M.; Ma, Z. 2011. Barrier and mechanical properties of carrot puree films. *Food and Bioproducts Processing*. 89:149 – 156.
- Waterman P. G.** y S. Mole. 1994. *Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Methods in Ecology*. Black well Scientific Publications. Oxford, UK. 238p.
- Wu, J.;** Zhong, F.; Li, Y.; Shoemaker, C.F.; Xia, W. 2013. Preparation and characterization of pululan-chitosan and pululan-carboxymethyl chitosan blended films. *Food Hydrocolloids*. 30:82 – 91.
- Zhang, H.;** Mittal, G. 2010. Biodegradable Protein-based Films from Plant Resources: A Review. *Environmental Progress & Sustainable Energy*. 29(2): 203 – 220.