



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



INSTITUTO DE CIENCIAS

Maestría en Tecnologías en Materiales Avanzados

**Bionanocomposito de quitosano y ZnO
nanoestructurado y su funcionalidad en la
preservación de fresas**

TESIS DE MAESTRÍA

Presenta:

Dulce Jeanette García García

Asesores de Tesis:

Dr. Gerardo Francisco Pérez Sánchez

Dr. Heriberto Hernández Cocoltzi

Puebla, Pue., agosto de 2022

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	I
ÍNDICE GENERAL.....	II
ÍNDICE DE FIGURAS.....	V
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	4
1.1 Fresa (Fragaria x ananassa).....	4
1.1.1 Descripción de la planta y de la fresa.....	4
1.1.2 Propiedades fisicoquímicas de la fresa.....	5
1.1.3 Composición química de la fresa.....	6
1.1.4 Vida útil de la fresa.....	7
1.1.5 Efecto de los tratamientos sobre calidad y vida postcosecha.....	8
1.2 Técnicas de conservación de fresas.....	9
1.2.1 Nanotecnología para la conservación de alimentos.....	12
1.3 Quitina y quitosano.....	13
1.3.1 Propiedades y aplicaciones del quitosano.....	17
1.4 Óxido de Zinc.....	18
1.4.1 Métodos de síntesis del ZnO.....	19
1.4.2 Propiedades y aplicaciones de las ZnO-NSs.....	22
1.5 Bionanocompositos a base de Quitosano y ZnO en la preservación de frutas.....	24

1.6 Hipótesis.....	25
1.7 Objetivos	25
1.7.1 Objetivo general.....	25
1.7.2 Objetivos específicos	25
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA.....	26
2.1 Obtención del ZnO nanoestructurado mediante sublimación en espacio cercano (CSS).....	26
2.1.1 Preparación de sustratos	26
2.1.2 Arreglo CSS	26
2.1.3 Depósito del material nanoestructurado de Zinc	27
2.1.4 Obtención del material nanoestructurado de ZnO.....	27
2.2 Caracterización del material nanoestructurado de ZnO.....	27
2.3 Preparación de la materia prima (esqueletos de camarón)	27
2.4 Obtención de quitosano	27
2.5 Caracterización del quitosano.....	28
2.6 Preparación y aplicación del recubrimiento	28
2.7 Funcionalidad del recubrimiento Q/ZnO-NSs en la preservación de fresas ..	30
2.7.1 Caracterización del recubrimiento o nanobiocomposito	30
2.7.1.1. <i>Microscopia electrónica de barrido y mapeo elemental por la técnica de Espectroscopía de Energía Dispersiva (SEM)</i>	30
2.7.3 Prueba de textura	31
2.8 Análisis fisicoquímicos	32
2.8.1 Determinación de pH.....	32
2.8.2 Determinación de acidez titulable.....	32
2.8.3 Determinación de sólidos solubles totales (SST)	32

2.8.4 Determinación del contenido de humedad	33
2.9. Pruebas microbiológicas	34
2.9.1 Bacterias mesófilas aerobias (BMA), hongos y levaduras	34
2.10. Análisis estadístico	34
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
3.1 Caracterización del material nanoestructurado de ZnO.....	35
3.1.1 Difracción de Rayos X (XRD)	35
3.1.2 Microscopía Electrónica de Barrido.....	36
3.1.3 Microscopía Electrónica de Transmisión	37
3.2 Caracterización del recubrimiento de quitosano (QUI) y del nanobiocomposito (Q/ZnO-NSs).	38
3.2.1 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	38
3.2.2 Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS).....	40
3.2.3 Espesor del recubrimiento	43
3.3 Funcionalidad del recubrimiento Q/ZnO-NSs en la preservación de fresas ..	43
3.3.1 Evaluación microbiológica.....	46
3.3.2 Análisis fisicoquímicos	48
CONCLUSIONES	56
Conclusión general	56
Conclusiones particulares	56
REFERENCIAS.....	58
ANEXOS.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Planta de fresa con flor y fruto (<i>Fragaria x ananassa</i>)	5
Figura 1.2. Tabla de color de los estados de maduración de la fresa ¹⁷	6
Figura 1.3. Fresas afectadas por (a) <i>Botrytis cinérea</i> y (b) <i>Rhizopus stolonifer</i>	8
Figura 1.4. Estructura química de a) celulosa y b) quitina.	14
Figura 2.1. Arreglo CSS para la síntesis de películas delgadas: 1) Calefactores de grafito; 2) Separador anillo de cuarzo; 3) Temperatura de fuente; 4) Temperatura de sustrato y 5) Separación fuente-sustrato.	26
Figura 2.2. a) esqueletos de camarón pulverizados, b) desmineralización, c) muestra de quitina, d) muestra de quitosano.	28
Figura 2.3. Metodología de la preparación y la aplicación de los recubrimientos.	29
Figura 2.4. a) soluciones de quitosano y Q/ZnO-NSs, b) fresas recubiertas.....	29
Figura 2.5. Medición de color de fresas cubiertas y sin recubrimiento.	31
Figura 2.6. Medición de textura.	31
Figura 2.7. Medición de pH.	32
Figura 2.8. Determinación de Grados Brix.	33
Figura 2.9. Determinación de contenido de humedad: a) pesado de las muestras con humedad y b) secado de las muestras en horno.....	33
Figura 3.1. Patrón de difracción de rayos X de las nanopartículas de ZnO.	35
Figura 3.2. Imágenes SEM de las capas del material nanoestructurado de Zn obtenidos por el método de CSS sin tratamiento térmico a)115x, b) 5.8 x y c)11.5 x.	36
Figura 3.3. Imágenes SEM de las capas del material nanoestructurado de ZnO obtenidos por el método de CSS después de la aplicación del tratamiento térmico a 500 °C por 60 min. a)115x, b) 5.8 x y c)11.5 x.	37
Figura 3.4. Imágenes de TEM de tres secciones diferentes de la muestra correspondiente al material nanoestructurado de ZnO. a) 0.2 nm y b) y c) 100 nm respectivamente.	38

Figura 3.5. Espectro FTIR del quitosano y del nanobiocomposito. 39

Figura 3.6. Mapeo elemental del recubrimiento de quitosano después de un minuto sometido a inmersión. a) Micrografía SEM obtenida mediante electrones retrodispersados, b) carbono, c) oxígeno, d) magnesio, e) silicio, f) potasio, g) calcio y h) EDX. El análisis elemental cuantitativo del recubrimiento se proporciona en la tabla de su respectivo espectro EDX. 41

Figura 3.7. Mapeo elemental del Bionanocomposito después de un minuto sometido a inmersión. a) Micrografía SEM obtenida mediante electrones retrodispersados, b) carbono, c) oxígeno, d) magnesio, e) silicio, f) cloro, g) potasio, h) calcio, i) zinc y j) EDX. El análisis elemental cuantitativo del bionanocomposito se proporciona en la tabla de su respectivo espectro EDX. ... 42

Figura 3.8. Mecanismo de actividad antifúngica de las Q/ZnO-NSs. (a) Pared celular fúngica; (b) Mecanismo de acción; (A) Interrupción de la pared celular fúngica; (B) daño en el ADN; (C) Inhibición de la síntesis de proteínas; (D) Daño a las mitocondrias ¹⁴⁴. 45

Figura 3.9. Cambios de firmeza de fresas tratadas con quitosano 1M (FRQ-1), quitosano 2M (FRQ-2), quitosano-ZnO 1M (Q-ZnO-NSS 1M), quitosano-ZnO 2M (Q-ZnO-NSS 2M) y control almacenadas a 5°C durante 8 días. Cada punto de datos es la media de tres repeticiones. 50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Propiedades fisicoquímicas de la fresa (<i>Fragaria x ananassa</i>) ⁸⁻¹¹	5
Tabla 1.2. Diferentes nanotecnologías para encapsular y entrega de ingredientes funcionales	12
Tabla 3.1. Fresas con y sin recubrimiento almacenadas a 5 °C durante 8 días	44
Tabla 3.2. Fresas con y sin recubrimiento almacenadas a 25 °C durante 8 días	44
Tabla 3.3. Efecto los diferentes recubrimientos sobre los cambios microbiológicos de las fresas tratadas almacenadas a 5 y 25 °C.....	47
Tabla 3.4. Contenido de humedad de fresas recubiertas y sin recubrir almacenadas a diferentes temperaturas durante 8 días.....	48
Tabla 3.5. Parámetros fisicoquímicos de fresas recubiertas y sin recubrir almacenadas a diferentes temperaturas durante 8 días.	52
Tabla 3.6. Parámetros de color de fresas recubiertas y sin recubrir almacenadas a 5 y 25 °C a los 8 días de almacenamiento.....	54

RESUMEN

El consumo de la fresa se ha relacionado con muchos beneficios para la salud; sin embargo, su vida útil postcosecha asociada a la velocidad de su deterioro, es uno de los principales problemas a resolver con el fin de garantizar su sabor, su color y su valor nutricional.

En este sentido, en esta tesis se desarrolló un bionanocomposito a base de quitosano y ZnO nanoestructurado y su funcionalidad en la preservación de fresas. Para ello, obtuvimos quitosano a partir de exoesqueletos de camarón mediante el método químico asistido por ultrasonido, posteriormente se obtuvo el material de ZnO nanoestructurado mediante el método de sublimación en espacio cercano (CSS) y se obtuvo el bionanocomposito. El ZnO nanoestructurado se caracterizó mediante XRD, SEM, y TEM; el quitosano fue caracterizado mediante FTIR Y SEM. Una vez obtenido el material se evaluó como recubrimiento en la preservación de la fresa, evaluándose color, textura, pH, acidez titulable, contenido de humedad, grados Brix y pruebas microbiológicas. De acuerdo con los principales resultados, el material nanoestructurado de ZnO en fase wurtzita se distribuyó de manera homogénea sobre la solución del quitosano, las pruebas fisicoquímicas (pH, acidez titulable, contenido de humedad, grados Brix y color) y de textura (firmeza) sugieren que las fresas recubiertas con quitosano y ZnO mantuvieron sus propiedades de fresas frescas tras ocho días de almacenamiento. El análisis microbiológico mostró que el uso del bionanocomposito redujo la carga microbiana de las fresas tratadas debido al efecto sinérgico de las propiedades que presentan ambos materiales.

INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es una fruta caracterizada por su sabor y por ser fuente importante de compuestos bioactivos, antioxidantes y fenólicos altamente benéficos para la salud. No obstante, la fresa tiene una vida útil relativamente corta debido a procesos de deshidratación, infecciones por la presencia de diversos agentes patógenos y a la susceptibilidad de sufrir daño mecánico.

Ante este escenario, recientemente la aplicación de empaques activos y recubrimientos comestibles basados en polímeros naturales como el quitosano han sido explorados con resultados prometedores; pues en general, este posee propiedades antifúngicas, antioxidantes y antimicrobianas, además de la habilidad de formar películas o recubrimientos que lo convierten en una opción ideal para su aplicación como material de empaque, para prolongar la vida útil de los alimentos sin alterar sus propiedades sensoriales ¹.

Con la finalidad de mejorar el desempeño de los recubrimientos a base de quitosano, durante los últimos años se han desarrollado materiales compuestos como los recubrimientos o películas con quitosano y ZnO nanoestructurado. El ZnO ha sido evaluado en el área de preservación de alimentos como la fresa pues, además de ser considerado como seguro por la FDA, sus propiedades antibacteriales, bajo costo y estabilidad química y térmica son algunas de las ventajas tecnológicas que hacen al ZnO una opción altamente viable para el desarrollo de bionanocompositos ².

Además, se ha mostrado que los materiales compuestos de quitosano y óxido de zinc nanoestructurado tienen propiedades térmicas, mecánicas, de barrera y antimicrobianas deseables. Ambos materiales han demostrado efectividad en la industria nanotecnológica para aplicaciones farmacéuticas y alimentarias. Con base en lo anterior, en este trabajo se propuso la elaboración de un recubrimiento basado en quitosano y óxido de zinc nanoestructurado (Q/ZnO-NSs) ³.

En esta propuesta se plantea el uso de la técnica de sublimación en espacio cerrado (CSS) y post tratamiento térmico en aire para la obtención de material

nanoestructurado de ZnO. Esto con el objetivo de incorporar el ZnO nanoestructurado en una matriz polimérica (quitosano) a fin de obtener bionanocompositos de quitosano-ZnO y evaluar su rendimiento como recubrimiento en la preservación de la fresa (*Fragaria x ananassa*).

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1 Fresa (*Fragaria* × *ananassa*)

Las fresas son uno de los frutos más importantes tanto económica como comercialmente, dado su amplio consumo tanto frescas como procesadas (mermeladas, jugos y jaleas). México es el segundo proveedor de fresa frescas en el mercado internacional con un 14.83 % del valor de las exportaciones mundiales. Las exportaciones mexicanas representaron en el año 2017 el 87.79 % de las importaciones de Estados Unidos ⁴. Los principales estados productores de fresa son Michoacán, Baja California, Guanajuato y el Estado de México, los cuales aportan el 99 % de la producción total. Otros estados que producen en menor proporción son Aguascalientes, Jalisco, Sinaloa, Oaxaca, Veracruz, Tlaxcala y Puebla ⁴. Debido a esto, las fresas se encuentran entre las bayas más estudiadas desde el punto de vista agronómico, genómico y nutricional ⁵.

1.1.1 Descripción de la planta y de la fresa

El género de la fresa (Figura 1.1), *Fragaria*, pertenece a las *Rosaceae*, una familia de plantas que incluye muchos cultivos de árboles frutales como manzano, melocotón y cereza, plantas frutales herbáceas (fresa y zarzamora), plantas ornamentales (rosa y espino) así como de otros cultivos utilizados en la producción de madera (cerezo) ⁶.

La planta de fresa es de tipo herbáceo, perenne y de porte rastrero, con altura no mayor a 50 cm de altura. Ésta presenta numerosas hojas originadas en un rizoma muy corto, que se encuentra a nivel del suelo y que constituye la base del crecimiento de la planta. Las inflorescencias (color blanco) se desarrollan a partir de una terminal de la corona axiales a las hojas. El fruto se cosecha cuando presenta como máximo el 50 % de su superficie de color rojo tenue o rosa, su diámetro varía de 1.6 a 3.2 cm ⁷.



Figura 1.1. Planta de fresa con flor y fruto (*Fragaria x ananassa*).

1.1.2 Propiedades fisicoquímicas de la fresa

La Tabla 1.1 muestra las propiedades fisicoquímicas de la fresa *Fragaria x ananassa*, las cuales pueden variar de acuerdo con su grado de maduración, condiciones de crecimiento, factores ambientales y especie entre otros. Dentro de las principales propiedades se encuentran el pH, la acidez titulable, los sólidos solubles totales, color y la textura.

Tabla 1.1. Propiedades fisicoquímicas de la fresa (*Fragaria x ananassa*)⁸⁻¹¹.

Propiedad	Intervalo
pH	3.0-3.90
Actividad de agua	0.997-0.986
Acidez titulable (g ácido cítrico/100 g)	0.57-0.81
Sólidos solubles totales (°Bx)	4.89-8.51
Color (superficie)	
L	36.0-42.3
a*	32.8-34.5
b*	24.1-30.4
°h	34.8-42.7
Textura (superficie)	
Firmeza (N)	0.612-1.26

Respecto al pH reportado por diversos autores, es considerado como ácido, lo cual favorece la inhibición del crecimiento microbiano, reduce la resistencia térmica microbiana y brinda estabilidad a las antocianinas¹²⁻¹⁴.

Por su parte, la acidez titulable es utilizada para predecir el impacto del ácido en el sabor del fruto. En conjunto el pH y la acidez titulable brindan aspectos particulares sobre la calidad del fruto ¹⁵. Durante la postcosecha de la fresa, los principales atributos de calidad que contribuyen a la aceptación del consumidor son el atractivo color rojo y el dulzor y sabor afrutado (Figura 1.2). A pesar de los cambios en el color de la fresa a lo largo de su proceso de madurez y el período postcosecha, estos atributos de calidad no se consideraron un factor limitante para la vida útil de la fresa ¹⁶.



Figura 1.2. Tabla de color de los estados de maduración de la fresa ¹⁷.

Otro atributo importante es la firmeza del fruto dado que es asociada con su calidad, la cual debe medirse y controlarse, ya que durante la postcosecha se produce un ablandamiento que influye tanto en la aceptación del consumidor como en la calidad nutricional ^{18,19}.

1.1.3 Composición química de la fresa

En la Tabla 1.2 se presenta el perfil nutrimental de la fresa. En la mayoría de las frutas el agua es el componente que se encuentra en mayor proporción (90-99 %). Es responsable del crecimiento microbiano y reacciones bioquímicas, por lo que desempeña un papel vital en muchas de sus funciones biológicas. En la fresa, el contenido de agua representa el 91.1 % de su masa, el cual contribuye a su deterioro postcosecha, puesto que permite el crecimiento microbiano ²⁰. Por su parte, la fibra dietética, ayuda a controlar la ingesta de calorías por su efecto saciante, contribuye a regular los niveles de azúcar en sangre al ralentizar la digestión ⁵.

Tabla 1.2. Composición nutricional de la fresa (*Fragaria × ananassa*)⁸⁻¹¹.

Componente	Cantidad
Grasa	0.40 g
Colesterol	0 mg
Sodio	1.40 mg
Carbohidratos	5.51 g
Fibra	1.68 g
Azúcares	5.50 g
Vitaminas	
A	3 µg
B12	0 µg
C	54.93 mg
B3	0.79 mg
Proteínas	0.81 g
Hierro	0.46 mg
Calcio	21.47 mg
Humedad	91.1%

La fresa presenta un alto contenido de vitamina C que en conjunto con el folato tiene un papel importante en el metabolismo²¹. Se ha reportado que 250 g de fresas (~60 mg de folato en promedio) pueden proporcionar el 30 % de las cantidades diarias recomendadas de folato⁵. La fresa también es considerada una fuente de vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6, vitamina K, vitamina A y vitamina E. Además de estos compuestos, las fresas contienen una variedad de componentes bioactivos como los polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas, lignanos y taninos)^{5,8}.

1.1.4 Vida útil de la fresa

Las fresas tienen una vida de anaquel corta debido a que son susceptibles al daño mecánico, ablandamiento excesivo de la textura, deshidratación, desórdenes fisiológicos e infecciones causadas por patógenos que pueden reducir rápidamente la calidad de la fruta. La vida útil de las fresas almacenadas sin refrigeración es de 3 a 4 días, mientras que en refrigeración se extiende alrededor de 2 semanas^{22,23}.

Algunos de los patógenos reportados en las fresas durante su almacenamiento son la *Botrytis cinérea* y *Rhizopus stolonifer* (Figura 1.3).



Figura 1.3. Fresas afectadas por (a) *Botrytis cinérea* y (b) *Rhizopus stolonifer*.

Las fresas presentan un alto nivel de contaminación en comparación con otro tipo de frutas, su epidermis turgente, alta tasa de respiración, alto nivel de actividad de agua (A_w), altos niveles de azúcares y otros nutrientes, y una piel suave que puede romperse fácilmente, la hacen susceptible al daño mecánico y a la invasión por hongos patógenos¹⁵⁴.

El *B. cinerea* infecta hojas, tallos, flores y frutos²⁴ y es un obstáculo importante para el transporte y almacenamiento a larga distancia²⁵. Por su parte, *R. stolonifer* es causante de pudrición de varias frutas y verduras. Este hongo infecta principalmente la fruta madura solo después de la cosecha, a menos que la fruta en el campo tenga lesiones graves. Por lo tanto, es importante encontrar métodos adecuados para preservar la calidad de las fresas durante el almacenamiento^{22, 24,26}.

1.1.5 Efecto de los tratamientos sobre calidad y vida postcosecha

La práctica más común es almacenar los frutos a temperaturas bajas, ya que esto desacelera el crecimiento microbiano, sin embargo, se ha reportado que presenta efectos perjudiciales, reduciendo la capacidad antioxidante y los flavonoides²⁷.

Como se ha mencionado con anterioridad, uno de los principales retos para el desarrollo del cultivo comercial de fresa e incluso en la postcosecha de la fruta, es el manejo de las enfermedades que en su gran mayoría son de carácter fungoso. Para contrarrestar este problema, comúnmente se utilizan productos químicos sintéticos como carbendazim; no obstante, se ha demostrado que dichos

productos representan riesgos potenciales para la salud humana y el medio ambiente, que pueden generar cambios indeseables en el sabor y valor nutricional ^{22,23,28,154}.

A nivel doméstico se usa el hipoclorito de sodio (NaOCl) puesto que se ha demostrado que reduce la actividad microbiana en las fresas, ²⁹ no obstante, el ácido hipocloroso, sustancia presente en la solución de NaOCl, interactúa con las macromoléculas biológicas y libera cloro (oxidante fuerte), lo que inhibe enzimas y cloraminas que interfieren en el metabolismo celular ³⁰ que eventualmente provoca la formación de compuestos altamente mutagénicos, como trihalometanos, ácidos haloacéticos, bromatos y cloritos ³¹.

1.2 Técnicas de conservación de fresas

Diferentes métodos han sido aplicados para incrementar la vida de anaquel de las fresas.

La vida de anaquel está definida como el periodo de tiempo durante el cual un producto alimenticio conserva su calidad sensorial, química, física, microbiológicas y funcionales deseadas ^{17,32}.

Algunos de los métodos más utilizados para prolongar la vida de anaquel de este fruto son:

1. Tratamiento térmico

El uso de calor o tratamiento térmico es considerado como una de las técnicas tradicionales para la conservación de alimentos. El proceso generalmente implica calentar los alimentos a una temperatura entre 45-90°C ³³. Es uno de los tratamientos postcosecha más efectivos, pues impacta directamente reduciendo la descomposición y el mantenimiento de varios rasgos de calidad, así como reducir la presencia de patógenos. Sin embargo, exponer las frutas o verduras a altas temperaturas puede atenuar algunos procesos y potenciar otros, por lo que depende del tipo de fruta y de los tratamientos a altas temperaturas (inmersión o en forma de vapor) ^{34,35}. Para el caso de la fresa se ha encontrado una mayor actividad antioxidante en la fruta tratada con calor durante el almacenamiento, lo

que indica que el calor podría proteger la fruta contra especies reactivas de oxígeno generadas durante la senescencia o el ataque de patógenos ³⁶.

Por otra parte, el tratamiento térmico conduce a la disminución de la frescura y a la pérdida de nutrientes, como consecuencia, la búsqueda de métodos de conservación con cambios adversos mínimos y que retengan su valor nutricional es necesaria.

2. Enfriamiento y congelación

El enfriamiento y la congelación son tratamiento que han sido aplicados para la conservación de fresas, ya que mantienen sus atributos sensoriales y las propiedades nutricionales. El proceso de enfriamiento y congelación se basa principalmente en el proceso de transferencia de calor ^{37,38}. Esta técnica de conservación se enfoca a la disminución del metabolismo y, por lo tanto prolongar la senescencia (proceso de degradación y envejecimiento o muerte del tejido) ³⁹. Si bien el enfriamiento y la congelación son efectivos en sus propios términos, la temperatura de congelación por debajo del punto de congelación de la fresa (-1.1 °C) puede destruir las membranas celulares y causar considerables cambios en el volumen, daño mecánico y agrietamiento por congelación, adicionalmente algunos compuestos bioactivos como las vitaminas A y C, carotenoides y compuestos fenólicos pueden verse afectados debido al congelamiento y al almacenamiento prolongado ⁴⁰.

3. Tratamiento con altas presiones

Es una tecnología no térmica que se basa en utilizar agua como medio de transferencia de presión (desde 0 hasta 800 MPa). Esta técnica se caracteriza por un impacto mínimo de las propiedades de los alimentos (sensoriales, nutricionales y funcionales) ⁴¹. En comparación con la preservación a base de tratamientos térmicos tradicionales, el tratamiento a altas presiones ha demostrado una mejor retención de compuestos bioactivos como la vitamina C y el color de los productos a base de fresa ⁴².

No obstante, se ha informado que la estructura de las moléculas de alto peso molecular, como las proteínas y los carbohidratos, pueden alterarse mediante el procesamiento a alta presión, asimismo, pueden ocurrir inconvenientes debido a

la destrucción de enlaces covalentes que retienen el sabor, color y nutrientes o afectar la integridad de la fresa debido a la acumulación de aire confinado en la matriz alimenticia durante la presurización y descompresión, alterando los tejidos del fruto ^{17,43}.

4. Irradiación con diferentes fuentes como rayos gamma, rayos x o rayos UV

Este tipo de tratamiento de conservación es un método efectivo y seguro para el procesamiento de alimentos. Esta técnica implica la exposición a una radiación ionizante (radiación con suficiente energía para expulsar electrones de sus átomos e ionizar moléculas).

Esta tecnología ha sido empleada eficazmente en la disminución de la incidencia de descomposición y la pérdida de peso en la fresa durante el almacenamiento ⁴⁴⁻⁴⁶, así como para la eliminación de agentes patógenos y contaminantes naturales, pues afecta a microorganismos como bacterias, levaduras y mohos al causar lesiones en el material genético de las células.

Algunos investigadores han reportado el método de irradiación por rayos gamma como el método más efectivo para extender la vida de anaquel de los productos recién cosechados, estableciendo qué altas dosis de irradiación pueden conllevar a la disminución de la firmeza de la fresa y de su calidad organoléptica. Otros factores asociados a esta tecnología son los costos operacionales y la inversión de capital inicial ^{17,47}.

5. Tratamiento con Ozono

El ozono es reconocido como un agente antimicrobiano y antiviral para el almacenamiento, lavado y procesamiento de frutas y vegetales ⁴⁸. En los últimos años, el ozono ha sido incluido en la lista de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) como un solvente generalmente reconocido como seguro (GRAS). En comparación con el cloro, su degradación deja un residuo insignificante cuando se trata con alimentos sólidos o bebidas ³³.

Los efectos del tratamiento con ozono han sido evaluados sobre las características fisiológicas, el metabolismo del oxígeno activo y las propiedades antioxidantes de la fresa. Algunos resultados han revelado la inhibición de la pérdida en peso y la

tasa de respiración de la fresa, mientras que algunos parámetros como la firmeza y la cantidad de sólidos solubles totales se han visto disminuidos ⁴⁹.

1.2.1 Nanotecnología para la conservación de alimentos

La nanotecnología involucra cualquier material o nanopartícula que tenga una o más dimensiones del orden de 100 nm o menos ⁵⁰. La razón del éxito de la nanotecnología se debe a sus resultados prometedores, ausencia de emisión de contaminantes, eficiencia energética y menor necesidad de espacio. La nanotecnología también ha mostrado aplicaciones versátiles en términos de seguridad, toxicidad y evaluación de riesgos en áreas como la agricultura ⁵¹, la alimentación y el medio ambiente ⁵².

Respecto a la industria de alimentos, el desarrollo de nanopartículas se ha enfocado en el procesamiento de alimentos, envasado, desarrollo de alimentos funcionales, seguridad alimentaria, detección de patógenos transmitidos por los alimentos y la extensión de la vida útil de los alimentos ⁵³ y/o productos alimenticios (Tabla 1.2) ⁵⁴.

Tabla 1.3. Diferentes nanotecnologías para encapsular y entrega de ingredientes funcionales

Nanotecnología	Características	Ejemplo
Recubrimientos comestibles	Para preservar la calidad de los alimentos frescos durante el almacenamiento prolongado.	Recubrimientos comestibles a base de gelatina que contienen nanocristales de celulosa.
Hidrogel	Propuesto para uso agrícola con el objetivo de aumentar las propiedades de retención de agua de los medios de cultivo.	Cápsulas de colágeno, gelatina, alginato y agarosa. Recubrimientos de quitosano/nanosilica.

Nanopartículas inorgánicas	Protege los medicamentos de ambientes extremos y los administra en respuesta a estímulos ambientales como el pH y la temperatura.	Película de quitosano con nano-SiO ₂ . Hidrogeles de proteínas.
	Buena capacidad de encapsulación y sus superficies rígidas permiten una funcionalización controlada.	Nanopartículas de sílice mesoporosas. Nanopartículas de ZnO.
	Mejora la actividad antioxidante en los sistemas de empaques extendiendo la vida útil de los alimentos.	

1.3 Quitina y quitosano

La quitina (poli [β -(1-4)-2-acetamido-2-desoxi-D-Glucopiranos]) es un polisacárido ampliamente distribuido en la naturaleza, ocupa el segundo lugar en abundancia después de la celulosa, aunque presenta una tasa de recambio mayor que ésta.

La estructura química de ambos compuestos es similar entre sí; la diferencia entre ellas se encuentra en el carbono 2, que contiene un grupo hidroxilo en la celulosa y un grupo acetamida en la quitina (Figura 1.4) ^{55,56}. Si bien el grupo funcional acetamida se encuentra en casi todos los monómeros de la quitina, en algunos se tiene un grupo funcional amina en su lugar, generalmente en un 5 a 10 % del total de monómeros en la cadena polimérica ^{57,58}. La quitina se encuentra como material de soporte y defensa en exoesqueletos de invertebrados, tales como artrópodos, crustáceos e insectos; también se puede hallar en la pared celular de algunas especies de hongos y algas; solamente en estas últimas todos los monómeros se encuentran acetilados ⁵⁵.

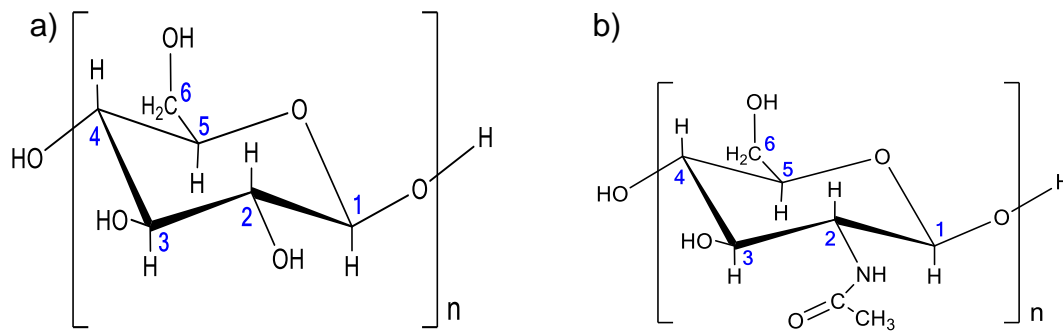


Figura 1.4. Estructura química de a) celulosa y b) quitina.

La principal fuente de materia prima para la producción de quitina son los desechos de la industria pesquera, fundamentalmente esqueletos de camarones y cangrejos ⁵⁶, estimados en el orden de 10^6 toneladas por año, con un contenido de quitina que va del 10 al 30 % en materia seca dependiendo de la especie y la época del año ^{55,58}.

Dependiendo de la especie de la materia prima, la quitina se encuentra asociada de diferentes maneras. En los crustáceos, ésta se halla unida con proteínas, pigmentos y sales inorgánicas, es por ello que para su aislamiento se requiere de tratamientos que permitan eliminar estos componentes.

Uno de los métodos más utilizados para la extracción de quitina a partir de crustáceos es el tratamiento químico con bases y ácidos fuertes, procedimiento que involucra la desmineralización con ácido clorhídrico (HCl) o ácido sulfúrico (H₂SO₄), la desproteinización con hidróxido de sodio (NaOH) y la despigmentación por medio de agentes oxidantes ⁵⁹. La composición promedio para los exoesqueletos de camarón es de un 13-58 % de proteína, 20-72 % de carbonatos y fosfatos de calcio, 0.8-12.0 % de lípidos y 13-45 % de quitina ^{55,59}.

La quitina se puede hallar en tres formas polimórficas denominadas α-, β- y γ-quitina, siendo la primera la más abundante. La diferencia entre ellas es la disposición de las cadenas en la región cristalina. Así, en la α-quitina se presentan en disposición antiparalela, mientras que en la β-quitina se presentan paralelas, y en la γ-quitina, se encuentran dos cadenas paralelas en un sentido y la siguiente en sentido opuesto (Figura 1.5) ⁵⁵. La quitina es insoluble en agua, en álcalis y

ácidos diluidos, y en la mayoría de los disolventes orgánicos, lo cual restringe sus aplicaciones. La transformación de los grupos funcionales acetamida en grupos funcionales amina, amplía las posibilidades de aplicación al generar un polímero con grupos amina libres que le permiten reaccionar en infinitud de formas.

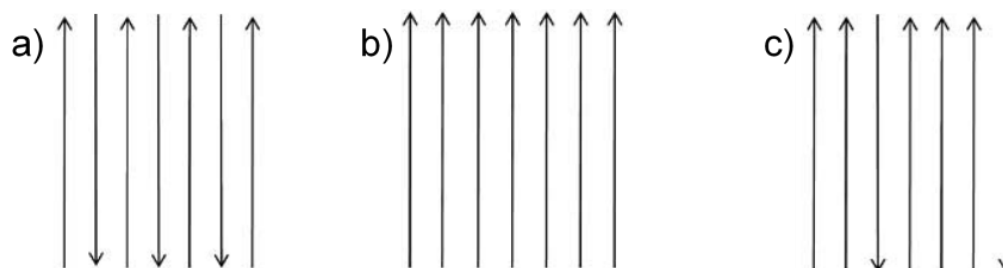


Figura 1.5. Configuraciones polimórficas de la quitina: a) α -quitina, b) β -quitina y c) γ -quitina.

El quitosano es un polisacárido nitrogenado lineal que se encuentra raramente en la naturaleza, pero puede ser hallado en algunos hongos como el *Mucor Rouxi* en el que se forma por la acción de la enzima desacetilasa^{60,61}. Se obtiene principalmente mediante la desacetilación parcial de la quitina. Esta reacción consiste comúnmente en un tratamiento con soluciones alcalinas concentradas y el uso de altas temperaturas bajo condiciones heterogéneas (Figura 1.6)^{55,62}. Mediante este proceso lo que se consigue es transformar parte de los grupos funcionales acetamida de la quitina en grupos funcionales amina; por ello, el quitosano es en realidad un copolímero constituido por unidades repetitivas de $[\beta(1,4)\text{-}2\text{-acetamido-}2\text{-desoxi-D-Glucopiranos}]$ (x) y $[\beta(1,4)\text{-}2\text{-amino-}2\text{-desoxi-D-Glucopiranos}]$ (y), y grupos funcionales aminas, los cuales deben ser superiores al 50 % para que el polímero desacetilado pueda considerarse como quitosano (Figura 1.7)^{55,63}. La presencia de grupos amina en la cadena polimérica le confiere al quitosano un comportamiento tipo básico que le permite formar sales con ácidos y originar polielectrolitos, además, le otorga propiedades como la quelación, mucoadhesión, hemostaticidad, efecto filmogénico, capacidad antioxidante, capacidad de adsorción y actividad antimicrobiana^{63,64}, además de que puede ser sometido a una gran posibilidad de modificaciones⁶⁵, lo cual, aunado a su

biocompatibilidad, no toxicidad y biodegradabilidad, ha hecho del quitosano uno de los materiales más estudiados actualmente ⁶⁶.

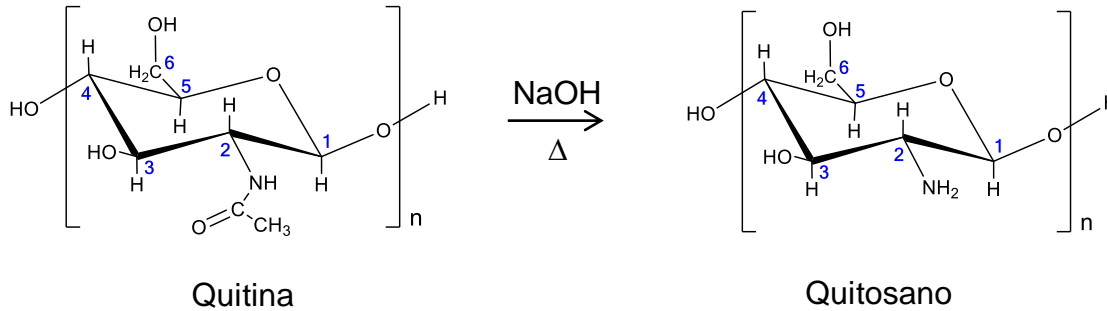


Figura 1.6. Ecuación química de la desacetilación de la quitina.

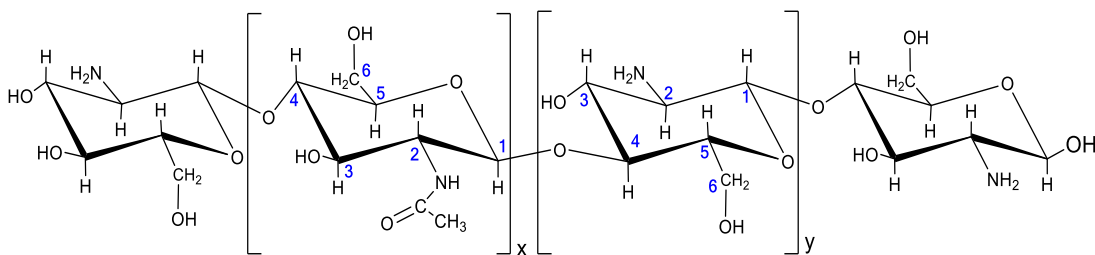


Figura 1.7. Estructura química del quitosano.

Se ha encontrado una variedad de aplicaciones para el quitosano en alimentación, medicina, cosmética, farmacéutica, agricultura y medio ambiente, entre otras.

Sin embargo, el área en la cual este biopolímero puede ser utilizado depende en parte del porcentaje o grado de desacetilación (% NH₂) que presente y de su peso molecular (PM) ^{55,67,68}. Esto se debe a que, estos dos parámetros son los que más influyen en sus propiedades funcionales ^{65,69,70}.

Para aplicaciones relacionadas con el consumo humano se deben determinar, además el contenido de cenizas y la cantidad de humedad ^{63,71}. Actualmente, los principales parámetros con los que está disponible el quitosano comercial son el porcentaje de desacetilación, grado de polimerización, contenido de cenizas y la ausencia de bacterias contaminantes ⁶³.

1.3.1 Propiedades y aplicaciones del quitosano

El quitosano ha sido utilizado ampliamente en diferentes campos como la agricultura, la medicina, sector alimenticio, cosmético, textil, farmacéutico, biotecnológico y en el tratamiento de aguas residuales ⁷². Propiedades como su biocompatibilidad, biofuncionalidad y biodegradabilidad hacen del quitosano uno de los biopolímeros más utilizados en diversas aplicaciones. Además, la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por su sigla en inglés) ha enunciado que el quitosano probablemente no tendrá ninguna influencia adversa en el medio ambiente, a mayor grado de desacetilación menor velocidad de degradación presenta. Sin embargo, este puede degradarse mediante reacciones de óxido-reducción, radicales libres, o mediante bacterias, hongos, otras plantas y por el ser humano ⁷³.

Este polímero es comestible, biodegradable y no tiene consecuencias adversas como actividades alergénicas, mutagénicas o cancerígenas, razón por la que se usa generalmente en productos alimenticios; debido a sus propiedades antimicrobianas puede disminuir las pérdidas por descomposición y enfermedades tanto en etapas previas, como posteriores a la cosecha.

La naturaleza policatiónica del quitosano juega un papel importante en su actividad microbiana, ya que los grupos amino cargados positivamente interactúan con las cargas negativas de las membranas celulares microbianas alterándolas.

La actividad antimicrobiana del quitosano depende del peso molecular y el grado de acetilación. Se ha demostrado que el quitosano con bajo peso molecular y grado de acetilación bajo, tiene una mayor eficacia reduciendo e inhibiendo la velocidad de crecimiento de microorganismos. Por otra parte, las propiedades biológicas inherentes del quitosano en conjunto con su habilidad para formar recubrimientos o películas lo convierten en un candidato ideal como material de empaque de alimentos.

La efectividad del quitosano puede mejorarse cuando se combina con compuestos orgánicos e inorgánicos; a estos se les suele llamar cargas. Su combinación con aceites esenciales, ácidos orgánicos y otras sustancias como etanol y ceras ha incrementado la preservación de frutas. El quitosano cargado con iones metálicos

como calcio, zinc y cerio, mejoran la firmeza, mantiene la calidad, extiende la vida post cosecha y ayuda en la disminución de residuos de pesticidas en frutas. Nanomateriales inorgánicos como ZnO y CaCO₃ ha demostrado reducir el decaimiento, la actividad enzimática, velocidad de respiración y la pérdida en peso⁷³. El quitosano ha sido utilizado como tratamiento o recubrimiento de semillas de varios cultivos como el trigo, algodón, soya y otros vegetales para mejorar su crecimiento, además de actuar como un agente protector contra infecciones fúngicas y ataques de insectos.

Ante la creciente demanda de empaques degradables, seguros y naturales; el quitosano es una alternativa viable, pues es capaz de formar un recubrimiento semipermeable que mejora la vida post cosecha de frutas y vegetales al disminuir su respiración y las pérdidas asociadas a la transpiración. Al ser no tóxico, biodegradable y con propiedades antioxidantes y antimicrobianas, representa además una manera no tóxica de eliminar los agentes patógenos y plagas de insectos. Además, puede obtenerse en forma de películas, nanopartículas y perlas y puede depositarse mediante inmersión o rociado. El quitosano en forma de película ha sido utilizado para el mantenimiento de la calidad y la prolongación de la vida postcosecha de diversos alimentos y productos hortícolas^{22,34,74}.

1.4 Óxido de Zinc

El óxido de zinc (ZnO) es un material multifuncional con propiedades físicas y químicas únicas, tales como: estabilidad química, fotoestabilidad y amplio intervalo de absorción de la radiación. Sus propiedades piezoeléctricas (capacidad que tienen los cristales, para generar energía al ser accionados, pulsados o tensionados⁷⁹) y piroeléctricas (capacidad de generar una diferencia de potencial temporal entre los extremos del material ante el calentamiento y/o el enfriamiento⁷⁹) han permitido su uso en sensores, generadores de energía y como fotocatalizador⁷⁵. Debido a su dureza y rigidez, el ZnO es un material importante en la industria cerámica; su baja toxicidad, alta biocompatibilidad y biodegradabilidad, lo han convertido en un material de interés para la biomedicina y en sistemas pro-ecológicos. Este compuesto es un polvo blanco insoluble en

agua, y es comúnmente usado como aditivo en diversos materiales y productos, por ejemplo: caucho, plásticos, cerámicas, vidrio, cemento, lubricantes, pinturas, ungüentos, adhesivos, selladores, pigmentos, comida, baterías, ferritas, retardadores de fuego y cintas de primeros auxilios.

El ZnO es un semiconductor del grupo II-VI y se ha preparado en forma de polvos, fibras, películas y nanoestructuras (NSs). Estas últimas (ZnO-NSs) tienen gran importancia debido a que pueden utilizarse como material antimicrobiano, su costo de producción es bajo y tienen baja toxicidad, entre otras propiedades.

Tradicionalmente, las ZnO-NSs han sido obtenidas por una gran variedad de rutas físicas y químicas, que han permitido la obtención de partículas con diferentes formas, tamaños y estructuras. Entre las rutas físicas se encuentran el depósito por láser pulsado, la pulverización catódica, la evaporación térmica, el depósito químico en fase vapor (CVD), etc. Actualmente, las rutas químicas son las más empleadas, entre las más frecuentes se hallan, la hidrotermal, la solvotermal, la precipitación y la hidrólisis. Se ha explorado la síntesis de las ZnO-NSs mediante técnicas verdes empleando extractos de plantas como una alternativa, evitando así el uso y generación de sustancias tóxicas. Sin embargo, aún hay poca información relacionada con sus propiedades fisicoquímicas, toxicidad, actividad antibacteriana, estabilidad, reproducibilidad y viabilidad para estos fines ^{76,77}.

1.4.1 Métodos de síntesis del ZnO

1.4.1.1 Precipitación

La precipitación controlada es uno de los métodos más utilizados para la obtención de ZnO. La metodología involucra la reducción rápida y espontánea de una sal de zinc en solución empleando un agente reductor para limitar el crecimiento de partículas con dimensiones específicas, seguido de la precipitación del precursor de zinc presente en la solución.

Posteriormente, este precursor se somete a tratamiento térmico, seguido de una molienda. En general, el proceso de precipitación es controlado mediante parámetros como pH, temperatura de reacción y tiempo de precipitación, además de considerar la concentración y velocidad de adición de los reactivos precursores

que pueden ser nitruros, cloruros y acetatos de zinc ⁷⁸. El control de estos parámetros he permitido la obtención de partículas de ZnO monodispersas y con una alta área superficial ⁷⁵.

1.4.1.2 Sol-Gel

Debido a su simplicidad, bajo costo, reproducibilidad y a sus condiciones suaves de síntesis, la obtención de nanopolvos de ZnO mediante el método sol-gel es una de las más utilizadas pues ha permitido la modificación superficial del ZnO usando compuestos orgánicos específicos.

Las propiedades ópticas que se obtienen mediante esta metodología han sido objeto de investigación durante los últimos años. Este método ha sido empleado para la obtención de ZnO nanocristalino a partir de la suspensión coloidal y la posterior formación de una red tridimensional de precursores como el acetato de zinc, dietanolamina y etanol como solvente.

El proceso implica las etapas de hidrólisis, condensación, gelificación, añejamiento, secado y cristalización ⁷⁹. Las temperaturas de reacción oscilan entre la temperatura ambiente y los 60-80 °C y el tratamiento térmico posterior puede ir desde los 100 hasta los 650 °C. Mediante este método de síntesis se han obtenido estructuras hexagonales y estructuras esféricas uniformes ⁸⁰.

1.4.1.3 Método solvotermal e hidrotermal

Esta ruta involucra el uso de altas temperaturas y presiones (100-1000 °C y 1 a 10,000 atm) empleando agua o una combinación de agua y solventes orgánicos. La síntesis tiene lugar en una autoclave, en donde la mezcla de precursores a base de nitratos o acetatos de zinc es llevada a temperaturas elevadas, siendo el uso de autoclaves la principal desventaja de esta técnica debido al costo. Parámetros como el tipo de solventes, la fuente de solución alcalina o el uso de surfactantes, determinan las características de las nanopartículas sintetizadas. Este proceso tiene varias ventajas como la posibilidad de llevarlo a cabo a altas temperaturas y presiones, así como el control de las diversas formas y dimensiones de los productos a partir de la modificación de la composición inicial

de la mezcla y de parámetros como presión y temperatura. Gracias a esto, se ha logrado la obtención de productos con una elevada cristalinidad y alta pureza ^{75,81}.

1.4.1.4. Sublimación de espacio cercano (CSS)

Usualmente, la técnica de sublimación en espacio cercano (CSS) es uno de los métodos para sintetizar películas delgadas semiconductoras de la familia II-VI como sulfuro de cadmio (CdS), telurio de cadmio (CdTe) y compuestos relacionados ⁸². La característica principal de la técnica es la cercanía que existe entre la fuente sólida y el sustrato.

Las propiedades de las películas obtenidas mediante esta técnica dependen de diversos parámetros de síntesis, siendo las más importantes: la separación entre fuente y sustrato (típicamente 1-5 mm), el ambiente dentro del reactor (puede operar a presión atmosférica o en vacío), el uso de fuentes sólidas y el gradiente de temperatura que se establece entre fuente (en el intervalo de temperatura de 200 a 700 °C) ⁸³.

La técnica provee las ventajas de obtener una alta tasa transferencia de masa de la fuente al sustrato (velocidades de crecimiento en el intervalo de 1-5 micrómetros por minuto), facilidad en el control de los parámetros de síntesis y la viabilidad de su escalamiento a nivel industrial ^{84,85}.

Por otro lado, se ha empleado la técnica CSS y tratamientos térmicos en ambiente de aire a condiciones atmosféricas en la obtención de material nanoestructurado de ZnO. Los resultados revelaron que a través de esta metodología es posible confeccionar las propiedades morfológicas y estructurales del material nanoestructurado de ZnO de forma simple, ecológica y reproducible ⁸⁴.

La permite la síntesis de estructuras tipo núcleo/coraza de Zn/ZnO. En las cuales, la eficiencia biocida del ZnO depende del estímulo externo de fotoirradiación en el visible para generar especies reactivas de oxígeno (ROS).

Un estudio reciente ha mostrado que las estructuras del tipo Zn/ZnO presentan una actividad antibacteriana superior en comparación al ZnO por sí solo, incluso en condiciones de oscuridad. Lo anterior fue atribuido a que dicha estructura genera una mayor concentración de ROS ⁸⁶.

En este contexto, las restricciones normalmente impuestas a las nanoestructuras de ZnO en el bionanocomposito tales como: facilidad para obtener una amplia gama de morfologías, valores altos en la relación superficie a volumen y control de la estequiometría, pueden ser cubiertas cabalmente mediante la técnica CSS, obteniendo así grandes ventajas de síntesis.

1.4.1.5 Otros métodos para la obtención de ZnO

Existen otros métodos para la obtención de ZnO, tales como el crecimiento en fase gaseosa, el método de rocío químico pirolítico, método sonoquímico y empleando microondas. Para el caso del método de rocío químico pirolítico, la solución precursora es atomizada, evaporada y descompuesta para la formación de películas y partículas. Los precursores de zinc son disueltos en agua y bajo la presión del aire, la solución es nebulizada. Posteriormente, ocurre la descomposición de las gotas en el reactor a temperaturas altas (1200 °C) y se obtienen nanopartículas que posteriormente se secan en un horno ⁷⁹.

Para la obtención de ZnO mediante fase gaseosa (aire, nitrógeno, oxígeno, etc.) se considera un amplio rango de valores de tiempo y temperatura de calentamiento que conllevan a la obtención de diversas morfologías, porosidades y pureza de la superficie cristalina.

En el caso del método sonoquímico, la solución precursora acuosa de nitrato de zinc se somete a condiciones de ultrasonido durante un tiempo y bajo temperaturas de hasta 80°C. Cuando se utiliza radiación con microondas para la obtención de ZnO, se considera una mejor distribución de la temperatura entre la superficie y el bulto del material que además comienza desde el centro de la muestra da lugar a la formación rápida de nanopartículas de ZnO. Adicionalmente, pueden llegar a obtenerse altos rendimientos, además de un material con mejor selectividad y altas velocidades de reacción ⁸⁷.

1.4.2 Propiedades y aplicaciones de las ZnO-NSs

Las nanopartículas de ZnO son consideradas materiales multifuncionales, debido a que exhiben diversas propiedades como una alta actividad antimicrobiana, emisión en la región UV cercana, piezoelectricidad, transparencia óptica y

conductividad eléctrica ⁸⁸. Estas nanopartículas se han utilizado en cosméticos, materiales para empaque de alimentos y biosensores, esto, debido a su excelente biocompatibilidad.

Existe una estrecha relación entre las propiedades morfológicas y estructurales de materiales nanoestructurados de ZnO con su actividad antimicrobiana, tanto en empaques como en recubrimientos comestibles. Generalmente, el material nanoestructurado de ZnO posee la capacidad de inactivar el crecimiento de hongos y bacterias, dando como resultado una minimización de riesgos por contaminación y por ende una extensión de vida de los productos alimenticios ⁸⁸. Las nanopartículas de ZnO han sido utilizadas en el área de la conservación de alimentos por sus propiedades antibacterianas (98.86 % contra *Staphylococcus aureus* y 99.93 % contra *Escherichia coli*) ⁸⁹.

Se ha descubierto que el recubrimiento de las nanopartículas de ZnO en conjunto con carboximetil celulosa (OPs-ZnO NPs/CMC) mejoró la actividad antimicrobiana ante *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger*, disminuyendo además la pérdida de peso y el índice de pudrición, extendiendo la vida útil de frutos como la fresa ⁹⁰.

La actividad antibacteriana del ZnO nanoestructurado es una consecuencia de su exposición a la radiación que, al estar en contacto directo con la pared celular de bacterias y/o hongos provoca una destrucción de la integridad de los microorganismos al liberar iones de Zn²⁺ y promover la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) ⁹¹.

Recientemente, se ha investigado una gran variedad de bionanocompositos a base de quitosano y ZnO nanoestructurado empleando diversas morfologías. A diferencia de otros óxidos metálicos, el ZnO nanoestructurado es reconocido como material seguro (GRAS) por la Administración de medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA)⁹². Además, el zinc es un metal traza ubicuo esencial para un vasto número de metaloenzimas en organismos vivos ⁹³.

El ZnO nanoestructurado presente en los empaques puede llegar a migrar hacia los alimentos, esta migración depende de factores como la concentración, el tamaño, la forma y la dispersión, factores ambientales como la temperatura o el

estrés mecánico, pH, así como de las propiedades del polímero que contenga al ZnO nanoestructurado, también son determinantes en su efectividad. En general, no existe un protocolo establecido sobre la migración de estos composites nanométricos usados como empaques, sin embargo, se sabe que, durante este fenómeno, los compuestos pueden llegar a transformarse cuando están en contacto con los alimentos ⁸⁸ .

En el ZnO, la migración ocurre a partir de un proceso de disolución que resulta en la migración de iones de Zn^{2+} ⁹⁴. Es importante considerar que la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha establecido un Límite de Migración Específica (SML) de 5 a 25 mg de Zn/ kg de alimento ⁹⁵. El Instituto Nacional de Salud para los materiales en contacto con alimentos impuso un consumo diario de Zn de 40 mg/día para el cuerpo humano ^{88,96} .

1.5 Bionanocompositos a base de Quitosano y ZnO en la preservación de frutas

Los “Nanobiocompositos” abren una oportunidad para el uso de materiales compuestos novedosos de alto rendimiento, ligeros y ecológicos, lo que los convierte en materiales idóneos para sustituir a los plásticos tradicionales no biodegradables. Como matriz se han utilizado biopolímeros como el quitosano (CS), la carboximetilcelulosa (CMC), ácido poliláctico (PLA), succinato de polibutileno (PBS), almidón y el celofán ⁷⁶; como carga las nanoarcillas de silicato en capas, como la montmorillonita (MMT) y la caolinita y nanoestructuras de óxido de zinc, de óxido de titanio (TiO_2) y de plata (Ag-NSs) han sido ampliamente utilizadas. Con relación a los nanobiocompositos que contienen quitosano, se ha reportado la presencia de ZnO desde 2 hasta un 8% con tamaños de nanopartícula entre 10 y 30 nm ⁹⁷⁻⁹⁹; se ha mostrado que su actividad antibacteriana es función del contenido de ZnO ^{98,100}, sin embargo, en algunas otras investigaciones el contenido puede variar en función del color de la película, valores de migración, propiedades mecánicas, térmicas, protección ante radiación UV y actividad antimicrobiana ^{97,100-103}. El porcentaje de ZnO en el nanobiocomposito estará sujeto a la dispersión de las nanoestructuras en la matriz polimérica ^{97,102,104,105} .

1.6 Hipótesis

Aplicar un nanobiocomposito de quitosano y ZnO nanoestructurado como recubrimiento de fresas aumentando su vida de anaquel.

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo general

- Obtener bionanocompósitos a partir de quitosano y ZnO nanoestructurado (Q-ZnO-NSs) para la preservación de fresas.

1.7.2 Objetivos específicos

- Obtener ZnO nanoestructurado por el método de sublimación en espacio cercano (CSS).
- Obtener quitosano a partir de exoesqueletos de camarón utilizando el método químico asistido por ultrasonido.
- Obtener bionanocompósitos basados en quitosano y ZnO nanoestructurado.
- Caracterizar los bionanocompósitos mediante técnicas espectroscópicas (Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Espectroscopía de Energía Dispersiva (SEM-EDS).}
- Examinar los bionanocompositos mediante su análisis fisicoquímico (porcentaje de humedad, pH, sólidos solubles totales y acidez titulable).
- Evaluar la funcionalidad de los bionanocompósitos en la preservación de fresas mediante pruebas microbiológicos (bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras).

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1 Obtención del ZnO nanoestructurado mediante sublimación en espacio cercano (CSS)

2.1.1 Preparación de sustratos

Se emplearon sustratos de cuarzo de 1.5 cm^2 , los cuales se sometieron a un proceso de limpieza utilizando diferentes solventes orgánicos. En un vaso de precipitado se vertió una cantidad suficiente de xileno; posteriormente los sustratos se sumergieron en este solvente y se sometieron a baño ultrasónico a una temperatura de $35\text{-}40 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 10 min. El mismo procedimiento se llevó a cabo también con acetona y propanol. Finalmente, se enjuagó el material con agua desionizada (resistividad $18 \text{ M}\Omega\text{-cm}$) y se secó con gas de nitrógeno de alta pureza.

2.1.2 Arreglo CSS

Sobre el calefactor se colocó la pastilla de zinc (fuente del material); encima de ésta se colocó un anillo de cuarzo (1 cm de espesor) que actúa como separador entre la fuente y el sustrato de cuarzo.

En la Figura 2.1 se muestra el arreglo experimental simplificado del sistema CSS ilustrando sus elementos principales, así como los parámetros de síntesis asociados a ellos.

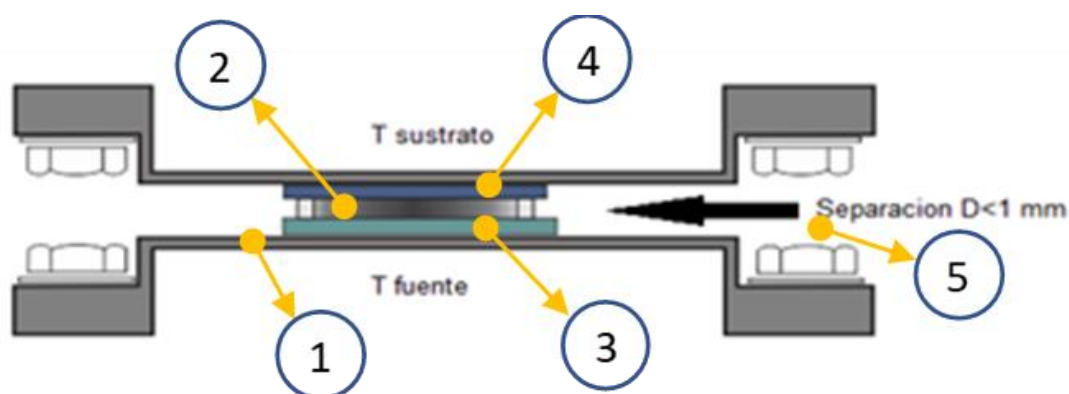


Figura 2.1. Arreglo CSS para la síntesis de películas delgadas: 1) Calefactores de grafito; 2) Separador anillo de cuarzo; 3) Fuente; 4) Sustrato y 5) Separación fuente-sustrato.

2.1.3 Depósito del material nanoestructurado de Zinc

Las capas nanoestructuradas de zinc fueron sintetizadas bajo las siguientes condiciones experimentales: presión del reactor: 150 mTorr, temperatura de la fuente de 400 °C, temperatura del sustrato de 350 °C, vacío de la cámara 5 mTorr, distancia entre fuente y sustrato de 1 mm y tiempo de depósito de 10 min.

2.1.4 Obtención del material nanoestructurado de ZnO

Las capas nanoestructuradas de ZnO fueron obtenidas mediante un proceso de oxidación térmica del material nanoestructurado de zinc (ZnO-NSs); se realizó en un horno tubular de paredes calientes con recubrimiento de oro a presión atmosférica (780 mTorr) y temperatura de 500 °C considerando un tiempo de recocido de 60 min.

2.2 Caracterización del material nanoestructurado de ZnO

El ZnO-NSs se caracterizó mediante Microscopía Electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) (TESCAN SEM Vega, modelo TS-5136SB), Difracción de Rayos X (XRD) (BRUKER D8 Discover) y Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) (JEOL EM-ARM2000CF).

2.3 Preparación de la materia prima (esqueletos de camarón)

Se utilizaron exoesqueletos de camarón sin ningún proceso de cocción provenientes de las pescaderías del Mercado Zapata; se excluyeron cola, patas y cabeza. Los exoesqueletos fueron lavados y secados en una estufa convencional. Una vez secos se pulverizaron y se tamizaron para homogenizar el tamaño de partícula (~ 250 μm)¹⁰⁶.

2.4 Obtención de quitosano

Para obtener quitosano se utilizó el método químico; considerando las etapas de desmineralización, desproteinización y desacetilación. En la desmineralización, la muestra se colocó en un vaso de precipitados con HCl 0.6 M, considerando una relación 1:11 m/v, la reacción se llevó a cabo durante 3 h a 30 °C con agitación constante de 300 rpm.

La muestra desmineralizada se lavó en repetidas ocasiones hasta alcanzar un pH neutro y después se secó a 90 °C durante 3 h. La desproteínización se llevó a cabo empleando un baño ultrasónico de alta frecuencia considerando un tiempo de 40 min después, se secó a 90 °C durante 3 h. Al finalizar esta etapa se obtuvo quitina.

Para obtener quitosano se agregó quitina en un matraz con una solución de NaOH (50 %) en una relación 1:4 (w/v) con agitación magnética (700 rpm) a una temperatura de 70 °C durante 2 h y a 115 °C por 2 h más. La muestra obtenida se lavó hasta pH neutro y posteriormente se secó a 40 °C durante 12 h. Al finalizar esta etapa se obtuvo quitosano (ver Figura 2.2).



Figura 2.2. a) esqueletos de camarón pulverizados, b) desmineralización, c) muestra de quitina, d) muestra de quitosano.

2.5 Caracterización del quitosano

La identificación de la muestra de quitosano se realizó mediante espectroscopia de infrarrojo (en la región de 500 a 4000 cm^{-1}). Para ello se empleó un espectrofotómetro Perkin Elmer con transformada de Fourier y sistema ATR ¹⁰⁶. Se utilizaron 0.05 g de muestra, aproximadamente.

2.6 Preparación y aplicación del recubrimiento

En la Figura 2.3. se muestra el proceso empleado para la preparación y aplicación de los recubrimientos.

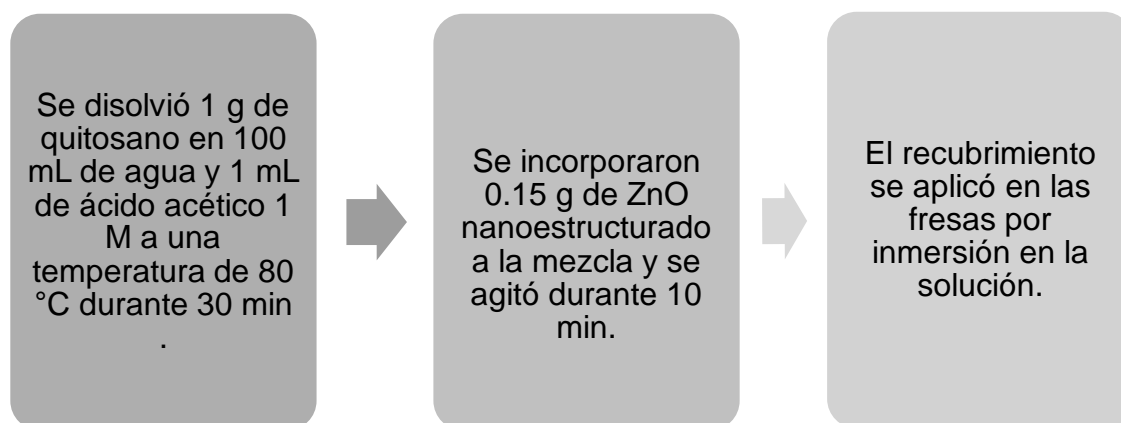


Figura 2.3. Metodología de la preparación y la aplicación de los recubrimientos.

Los experimentos se realizaron por triplicado ejemplificándose tratamientos diferentes (recubrimiento de quitosano sumergida durante 1 y 2 min (FRQ-1 y QUI-2M) y recubrimiento del nanobiocompósito con tiempo de inmersión de 1 y 2 min (FRBN-1 y FRBN-2), a temperatura ambiente, las muestras de fresa sometidas a inmersión se refrigeraron a una temperatura de 4 °C ¹⁰⁷. En la Figura 2.4 se muestran imágenes de las soluciones utilizadas para el recubrimiento por quitosano y el material nanoestructurado (Q/ZnO-NSs), así como de las fresas recubiertas.

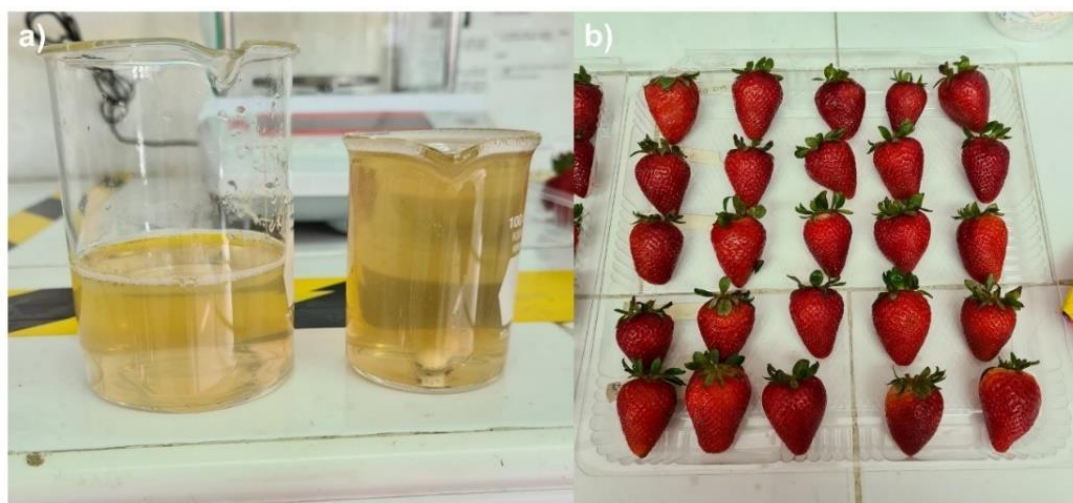


Figura 2.4. a) soluciones de quitosano y Q/ZnO-NSs, b) fresas recubiertas.

2.7 Funcionalidad del recubrimiento Q/ZnO-NSs en la preservación de fresas

Las muestras control para este análisis correspondieron a frutas sin recubrir; todas fueron almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración durante 8 días. En todo este tiempo se mantuvieron en observación.

Las muestras control para este análisis correspondieron a frutas sin recubrirlas frutas se colocaron en cajas de plástico de polipropileno (20.6 × 14.6 × 5.4 mm) y luego se almacenaron a 25 °C y - 4 °C durante 8 días.

2.7.1 Caracterización del recubrimiento o nanobiocomposito

2.7.1.1. *Microscopia electrónica de barrido y mapeo elemental por la técnica de Espectroscopía de Energía Dispersiva (SEM)*

La muestra utilizada para la caracterización consistió en polvos obtenidos a partir de cortes transversales de la fresa previamente recubierta y secada a 40 °C por 3 h. Finalmente, la caracterización del recubrimiento se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) y mapeo elemental.

2.7.1.2. *Prueba de colorimetría*

Todos los análisis subsecuentes se llevaron a cabo en los días 1 y 8 de almacenamiento de las fresas; cada análisis se llevó a cabo en tres muestras independientes. Los cambios de color se evaluaron mediante reflectancia con un espectrocolorímetro (HunterLab) (Figura 2.5). Se determinaron los parámetros L, a* y b* en el sistema de coordenadas de CIELab. A partir de estos valores se calculó el índice de color croma (C_{ab}) para detectar fácilmente cambios en el color rojo (Ecuación 1).

$$C^* = \sqrt{(a^*{}^2 + b^*{}^2)} \quad (1)$$

También se calculó el índice de pardeamiento (IP) con los parámetros L, a* y b*, utilizando en la ecuación 2. El parámetro X se determinó con la ecuación 3¹⁰⁸.

$$IP = \frac{100 \times (X - 0.31)}{0.172} \quad (2)$$

$$X = \frac{a^* + 1.75L}{5.645L + a^* - 3.012b^*} \quad (3)$$

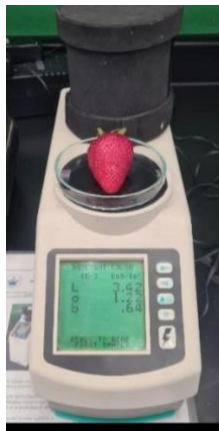


Figura 2.5. Medición de color de fresas con y sin recubrimiento.

2.7.3 Prueba de textura

La textura se midió en el analizador de textura TA.XT2i (Stable Micro Systems) (Figura 2.6). Para ello, se configuró una sonda cilíndrica plana p/3 (3 mm de diámetro). La velocidad de medición utilizada fue de 1 mm/s. El tiempo de resistencia fue de 5 s. Los resultados se reportaron como firmeza en Newtons (N).

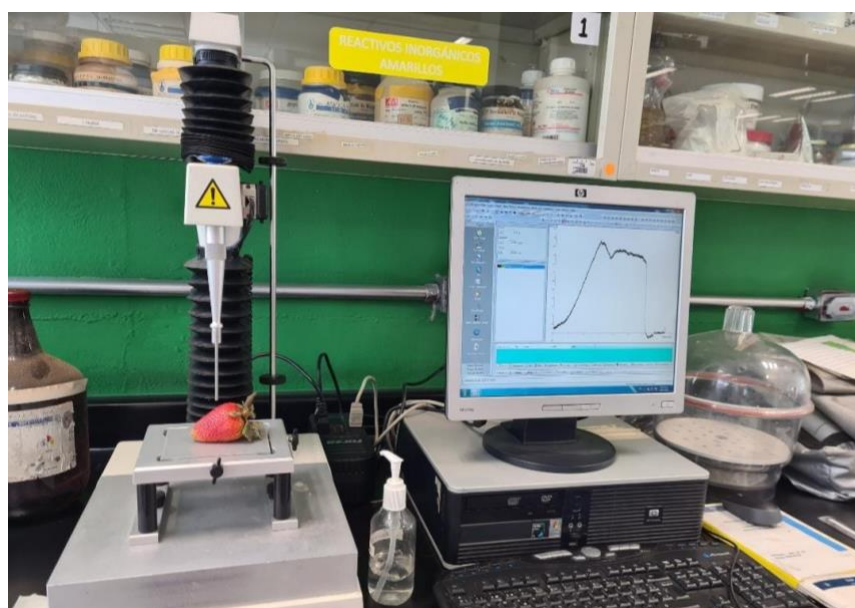


Figura 2.6. Medición de textura.

2.8 Análisis fisicoquímicos

Se midió el pH, los sólidos solubles totales y la acidez titulable de acuerdo con los métodos AOAC 981.12, AOAC 934.06 y AOAC 942.15 ¹⁰⁹, respectivamente.

2.8.1 Determinación de pH

El pH se determinó con un potenciómetro marca WPA CD310 pH meter; una vez calibrado se procedió a medir el pH de todas las muestras introduciendo el electrodo en un frasco que contenía la muestra molida (Figura 2.7).

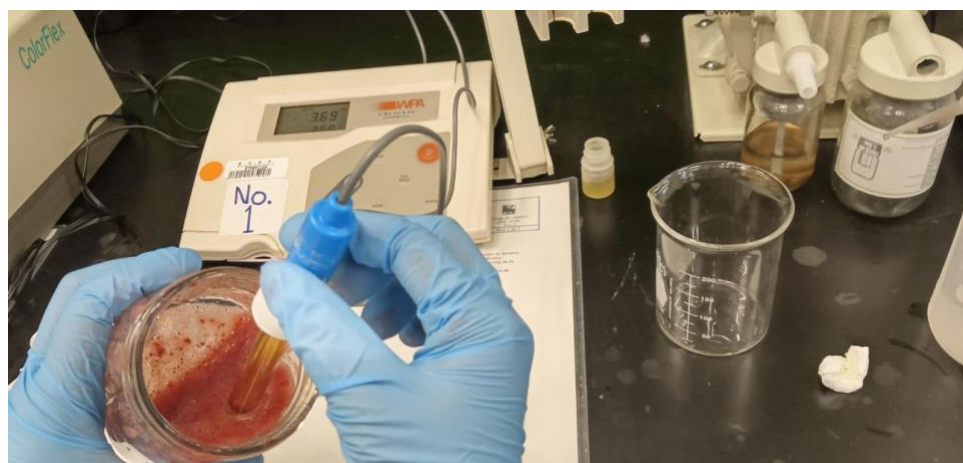


Figura 2.7. Medición de pH.

2.8.2 Determinación de acidez titulable

Para determinar la acidez titulable, las fresas se licuaron en 10 mL de agua y se filtraron. En seguida se titularon usando NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH de 8.1. La acidez titulable se expresó en g de ácido cítrico por 100 g de peso fresco.

2.8.3 Determinación de sólidos solubles totales (SST)

Para determinar los sólidos solubles totales las fresas se molieron en un mortero hasta observar una mezcla homogénea. Posteriormente, se vertieron en el sensor de un refractómetro digital (Atago RX-100) y las lecturas se expresaron en °Bx.

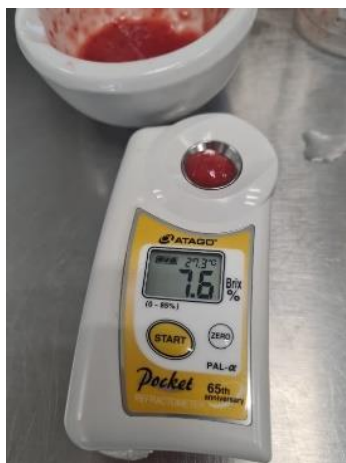


Figura 2.8. Determinación de Grados Brix.

2.8.4 Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó por el método gravimétrico establecido por el método 934.06 de la AOAC. Cada muestra previamente pesada (Figura 2.9a) se secó a 105 °C durante 42 h en un horno de secado (Figura 2.9b); posteriormente se registró su peso nuevamente. El contenido de humedad de las fresas recubiertas se calculó a partir de la diferencia de peso antes y después del secado utilizando la ecuación 4.7, donde M_0 es la masa de la muestra húmeda (g) y masa de la muestra seca (g).

$$\% \text{ Humedad} = \frac{M_0 - M_f}{M_0} \times 100 \quad (4)$$

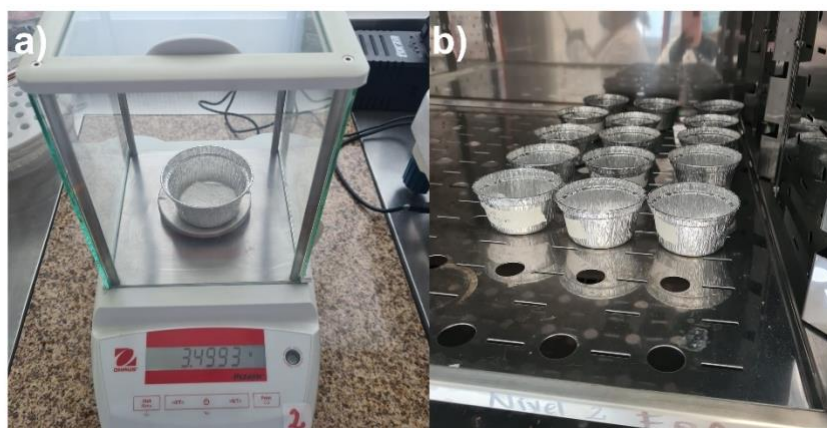


Figura 2.9. Determinación de contenido de humedad: a) pesado de las muestras con humedad y b) secado de las muestras en un horno.

2.9. Pruebas microbiológicas

2.9.1 Bacterias mesófilas aerobias (BMA), hongos y levaduras

Se pesaron 10 g de cada muestra y se colocaron en bolsas estériles en un homogeneizador durante 1 min. Posteriormente, se realizó la cuantificación de BMA mediante la técnica de vertido en placa en agar cuenta estándar; las placas se incubaron a 35 °C durante 48 h. La cuantificación de hongos y levaduras se realizó mediante la técnica de vertido en placa con agar papa dextrosa acidificado con ácido tartárico al 10 % a un pH de 3.5, las placas se incubaron a 25°C de 72 a 120 h.

2.10. Análisis estadístico

Todos los experimentos y mediciones se realizaron por triplicado, utilizando un diseño completamente al azar. Un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple fue aplicado, y cuando fue necesario, se utilizó una prueba de Tukey para determinar diferencias entre las medias. El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico Stargraphics Plus software (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Cambridge, MA, USA). En todos los casos se estableció un nivel de significancia de $p \leq 0.05$.

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización del material nanoestructurado de ZnO

3.1.1 Difracción de Rayos X (XRD)

En la Figura 3.1 se muestra el difractograma correspondiente a las nanoestructuras de ZnO (ZnO-NSs) obtenidas tras el tratamiento térmico a 500 °C durante 60 min. Se identificaron las reflexiones características del ZnO en fase wurtzita (ficha JCPDS número 36-1451); no se observaron indicios de fases secundarias o impurezas.

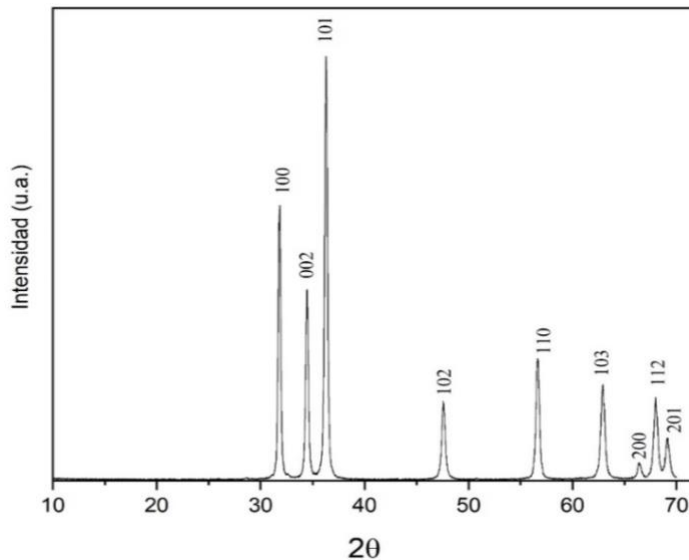


Figura 3.1. Patrón de difracción de rayos X de las nanopartículas de ZnO. * Todos los picos corresponden a la fase de wurtzita del ZnO.

Se calculó el tamaño de cristalito del material nanoestructurado utilizando el método de Williamson-Hall y el programa de rayos X High-Score-Plus; el tamaño obtenido fue de 40.1 nm¹¹⁰, estimado por la ecuación:

$$\beta_{hkl} \cos \theta = \frac{k\lambda}{D} + 4\varepsilon \sin \theta \quad (5)$$

donde β es el ancho medio del pico (nm), D es el tamaño del cristal, k es el factor de forma (0.9), λ es la longitud de onda de radiación del cobre (1.5418 Å), ε entramado de celosía y θ es el ángulo de difracción de los rayos X.

Los picos de difracción encontrados en $2\theta = 31.7, 34.4, 36.2, 47.5, 56.5, 62.8, 66.3, 67.9$ y 68.9° , corresponden a los planos cristalográficos (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200), (112) y (201), característicos de la fase de wurtzita del ZnO, confirmando así la naturaleza cristalina del polvo¹³⁵. La ausencia de picos distintos al de ZnO confirma su síntesis en fase pura.

Por otro lado, la realización de la calcinación del material nanoestructurado a 500°C , genera un proceso de difusión atómica, contribuyendo directamente al aumento del tamaño de los cristales y en consecuencia a la reducción de la red cristalina propia del material nanoestructurado del ZnO¹³⁴. Valores semejantes fueron encontrados en el desarrollo de nanopartículas de ZnO en estado puro (46 nm)¹³⁶, pero ligeramente mayores a las obtenidas en nanopartículas de ZnO con quitosano^{135, 137} y ZnO adicionados con extractos cítricos¹³⁴.

3.1.2 Microscopía Electrónica de Barrido

Los resultados de SEM del material nanoestructurado de Zn (ZnO-NSs) obtenidas por el método de CSS sin tratamiento térmico se muestran en la Figura 3.2. La imagen a bajos aumentos (115x) muestra una distribución homogénea de aglomerados de partículas, con morfologías de espagueti cuyas longitudes alcanzan hasta $5\ \mu\text{m}$ aproximadamente, con secciones transversales entre 100 y 300 nm.

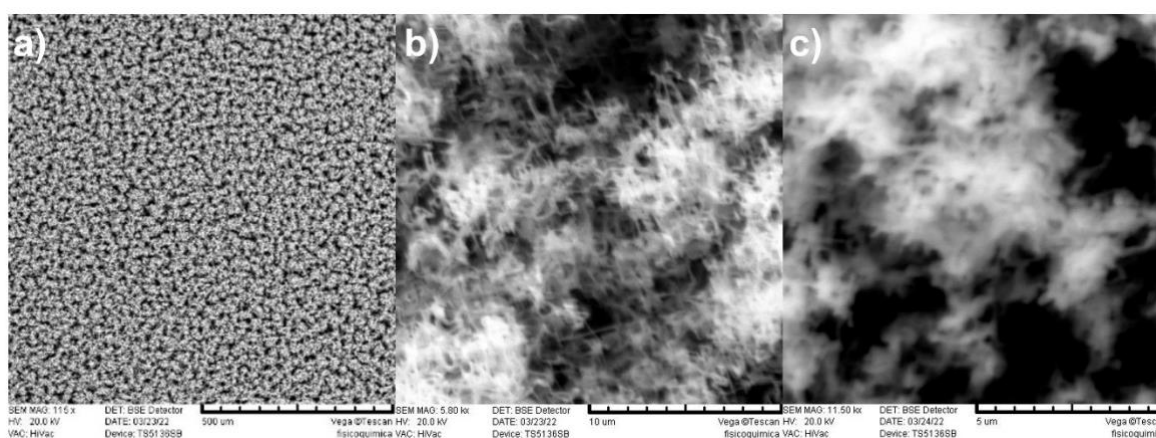


Figura 3.2. Imágenes SEM de las capas del material nanoestructurado de Zn obtenidos por el método de CSS sin tratamiento térmico a) 115x, b) 5.8 x y c) 11.5 x.

Por otro lado, la Figura 3.3 muestra las capas nanoestructuradas de ZnO (ZnO-NSs) tras el tratamiento térmico ($500\text{ }^{\circ}\text{C}$; 60 min^{-1}). En ellas se muestra que la morfología inicial no se modifica sustancialmente con el tratamiento térmico. Sin embargo, se aprecia la formación de alambres más delgados comparados con los obtenidos del material nanoestructurado de Zn (ZnO-NSs) sin tratamiento térmico 84.

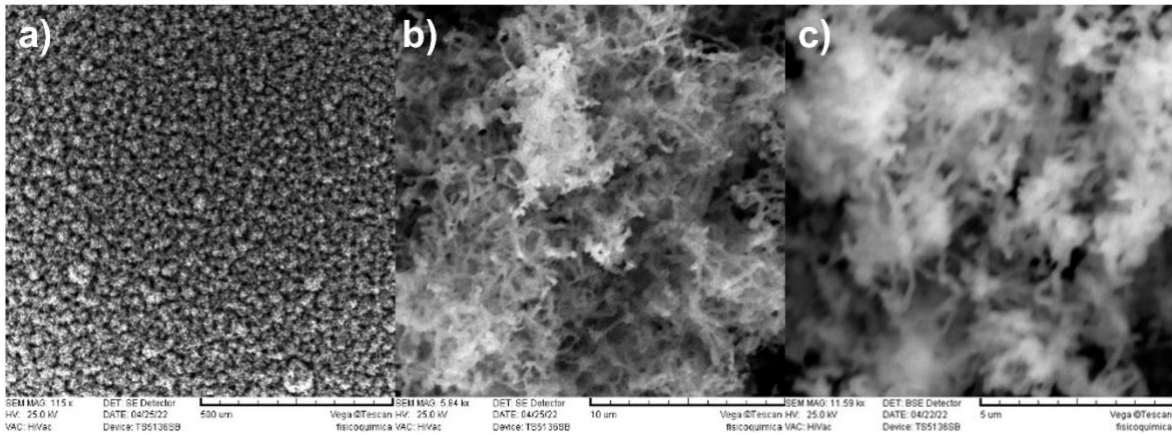


Figura 3.3. Imágenes SEM de las capas del material nanoestructurado de ZnO obtenidos por el método de CSS después de la aplicación del tratamiento térmico a $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 60 min . a) $115\times$, b) $5.8\times$ y c) $11.5\times$.

3.1.3 Microscopía Electrónica de Transmisión

En la Figura 3.4 se muestran imágenes de tres secciones diferentes del material nanoestructurado de ZnO. En ambos casos se puede observar que está constituido principalmente por aglomerados de nanopartículas de tamaño menor que 50 nm , formando cadenas irregulares entre sí. Estos resultados confirman la morfología de espagueti observada mediante SEM.

Esta aglomeración se debe principalmente al proceso de densificación resultante del espacio entre las partículas con una distribución uniforme de sus aniones metálicos ¹³⁸ ocurriendo la formación de nanoalambres cuyas secciones transversales se encuentran alrededor de los 200 nm , lo cual se encuentra en el intervalo ($100\text{-}300\text{ nm}$) determinado en las secciones transversales de la muestra obtenidas en la presente investigación mediante la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SME).

Por otro lado, como se puede observar las nanopartículas presentan morfología mixta, constituida por formas esféricas y elípticas. Además, se puede observar la presencia de franjas de celosía correspondiente a los planos de celosía (100) de la estructura cristalina tipo wurtzita del ZnO ¹³⁸.

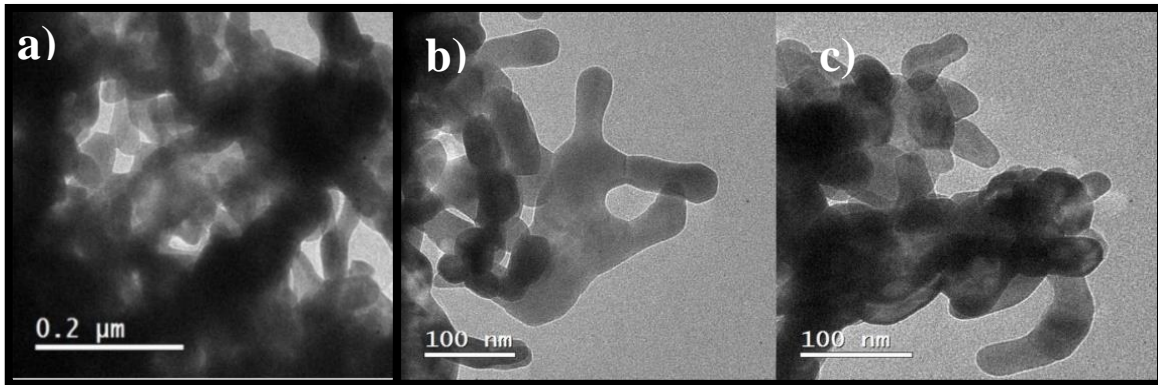


Figura 3.4. Imágenes de TEM de tres secciones diferentes de la muestra correspondiente al material nanoestructurado de ZnO. a) 0.2 μm y b) y c) 100 nm.

En general, el material nanoestructurado de la presente investigación mostró valores mayores que los obtenidos en nanopartículas adicionadas con extractos naturales (14 – 24 nm) ^{138,140}, pero semejantes a los obtenidos en nanomateriales comerciales (50 a 60 nm) ¹³⁹. Finalmente, se puede observar que existe correspondencia entre los resultados obtenidos por las técnicas de difracción de Rayos X y TEM, dado que en ambos casos se observó un tamaño de cristalito de ~ 40 nm; así como la confirmación de la creación de nanopartículas de ZnO.

3.2 Caracterización del recubrimiento de quitosano (FRQ) y del nanobiocomposito (FRQB).

3.2.1 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 3.5 se muestran los espectros FTIR del quitosano y del nanobiocomposito Q/ZnO-NSs. El espectro contiene las bandas de absorción características del quitosano en 3356 y 3398 cm^{-1} las cuales corresponden a las vibraciones de estiramiento de los grupos OH. En 2877 cm^{-1} se muestran las vibraciones atribuidas a los grupos CH_2 .

En 1647 cm^{-1} se pueden observar las bandas correspondientes a las vibraciones de flexión provenientes de los enlaces N-H y del estiramiento de los enlaces C-O de los grupos amina y amida. Las señales en ~ 1585 se atribuyen a la vibración de los enlaces C=O del grupo amida ¹¹¹. En 1419 cm^{-1} se observan las señales relacionadas con los enlaces CH₂ y en ~ 1377 se observan las bandas atribuidas al enlace C-O del grupo alcohólico primario en la estructura del almidón. De 1060 a 1250 cm^{-1} se identificaron las vibraciones de flexión de los grupos C-O-C de la glucosa, en $\sim 1026\text{ cm}^{-1}$ se observa la presencia del grupo amino libre (-NH₂) de la glucosamina. Finalmente, en $\sim 575\text{ cm}^{-1}$ se identificaron las vibraciones de flexión de los enlaces NH. De acuerdo con estos resultados, se concluye que el quitosano obtenido posee las bandas características reportadas en la literatura ¹¹².

El espectro de IR del bionanocomposito Q/ZnO-NSs también se muestra en la Figura 3.5. Se observa un espectro similar al del quitosano, además de las vibraciones ubicadas entre 500 y 800 cm^{-1} que corresponden al estiramiento de los enlaces O-Zn-O ^{113,114}; específicamente la presencia de w-ZnO en 590 cm^{-1} .

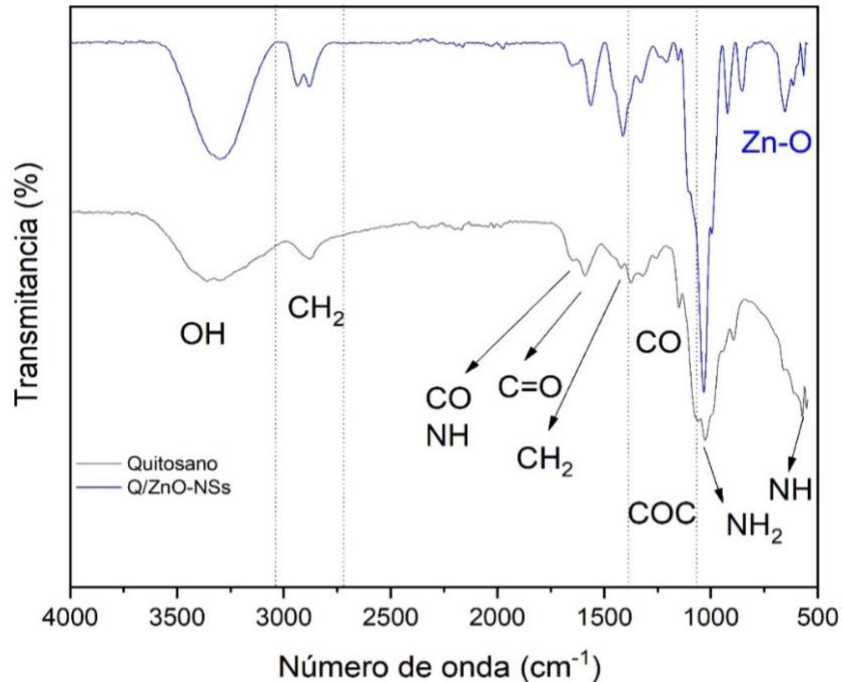


Figura 3.5. Espectro FTIR del quitosano y del nanobiocomposito.

3.2.2 Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS)

El mapeo elemental de las fresas recubiertas de quitosano (FRQ-1) se muestra en la Figura 3.6. Este muestra que, tal como se encuentra reportado en la literatura, el recubrimiento de quitosano está compuesto principalmente por C (33.8 %) y O (52.5 %), cuya distribución se aprecia de manera uniforme sobre la superficie de la fresa ¹¹⁵.

En contraste, en el mapeo químico de la sección del bionanocomposito en inmersión durante 1 minuto (FRBN-1) señalada en la Figura 3.7 se aprecia que el área de análisis presenta, además de C (35.70 %) y O (54.77 %), el Zn (0.56 %) se distribuyeron uniformemente en la superficie de los bionanocompuestos de Q/ZnO-NSs sin agregación severa ^{136, 99}.

Por otro lado, la presencia de nanopartículas de ZnO en la superficie del recubrimiento se presentan con una morfología granular uniforme con mínimas aglomeraciones de nanopartículas, lo que indica una dispersión e integración homogénea y uniforme de las nanopartículas de ZnO dentro de la matriz de quitosano ^{136,99}. Además, las imágenes mostraron una superficie homogénea con mínimas aglomeraciones de nanopartículas ZnONPs apreciables, lo que indica una dispersión e integración homogénea y uniforme de las nanopartículas de ZnO dentro de la matriz de quitosano ¹³⁶.

Esta integración y dispersión homogénea indican una alta compatibilidad entre las nanopartículas desarrolladas y la matriz del quitosano, provocando mejoras en las propiedades generales de los recubrimientos de quitosano¹⁴²; por ejemplo, un aumento en las propiedades antimicrobianas del quitosano quien actúa como material pared ¹⁴¹; así como, ligeras modificaciones en las características físicas y químicas de los recubrimientos¹⁴⁰.

Estos resultados especifican las interacciones entre los grupos hidroxilo libres del quitosano y las nanopartículas de ZnO disponibles en los bionanocompositos⁹⁹.

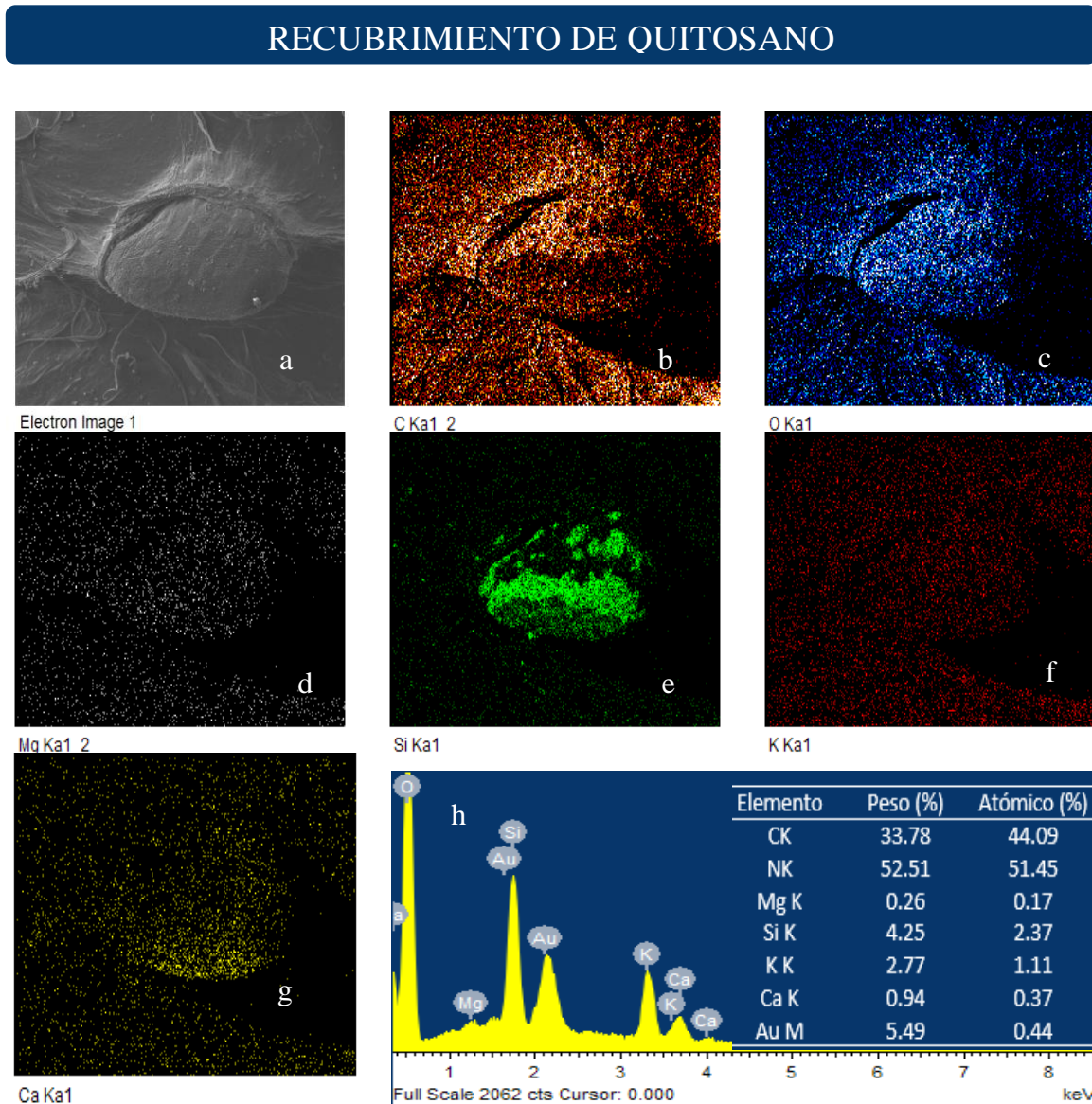


Figura 3.6. Mapeo elemental del recubrimiento de quitosano después de un minuto sometido a inmersión. a) Micrografía SEM obtenida mediante electrones retrodispersados, b) carbono, c) oxígeno, d) magnesio, e) silicio, f) potasio, g) calcio y h) espectro. El análisis elemental cuantitativo del recubrimiento se proporciona en la tabla de su respectivo espectro XRD.

BIONANOCOMPOSITO FRBN-1

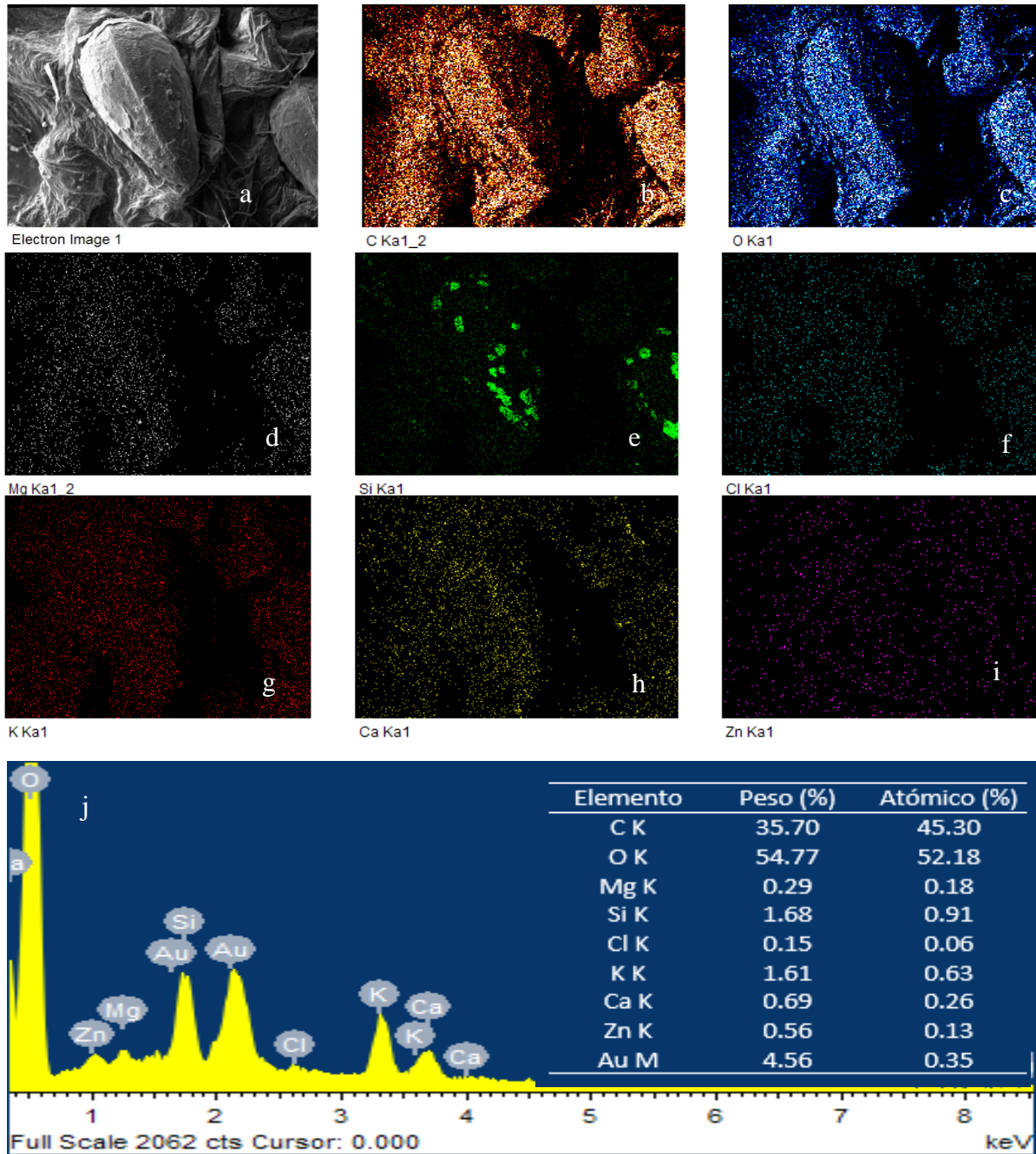


Figura 3.7. Mapeo elemental del Bionanocomposito después de un minuto sometido a inmersión. a) Micrografía SEM obtenida mediante electrones retrodispersados, b) carbono, c) oxígeno, d) magnesio, e) silicio, f) cloro, g) potasio, h) calcio, i) zinc y j) espectro. El análisis elemental cuantitativo del bionanocomposito se proporciona en la tabla de su respectivo espectro XRD.

3.2.3 Espesor del recubrimiento

El espesor del recubrimiento se midió a partir de imágenes de SEM. Para ello se hicieron cortes transversales de la fresa (Anexo 1). La muestra constituida por el recubrimiento de quitosano sumergida durante 1 minuto (FRQ-1), presenta una aparente uniformidad longitudinal, con espesor promedio de $\sim 3.5 \mu\text{m}$. Por el contrario, el espesor obtenido a los 2 min de inmersión (FRQ-2) no presenta una uniformidad y su espesor se encuentra en el intervalo de 2-3 μm .

En el caso del recubrimiento del nanobiocompósito con tiempo de inmersión de 1 min (FRBN-1), se puede suponer la aparición de partículas distribuidas aleatoriamente en la superficie de la fresa, que presumiblemente es un indicativo de que las nanopartículas se incorporan en todo el volumen de la matriz de quitosano; el espesor en este caso se halla en el intervalo de 2- 3 μm .

Para dos minutos de inmersión (FRBN-2), es evidente la presencia de partículas en la superficie de la fresa como en el caso anterior. El espesor no difiere significativamente respecto al caso precedente (2 a 3 μm); por lo tanto, podemos concluir que los tiempos de inmersión utilizados en estos experimentos no representan un cambio significativo en el espesor de los recubrimientos.

3.3 Funcionalidad del recubrimiento Q/ZnO-NSs en la preservación de fresas

Las fresas con y sin recubrimiento se almacenaron a 5 °C y 25 °C durante 8 días (Tablas 3.1 y 3.2). En la Tabla 3.1 se observa que el crecimiento microbiano en la superficie fue menor en las fresas con el bionanocomposito de quitosano y ZnO nanoestructurado (FRBN) que las fresas control; esto se atribuye a las propiedades antimicrobianas que presentan tanto el quitosano como el ZnO ^{116,117}. La conservación en frío reduce la tasa de respiración y la pérdida de humedad, retardando el crecimiento microbiano, permitiendo alargar la vida útil y conservar la calidad de las fresas ¹¹⁶.

En la Tabla 3.2 se observa que durante el almacenamiento de las fresas con recubrimiento (FRQ-1 y FRBN-1) a temperatura ambiente no presentaron crecimiento microbiano en la superficie en comparación con las fresas control. Sin

embargo, se puede percibir que las fresas recubiertas presentan tejido rugoso en la superficie, lo cual sugiere pérdida de humedad durante su almacenamiento, que puede dar un aspecto de deterioro.

Tabla 3.1. Fresas con y sin recubrimiento almacenadas a 5 °C durante 8 días













	Ctrl	FRQ-1	FRBN-1
Día1			
Día 8			

Tabla 3.2. Fresas con y sin recubrimiento almacenadas a 25 °C durante 8 días

T=25°C	Ctrl	FRQ-1	FRBN-1
Día1			
Día 8			

La actividad antifúngica de FRBN-1 parece deberse a la acción del óxido de zinc previamente identificada. Se ha informado que la actividad antifúngica de este puede atribuirse a la generación de especies reactivas de oxígeno intracelular (ROS) por parte del nanobiocompósito que entran en contacto con la pared celular fúngica ^{143,144}.

Las ROS generadas dan como resultado un estrés elevado, lo que provoca daño oxidativo en la pared celular fúngica y los componentes celulares. Informes anteriores sugirieron que la actividad antifúngica de las NP de ZnO estaba mediada por la producción de ROS (Figura 3.8) ¹⁴⁴.

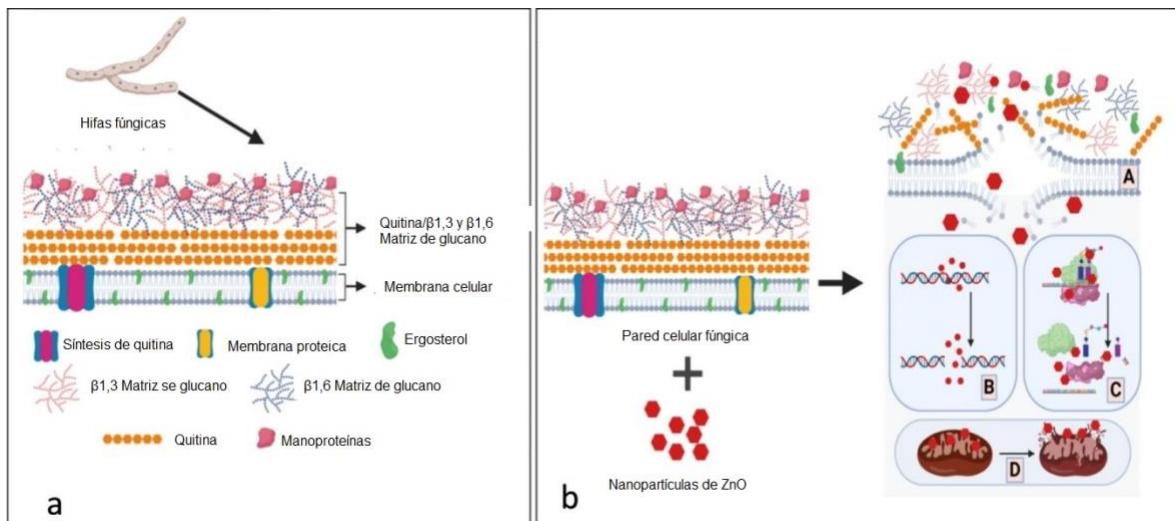


Figura 3.8. Mecanismo de actividad antifúngica de las Q/ZnO-NSs. (a) Pared celular fúngica; (b) Mecanismo de acción; (A) Interrupción de la pared celular fúngica; (B) daño en el ADN; (C) Inhibición de la síntesis de proteínas; (D) Daño a las mitocondrias ¹⁴⁴.

Por otro lado, varios estudios han demostrado la amplia actividad antifúngica del quitosano, lo anterior, mediante la inhibición de la germinación de esporas, la elongación del tubo germinativo y el crecimiento radial, quelatos de metales, minerales, oligoelementos o nutrientes esenciales para el crecimiento fúngico ^{145,147}, y afecta la morfogénesis de la pared celular fúngica ^{145,146,147}. Además, se ha sugerido que la eficacia del quitosano en la inhibición de hongos patógenos en las frutas también podría estar relacionada con su propiedad elicitante que induce una mayor producción de enzimas relacionadas con la defensa (por ejemplo,

polifenoloxidasas y peroxidasas) en frutos recubiertos con quitosano^{148,150}. Además, la estructura de microporos de la película de recubrimiento como barrera para el gas ralentiza la tasa de respiración y controla la descomposición de los frutos^{148,149,150}. Finalmente, existen reportes en la literatura sobre el posible efecto sinérgico o complementario entre el óxido de zinc y el quitosano que se encuentra en el recubrimiento, por lo que el efecto de estas interacciones podría ser de gran utilidad en la lucha contra múltiples patógenos¹⁵⁰.

3.3.1 Evaluación microbiológica

Los resultados del análisis microbiológico (BMA, hongos y levaduras) de las fresas almacenadas durante 8 días a 5 y 25 °C se muestran en la Tabla 3.3. Se observó un aumento progresivo y significativo de colonias de bacterias mesofílicas aeróbicas en la muestra control en el día 8 de su almacenamiento. Respecto a las fresas tratadas, se observó que las BMA aumentaron considerablemente en las fresas almacenadas a 5 °C. Esto puede deberse a la presencia de bacterias psicrófilas, las cuales crecen en ambientes con bajas temperaturas y a la carga microbiana inicial de la fresa. A pesar de esta situación, los tratamientos con nanopartículas de ZnO presentaron valores que se encuentran en los límites aptos para consumo, en el orden de 10^5 ¹¹⁷. El número de colonias de hongos y levaduras, aumentó en promedio de 3.0×10^2 a 1.04×10^5 UFC/g durante el almacenamiento de las fresas control a temperatura de 5 °C. En cuanto a los valores en las fresas recubiertas, se observó la misma tendencia que los valores de BMA en las fresas almacenadas a temperatura de refrigeración.

Al respecto, diversos autores han reportado el efecto que tiene el quitosano en la inhibición eficaz del crecimiento microbiano en productos como jitomate, fresa, ginseng, entre otros¹¹⁸⁻¹²⁰.

Por otra parte, existen reportes que han estudiado la aplicación de ZnO como agente antimicrobiano al incorporarlo en materiales de empaque o recubrimientos comestibles para reducir el crecimiento de microorganismos en alimentos frescos, incluido el jugo de naranja^{103,121} los cuales están de acuerdo con los hallazgos.

Tabla 3.3. Efecto de los diferentes recubrimientos sobre los cambios microbiológicos de las fresas tratadas almacenadas a 5 y 25 °C.

Tratamiento	T	t _a	Bacterias mesofílicas aerobias (UFC/g)	Hongos y levaduras (UFC/g)
*Ctrl	5	1	6.0×10 ² ± 112 ^{aC}	1.5×10 ² ± 10 ^{aB}
	25		2.0×10 ² ± 12 ^{bA}	3.0×10 ² ± 2.6 ^{aA}
	5	8	INC	INC
	25		4.0×10 ³ ± 22 ^{bB}	1.04×10 ⁵ ± 1.6 ^{aB}
FRQ-1	5	1	50 ± 1.2 ^{aA}	0 ± 0.00 ^{aA}
	25		2.0×10 ² ± 7.2 ^{bB}	0 ± 0.00 ^{aA}
	5	8	1.3×10 ⁶ ± 15612 ^{aB}	3.9×10 ⁶ ± 13212 ^{bB}
	25		4.3×10 ³ ± 182 ^{bC}	2.9×10 ⁴ ± 1122 ^{cC}
FRQ-2	5	1	3.0×10 ² ^{aB}	0 ± 0.00 ^{aA}
	25		0 ^{bC}	0 ± 0.00 ^{aA}
	5	8	1.3×10 ⁶ ^{aA}	3.9×10 ⁶ ± 10100 ^{bB}
	25		2.4×10 ³ ^{bA}	3.4×10 ³ ± 123 ^{cC}
**FRBN-1	5	1	0 ± 0.00 ^{aA}	0 ± 0.00 ^{aA}
	25		0 ± 0.00 ^{aA}	0 ± 0.00 ^{aA}
	5	8	7.9×10 ⁵ ± 600 ^{bC}	1.2×10 ⁶ ± 1200 ^{bB}
	25		0 ± 0.00 ^{aA}	0 ± 0.00 ^{Aa}
FRBN-2	5	1	0 ± 0.00 ^{aA}	0 ± 0.00 ^{aA}
	25		0 ± 0.00 ^{aA}	0 ± 0.00 ^{aA}
	5	8	6.3×10 ⁵ ± 0.00 ^{bC}	1.2×10 ⁶ ± 1300 ^{bB}
	25		0 ± 0.00 ^{aA}	0 ± 0.00 ^{aA}

Los datos se presentan como media ± desviación estándar (SD). t_a (días): tiempo de almacenamiento, T (°C): temperatura de almacenamiento, INC: incontable, FRQ-1;FRQ-2: recubrimientos de quitosano y FRBN-1; FRBN-2: recubrimiento de quitosano y nanopartículas de ZnO con uno y dos minutos de inmersión respectivamente. ^{a,b,c} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de temperatura. ^{A,B,C} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de tiempo de almacenamiento. * Representa diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de los tratamientos.

Así mismo, se ha demostrado que la incorporación de nanomateriales en recubrimientos de polímeros comestibles mejora sus propiedades físicas, como las propiedades de barrera al oxígeno y la humedad, lo que inhibe el crecimiento de microorganismos en frutas frescas recubiertas¹⁴⁸.

3.3.2 Análisis fisicoquímicos

3.3.2.1 Contenido de humedad

En la Tabla 3.4 se muestran el contenido de humedad de las muestras almacenadas durante 8 días (5 y 25 °C). La muestra control presentó una humedad máxima de 91.9 ± 2.0 % y mínima de 45.3 ± 3.7 % presentándose una reducción de 2.6 % y 44 % después de 8 días de almacenamiento a temperaturas de 5 y 25 °C respectivamente.

Tabla 3.4. Contenido de humedad de fresas recubiertas y sin recubrir almacenadas a diferentes temperaturas durante 8 días.

t _a	T	Humedad (%)				
		Control	*FRQ-1	FRQ-2	FRBN-1	FRBN-2
1	5	91.9 ± 2.0 ^{aA}	92.6 ± 2.2 ^{aB}	92.2 ± 0.9 ^{aAB}	93.2 ± 1.1 ^{aA}	91.6 ± 1.3 ^{aAB}
	25	89.1 ± 0.6 ^{aA}	89.0 ± 1.3 ^{aA}	82.0 ± 9.9 ^{aB*}	89.0 ± 2.2 ^{aA}	92.7 ± 4.0 ^{aAC}
8	5	89.3 ± 1.1 ^{aA}	92.3 ± 1.4 ^{aA}	91.4 ± 1.0 ^{aA}	92.9 ± 0.8 ^{aA}	91.0 ± 1.4 ^{aA}
	25	45.3 ± 3.7 ^{bA*}	69.8 ± 1.5 ^{bB}	67.4 ± 2.7 ^{bB}	83.0 ± 1.6 ^{bC}	84.5 ± 3.3 ^{bC}

Los datos se presentan como media ± desviación estándar (SD). t_a (días): tiempo de almacenamiento, T (°C): temperatura de almacenamiento, INC: incontable, FRQ-1;FRQ-2: recubrimientos de quitosano y FRBN-1; FRBN-2: recubrimiento de quitosano y nanopartículas de ZnO con uno y dos minutos de inmersión respectivamente. ^{a,b,c} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de los tratamientos. ^{A,B,C} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de tiempo de almacenamiento. * Representa diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de los tratamientos ** Representa el tratamiento más significativo (%).

Por su parte, las muestras recubiertas fluctuaron un intervalo de humedad de 93-83 y 92-85 % para FRBN-1 y FRBN-2 respectivamente, mostrándose una reducción máxima de 10 %.

Esto sugiere que las soluciones de recubrimiento crearon una barrera en la superficie en las fresas que evitó la pérdida de humedad, especialmente en soluciones que contienen quitosano y ZnO ¹²².

Al respecto, se ha reportado que los materiales de recubrimiento, como el alginato de sodio, proporcionan una fina capa protectora entre las frutas frescas y la atmósfera que las rodea, lo que disminuye la transferencia de humedad y el intercambio de O₂ y CO₂ ¹²³.

Cabe resaltar que el contenido de humedad se vio reducido cuando se usaron temperaturas de refrigeración (5 °C) durante su almacenamiento. En este sentido, se han reportado que la aplicación de bajas temperaturas con métodos complementarios de conservación de alimentos tales como tratamientos químicos y recubrimientos comestibles generan menores pérdidas de humedad en los alimentos aplicados. Por otra parte, la incorporación de nanopartículas de ZnO en conjunto con alginato reduce significativamente ($p < 0,05$) la pérdida de peso de las fresas ¹²⁴.

3.3.2.2 Prueba de textura

La textura es uno de los atributos más importantes para los consumidores a la hora de evaluar la calidad de las frutas. Los cambios de firmeza de las fresas bajo diferentes tratamientos se muestran en la Fig. 3.8, los mismos fueron determinados en el día 1 y 8 de almacenamiento a temperatura de refrigeración. Los valores de firmeza obtenidos al inicio del almacenamiento fueron 2.2 N (25 °C) y 0.6 N (5 °C), los cual disminuyeron a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento con diferentes tasas de ablandamiento. Después del día 8, el valor de firmeza en la mayoría de las fresas recubiertas fue más bajo que la fresa control a excepción de las recubiertas con FRBN-1 y FRBN-2 (1.6 N). Con respecto a las muestras sometidas a almacenamiento a temperatura ambiente (25 °C) éstas presentaron pérdida de turgencia, provocando la pérdida del material de estudio para la determinación de firmeza en el día 8. Finalmente, la evaluación de los cambios en la firmeza de las fresas control mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras recubiertas y sin recubrir durante el almacenamiento en frío.

En general, el control y los diferentes tratamientos mostraron una disminución significativa en la firmeza de la fresa. Esta disminución muy probablemente se debe a la mayor migración de vapor de agua en la superficie del fruto, que favorece el crecimiento de los diferentes hongos (*Botrytis cinera* y *Rhizopus stolonifer*). Ambos mohos ocasionan daños estructurales a los tejidos y permite su ablandamiento ¹⁵¹.

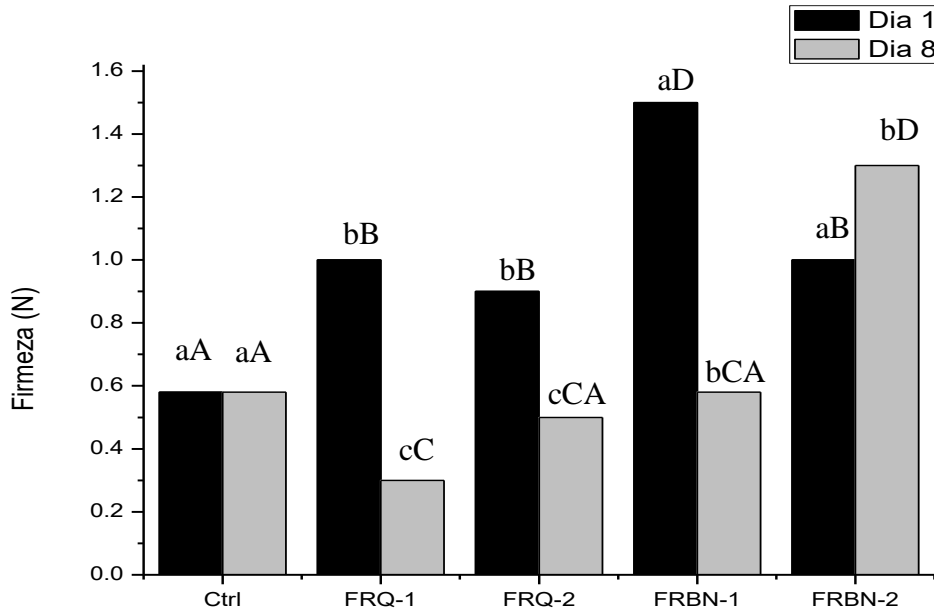


Figura 3.9. Cambios de firmeza de fresas tratadas con quitosano FRQ-1, FRQ-2, FRBN-1, FRBN-2 y control almacenadas a 5°C durante 8 días. FRQ-1;FRQ-2: recubrimientos de quitosano y FRBN-1; FRBN-2: recubrimiento de quitosano y nanopartículas de ZnO con uno y dos minutos de inmersión respectivamente. ^{a,b,c} Diferentes superíndices indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de los días de almacenamiento. ^{A,B,C} Diferentes superíndices indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de los tratamientos.

Cabe destacar también que para este caso la disminución de la firmeza se encuentra relacionada con el aumento en el % de pérdida de humedad en los frutos sin recubrimiento.

Además, la disminución en la firmeza, que se observó durante los primeros 8 días de almacenamiento en los diferentes tratamientos evaluados podría relacionarse con la degradación del parénquima cortical que forma la pared celular debido a procesos de degradación enzimática ^{150,151} y a la misma pérdida de humedad durante el almacenamiento.

3.3.2.3 pH, sólidos solubles y acidez titulable

Dentro de los índices indispensables para evaluar el sabor de las frutas se encuentran la dulzura y la acidez, las cuales se evalúan mediante parámetros fisicoquímicos como pH, sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT) ¹⁰⁸. En la tabla 3.5 se presentan los valores de los parámetros evaluados en las fresas recubiertas y sin recubrir almacenadas a dos temperaturas (5 y 25 °C).

Es importante mencionar que estos parámetros pueden verse influenciados por factores como el cultivo, las prácticas culturales, la región de cultivo, la temporada, entre otros ¹²⁵.

El pH de las muestras sin recubrir aumentó ligeramente durante el almacenamiento, mientras que no se observaron diferencias significativas en las muestras recubiertas (Tabla 3.5), lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Nunes *et al.* ¹²⁶, lo que posiblemente encuentre explicación en el proceso normal de senescencia de los frutos ¹⁵¹, porque los azúcares resultantes de la hidrólisis de la sacarosa se utilizan como sustrato en reacciones metabólicas de respiración ^{150,151}.

Respecto a los sólidos solubles totales y la acidez titulable, después del almacenamiento de 8 días, se observó una tendencia creciente para SST y decreciente para AT, la cual se vio favorecida en los recubrimientos con quitosano y ZnO al controlar la madurez de la fruta, mejorando la AT y previniendo el aumento de SST en las fresas ^{123,129}. Las variaciones de los valores de AT y SST en fresas con y sin recubrir durante el almacenamiento no fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Es importante mencionar que estos parámetros pueden verse influenciados por factores como el cultivo, las prácticas culturales, la región de cultivo, la temporada, entre otros ¹²⁵.

Tabla 3.5. Parámetros fisicoquímicos de fresas recubiertas y sin recubrir almacenadas a diferentes temperaturas durante 8 días.

Tratamiento	T	t _a	pH	SST (°Bx)	AT(%)
Ctrl	5	1	3.59 ± 0.18 ^{aA}	8.5 ± 0.2 ^{aA}	0.76 ± 0.04 ^{aA}
	25		3.17 ± 0.03 ^{bB}	8.1 ± 0.1 ^{aA}	0.80 ± 0.02 ^{aA}
	5	8	3.31 ± 0.01 ^{aC}	8.0 ± 0.1 ^{aA}	0.76 ± 0.04 ^{aA}
	25		3.68 ± 0.03 ^{bA}	7.7 ± 0.2 ^{bA}	0.60 ± 0.01 ^{cB}
FRQ-1	5	1	3.47 ± 0.02 ^{aA}	8.1 ± 0.1 ^{aA}	0.77 ± 0.05 ^{aA}
	25		3.38 ± 0.08 ^{aC}	8.2 ± 0.2 ^{aA}	0.79 ± 0.02 ^{aA}
	5	8	3.32 ± 0.01 ^{aC}	8.0 ± 0.1 ^{aA}	0.61 ± 0.01 ^{aA}
	25		3.76 ± 0.01 ^{bB}	6.9 ± 0.2 ^{bB}	0.69 ± 0.03 ^{bA}
FRQ-2	5	1	3.53 ± 0.06 ^{aA}	8.5 ± 0.5 ^{aA}	0.77 ± 0.03 ^{aA}
	25		3.31 ± 0.01 ^{bC}	7.8 ± 0.3 ^{bA}	0.80 ± 0.01 ^{aA}
	5	8	3.67 ± 0.06 ^{cA}	8.5 ± 0.3 ^{aA}	0.60 ± 0.01 ^{bB}
	25		3.80 ± 0.18 ^{cB}	6.7 ± 1.0 ^{bB}	0.68 ± 0.02 ^{cA}
**FRBN-1	5	1	3.48 ± 0.01 ^{aA}	9.1 ± 0.2 ^{cA}	0.80 ± 0.04 ^{aCA}
	25		3.37 ± 0.01 ^{aC}	9.5 ± 0.3 ^{aCA}	0.82 ± 0.02 ^{aCA}
	5	8	3.61 ± 0.01 ^{bA}	8.6 ± 0.2 ^{bA}	0.70 ± 0.01 ^{bA}
	25		3.85 ± 0.02 ^{aB}	8.5 ± 0.2 ^{Ba}	0.77 ± 0.02 ^{abA}
FRBN-2	5	1	3.22 ± 0.02 ^{aB}	8.9 ± 0.1 ^{aA}	0.80 ± 0.01 ^{aA}
	25		3.28 ± 0.02 ^{aB}	10.3 ± 0.5 ^{bCA}	0.80 ± 0.01 ^{aA}
	5	8	3.54 ± 0.05 ^{bA}	8.3 ± 0.3 ^{aA}	0.69 ± 0.01 ^{bA}
	25		3.98 ± 0.02 ^{aC}	9.2 ± 0.5 ^{bC}	0.75 ± 0.04 ^{abA}

Los datos se presentan como media ± desviación estándar (SD). t_a (días): tiempo de almacenamiento, T (°C): temperatura de almacenamiento, INC: incontable, FRQ-1;FRQ-2: recubrimientos de quitosano y FRBN-1; FRBN-2: recubrimiento de quitosano y nanopartículas de ZnO con uno y dos minutos de inmersión respectivamente. ^{a,b,c} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de temperatura. ^{A,B,C} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de tiempo de almacenamiento. * Representa diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de los tratamientos. ** Representa el tratamiento más significativo.

El pH de las muestras sin recubrir aumentó ligeramente durante el almacenamiento, mientras que no se observaron diferencias significativas en las muestras recubiertas (Tabla 3.5), lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Nunes *et al.* ¹²⁶, lo que posiblemente encuentre explicación en el proceso normal de senescencia de los frutos¹⁵¹, porque los azúcares resultantes de la

hidrólisis de la sacarosa se utilizan como sustrato en reacciones metabólicas de respiración^{150,151}.

Respecto a los sólidos solubles totales y la acidez titulable, después del almacenamiento de 8 días, se observó una tendencia creciente para SST y decreciente para AT, la cual se vio favorecida en los recubrimientos con quitosano y ZnO al controlar la madurez de la fruta, mejorando la AT y previniendo el aumento de SST en las fresas^{123,129}. Las variaciones de los valores de AT y SST en fresas con y sin recubrir durante el almacenamiento no fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

En los cinco tratamientos se observó una tendencia a la disminución de la acidez con el aumento del pH y SST de las fresas, posiblemente debido a que, en el caso de los recubrimientos comestibles, éstos ralentizan la frecuencia respiratoria de las fresas y retrasan la utilización de los ácidos orgánicos en las reacciones enzimáticas^{130,152}. Los resultados obtenidos sobre pH y acidez coinciden con los de diferentes estudios sobre la aplicación de recubrimientos a base de quitosano^{151,152}. Los valores obtenidos para las fresas recubiertas son comparables con los parámetros tanto de calidad como de aceptabilidad comercial de fresas frescas (pH= 3.27-3.86; AT= 0.58-1.35%, SST=8.0-11.5°Bx)¹³¹.

3.3.2.3 Color

El color es un parámetro crítico que afecta la decisión de selección y compra del cliente en la mayoría de las frutas. La Tabla 3.6 contiene los parámetros de color L, a*, b* e índice de pardeamiento (IP) de fresas con y sin recubrimiento durante el almacenamiento. Como se puede apreciar en la Tabla 3.6, existe una diferencia significativa en L* en los diferentes tratamientos, lo cual se atribuye al proceso de oxidación y pérdida de humedad que sufrieron las fresas durante el almacenamiento^{153,154}. Por último, se encontró que la aplicación de recubrimiento comestible no afectó la luminosidad de las fresas con respecto a la muestra control^{107,132,154}. En cuanto a la coordenada cromática a* (tonalidad rojiza de la epidermis de la fresa) no mostró diferencia estadística ni en el inicio ni al final del almacenamiento, cuando las mediciones se comportan como un grupo homogéneo, como puede apreciarse en la Figura 5b.

Tabla 3.6. Parámetros de color de fresas recubiertas y sin recubrir almacenadas a 5 y 25 °C a los 8 días de almacenamiento.

	T	t _a	L	a*	b*	ÍP
Ctrl	5	1	18.21 ± 0.87 ^{aA}	20.48 ± 2.43 ^{aA}	6.01 ± 1.08 ^{aA}	108.9 ± 11.1 ^{aA}
	25		22.42 ± 3.42 ^{bC}	22.28 ± 0.95 ^{aC}	6.57 ± 0.47 ^{bA}	97.7 ± 8.70 ^{bB}
	5	8	22.18 ± 3.70 ^{bC}	17.22 ± 1.10 ^{aD}	7.08 ± 1.17 ^{aA}	89.6 ± 8.30 ^{aB}
	25		20.05 ± 8.35 ^{bB}	08.01 ± 3.74 ^{bE}	3.95 ± 0.41 ^{bB}	56.0 ± 27.2 ^{bC}
FRQ-1	5	1	18.57 ± 4.00 ^{aA}	20.26 ± 5.10 ^{aA}	5.87 ± 2.69 ^{aC}	104.0 ± 13.5 ^{aA}
	25		18.83 ± 1.43 ^{aA}	17.71 ± 2.58 ^{bD}	6.40 ± 2.83 ^{bA}	101.2 ± 22.2 ^{aA}
	5	8	22.17 ± 1.63 ^{bB}	21.78 ± 3.42 ^{aB}	11.88 ± 10.29 ^{aD}	148.5 ± 99.1 ^{aD}
	25		18.42 ± 1.97 ^{aA}	13.36 ± 2.14 ^{bE}	4.34 ± 0.91 ^{bC}	73.6 ± 5.8 ^{bEC}
FRQ-2	5	1	19.59 ± 0.61 ^{aAB}	22.41 ± 0.88 ^{aC}	6.96 ± 1.12 ^{aA}	114.0 ± 7.5 ^{aA}
	25		21.65 ± 1.31 ^{bBC}	19.55 ± 2.20 ^{aD}	6.25 ± 1.29 ^{aA}	91.1 ± 8.8 ^{bB}
	5	8	20.32 ± 3.13 ^{aB}	419.03 ± 1.8 ^{aF}	11.97 ± 10.35 ^{aD}	152.1 ± 88.2 ^{aD}
	25		15.66 ± 1.29 ^{bD}	37.78 ± 0.86 ^{bG}	2.50 ± 0.67 ^{bB}	50.6 ± 3.2 ^{Bc}
FRBN-1	5	1	20.36 ± 3.10 ^{aAB}	22.06 ± 1.40 ^{aC}	6.84 ± 1.18 ^{aA}	108.4 ± 6.2 ^{aA}
	25		19.30 ± 2.38 ^{aAB}	17.81 ± 3.90 ^{bD}	5.17 ± 1.54 ^{aAC}	88.6 ± 12.5 ^{bB}
	5	8	21.71 ± 5.35 ^{aBC}	621.88 ± 1.9 ^{aH}	5.68 ± 2.41 ^{aAC}	93.9 ± 5.4 ^{aB}
	25		17.50 ± 2.50 ^{bD}	111.04 ± 3.5 ^{bI}	3.31 ± 0.88 ^{bB}	61.5 ± 9.2 ^{bC}
FRBN-2	5	1	20.12 ± 1.32 ^{aB}	24.32 ± 1.17 ^{aC}	7.15 ± 0.40 ^{Aa}	117.4 ± 4.6 ^{aA}
	25		20.89 ± 1.65 ^{bB}	18.21 ± 0.77 ^{bD}	5.74 ± 1.15 ^{bAC}	87.6 ± 4.0 ^{bB}
	5	8	21.88 ± 2.07 ^{aBC}	21.88 ± 1.91 ^{aC}	7.31 ± 1.44 ^{aA}	103.1 ± 5.1 ^{aA}
	25		19.00 ± 2.03 ^{Bab}	12.07 ± 1.27 ^{bE}	8.82 ± 0.34 ^{bA}	124.6 ± 103.2 ^{aA}

Los datos se presentan como media ± desviación estándar (SD). t_a (días): tiempo de almacenamiento, T (°C): temperatura de almacenamiento, INC: incontable, FRQ-1;FRQ-2: recubrimientos de quitosano y FRBN-1; FRBN-2: recubrimiento de quitosano y nanopartículas de ZnO con uno y dos minutos de inmersión respectivamente. IP: Índice de pardeamiento. ^{a,b,c} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de temperatura. ^{A,B,C} Diferentes superíndices en la misma fila indican diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de tiempo de almacenamiento. [^] Representa diferencia significativa entre las medias ($p \leq 0.05$) de los tratamientos. ^{**} Representa el tratamiento mas significativo.

Comparando con los datos del día 8 se observa un notable incremento y posterior descenso en los valores de a*, con diferencia estadísticamente significativa.

El aumento en la tonalidad de a^* obedece a la pérdida de humedad durante el almacenamiento debido a la transpiración; y la disminución en el enrojecimiento probablemente se debe a un aumento de la actividad respiratoria y enzimática que ocasiona pérdida de calidad por pardeamiento oxidativo¹⁵⁴.

Así mismo, entre el inicio y el día 8 del almacenamiento no se encontró diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) entre tratamientos con respecto a la coordenada cromática b^* (tonalidad amarilla de la epidermis en la fresa). El día 8 se observó una disminución de b^* en los frutos con recubrimiento comestible frente a los frutos control, asociada con reacciones de pardeamiento enzimático^{151,152,154}. Finalmente, los valores de índice de pardeamiento obtenidos se encontraron en el intervalo de 97 a 117 y 50 a 152 para el día 1 y 8 respectivamente, lo cual indica una tendencia creciente con el tiempo de almacenamiento¹⁰⁸.

Los resultados indican, que a pesar de que los recubrimientos de quitosano y óxido de zinc actúan como una barrera selectiva que impide la exposición del fruto al oxígeno ambiental, estos presentan posibles reacciones de oxidación¹⁵², así como, una disminución del ácido ascórbico por su degradación en el tiempo, que propicia las reacciones de pardeamiento enzimático^{153,154}.

Cabe resaltar que en el día 8, los valores de índice de pardeamiento para el tratamiento Q/ZnONPs 1M a temperaturas de 5 y 25 °C fueron comparables a los obtenidos con el tratamiento control. De manera general, tanto los frutos recubiertos como los frutos control presentaron diferencias estadísticas en el día 8 con respecto al inicio (día 0), por efecto del factor tiempo, diferencias que se atribuyen a la pérdida de humedad a lo largo del periodo de almacenamiento.

Esta pérdida de humedad se asume es ocasionada, probablemente, por fenómenos biológicos propios de los tejidos vegetales, como la transpiración¹⁵⁴. Al respecto, diversos autores mencionan que los recubrimientos a base de quitosano son capaces de retrasar cambios de color externos en las fresas, de manera similar a otros recubrimientos comestibles basados en biopolímeros naturales^{133,151}.

CONCLUSIONES

Conclusión general

Se logró la obtención de un bioanocompósito a partir de quitosano y ZnO nanoestructurado (Q-ZnO-NSs), el cual permitió el aumento de la vida de anaquel de fresas a temperatura ambiente (25 °C) y temperatura de refrigeración (5 °C).

Conclusiones particulares

Mediante DRX se identificaron las reflexiones características del ZnO en su fase Wurtzita; así mismo, la prueba de TEM y mapeo elemental se determinó el tamaño de cristalito igual 40 nm, lo que confirma la obtención de nanopartículas de ZnO. El análisis mediante SEM del material nanoestructurado de ZnO obtenido mediante CSS confirmó la formación de cristales típicos del óxido de zinc con morfología de tipo espagueti.

El análisis mediante FTIR, confirmó la presencia de las bandas asociadas a las vibraciones características de los enlaces presentes en el quitosano, y vibraciones atribuidas a los enlaces Zn-O para el caso del nanobiocomposito.

Las mediciones de SEM confirman que el espesor (2-3 μm) del recubrimiento de quitosano y Q/ZnO-NSs sobre la fresa, es estadísticamente independiente de los tiempos de inmersión usados en la presente investigación, lo cual determina el procedimiento para la estimación de espesores sobre superficies extremadamente rugosas.

El mapeo elemental de FRBN-1 muestra la distribución homogénea del ZnO nanoestructurado sobre la superficie de la fresa, dentro de la matriz del bioanocomposito.

Recubrir las fresas con el bioanocomposito de quitosano con ZnO nanoestructurado (FRBN) favoreció las propiedades fisicoquímicas y de textura de las fresas después de ser almacenadas durante 8 días en comparación con las fresas sin recubrir.

El análisis microbiológico mostró que el uso de quitosano en conjunto con las nanopartículas de ZnO redujeron la carga microbiana en las fresas tratadas gracias a las propiedades antibacteriales y sinergia que presentaron el óxido de zinc y el quitosano.

REFERENCIAS

- (1) Sridhar, A.; Ponnuchamy, M.; Kumar, P. S.; Kapoor, A. Food Preservation Techniques and Nanotechnology for Increased Shelf Life of Fruits, Vegetables, Beverages and Spices: A Review. *Environ. Chem. Lett.* **2020**, *19* (2), 1715–1735. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01126-2>.
- (2) Yadav, S.; Mehrotra, G. K.; Dutta, P. K. Chitosan Based ZnO Nanoparticles Loaded Gallic-Acid Films for Active Food Packaging. *Food Chem.* **2021**, *334* (December 2019), 127605. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127605>.
- (3) Zinc, A. De. *Óxido de Zinc*; 2016; Vol. [5] Asturi, pp 1–9.
- (4) SAGARPA. Planeación Agrícola Nacional 2017-2030, Fresa Mexicana. **2017**.
- (5) Giampieri, F.; Tulipani, S.; Alvarez-Suarez, J. M.; Quiles, J. L.; Mezzetti, B.; Battino, M. The Strawberry: Composition, Nutritional Quality, and Impact on Human Health. *Nutrition* **2012**, *28* (1), 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.08.009>.
- (6) Folta, K. M.; Davis, T. M. Strawberry Genes and Genomics. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* **2006**, *25* (5), 399–415. <https://doi.org/10.1080/07352680600824831>.
- (7) Productos Alimenticios No Industrializados Para Consumo Humano-Fruta Fresca-Fresa (Fragaria x Ananassa, Dutch)-Especificaciones y Método de Prueba (CANCELA A LA NMX-FF-062-1987).
- (8) Ganhão, R.; Pinheiro, J.; Tino, C.; Faria, H.; Gil, M. M. Characterization of Nutritional, Physicochemical, and Phytochemical Composition and Antioxidant Capacity of Three Strawberry “Fragaria × Ananassa Duch.” Cultivars (“Primoris”, “Endurance”, and “Portola”) from Western Region of Portugal. *Foods* **2019**, *8* (12), 682. <https://doi.org/10.3390/foods8120682>.
- (9) Bridges, M. A.; Mattice, M. R. Over Two Thousand Estimations of the Ph of Representative Foods*. *Am. J. Dig. Dis.* **1939**, *6* (7), 440–449. <https://doi.org/10.1007/BF02996505>.

- (10) Treviño-Garza, M. Z.; García, S.; Flores-González, M. del S.; Arévalo-Niño, K. Edible Active Coatings Based on Pectin, Pullulan, and Chitosan Increase Quality and Shelf Life of Strawberries (*Fragaria Ananassa*). *J. Food Sci.* **2015**, *80* (8), M1823–M1830. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12938>.
- (11) Fontana, A. J.; Schmidt, S. J. Water Activity Values of Select Consumer and Pharmaceutical Products. In *Water Activity in Foods*; Wiley, 2020; pp 593–594. <https://doi.org/10.1002/9781118765982.app6>.
- (12) Patras, A.; Brunton, N. P.; O'Donnell, C.; Tiwari, B. K. Effect of Thermal Processing on Anthocyanin Stability in Foods; Mechanisms and Kinetics of Degradation. *Trends Food Sci. Technol.* **2010**, *21* (1), 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.07.004>.
- (13) Hernández-Herrero, J. A.; Frutos, M. J. Colour and Antioxidant Capacity Stability in Grape, Strawberry and Plum Peel Model Juices at Different PHs and Temperatures. *Food Chem.* **2014**, *154*, 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.007>.
- (14) Octavia, L.; Choo, W. S. Folate, Ascorbic Acid, Anthocyanin and Colour Changes in Strawberry (*Fragaria x Annanasa*) during Refrigerated Storage. *LWT - Food Sci. Technol.* **2017**, *86*, 652–659. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.049>.
- (15) Tyl, C.; Sadler, G. D. PH and Titratable Acidity. **2017**, 389–406. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_22.
- (16) Ktenioudaki, A.; O'Donnell, C. P.; do Nascimento Nunes, M. C. Modelling the Biochemical and Sensory Changes of Strawberries during Storage under Diverse Relative Humidity Conditions. *Postharvest Biol. Technol.* **2019**, *154* (January), 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.04.023>.
- (17) Smetanska, I.; Hunaefi, D. *Nonthermal Technologies to Extend the Shelf Life of Fresh-Cut Fruits and Vegetables*; 2013. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7906-2>.
- (18) Ramos, P.; Parra-Palma, C.; Figueroa, C. R.; Zuñiga, P. E.; Valenzuela-Riffo, F.; Gonzalez, J.; Gaete-Eastman, C.; Morales-Quintana, L. Cell Wall-Related Enzymatic Activities and Transcriptional Profiles in Four Strawberry

- (Fragaria x Ananassa) Cultivars during Fruit Development and Ripening. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. **2018**, 238 (April), 325–332. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.064>.
- (19) Singh, R.; Sharma, R. R.; Tyagi, S. K. Pre-Harvest Foliar Application of Calcium and Boron Influences Physiological Disorders, Fruit Yield and Quality of Strawberry (Fragaria × Ananassa Duch.). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. **2007**, 112 (2), 215–220. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.12.019>.
- (20) Odeyemi, O. A.; Alegbeleye, O. O.; Strateva, M.; Stratev, D. Understanding Spoilage Microbial Community and Spoilage Mechanisms in Foods of Animal Origin. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2020**, 19 (2), 311–331. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>.
- (21) Scalzo, J.; Politi, A.; Pellegrini, N.; Mezzetti, B.; Battino, M. Plant Genotype Affects Total Antioxidant Capacity and Phenolic Contents in Fruit. *Nutrition* **2005**, 21 (2), 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.03.025>.
- (22) Gol, N. B.; Patel, P. R.; Rao, T. V. R. Improvement of Quality and Shelf-Life of Strawberries with Edible Coatings Enriched with Chitosan. *Postharvest Biol. Technol.* **2013**, 85, 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.008>.
- (23) Aday, M. S.; Temizkan, R.; Büyükcan, M. B.; Caner, C. An Innovative Technique for Extending Shelf Life of Strawberry: Ultrasound. *LWT - Food Sci. Technol.* **2013**, 52 (2), 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.013>.
- (24) Bouchra, C.; Achouri, M.; Hassani, L. M. I.; Hmamouchi, M. Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils of Seven Moroccan Labiatae against Botrytis Cinerea Pers: Fr. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, 89 (1), 165–169. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00275-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00275-7).
- (25) Xu, W. T.; Huang, K. L.; Guo, F.; Qu, W.; Yang, J. J.; Liang, Z. H.; Luo, Y. B. Postharvest Grapefruit Seed Extract and Chitosan Treatments of Table Grapes to Control Botrytis Cinerea. *Postharvest Biol. Technol.* **2007**, 46 (1), 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.03.019>.

- (26) Vu, K. D.; Hollingsworth, R. G.; Leroux, E.; Salmieri, S.; Lacroix, M. Development of Edible Bioactive Coating Based on Modified Chitosan for Increasing the Shelf Life of Strawberries. *Food Res. Int.* **2011**, *44* (1), 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.037>.
- (27) Nielsen, T.; Leufvén, A. The Effect of Modified Atmosphere Packaging on the Quality of Honeoye and Korona Strawberries. *Food Chem.* **2008**, *107* (3), 1053–1063. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.025>.
- (28) Luksiene, Z.; Buchovec, I. Impact of Chlorophyllin-Chitosan Coating and Visible Light on the Microbial Contamination, Shelf Life, Nutritional and Visual Quality of Strawberries. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2019**, *52*, 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.02.003>.
- (29) Alexandre, E. M. C.; Brandão, T. R. S.; Silva, C. L. M. Efficacy of Non-Thermal Technologies and Sanitizer Solutions on Microbial Load Reduction and Quality Retention of Strawberries. *J. Food Eng.* **2012**, *108* (3), 417–426. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.002>.
- (30) Klaiber, R. G.; Baur, S.; Wolf, G.; Hammes, W. P.; Carle, R. Quality of Minimally Processed Carrots as Affected by Warm Water Washing and Chlorination. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2005**, *6* (3), 351–362. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.03.002>.
- (31) Jin, P.; Wang, S. Y.; Wang, C. Y.; Zheng, Y. Effect of Cultural System and Storage Temperature on Antioxidant Capacity and Phenolic Compounds in Strawberries. *Food Chem.* **2011**, *124* (1), 262–270. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.029>.
- (32) Ishaque, F.; Hossain, A.; Sarker, A. R.; Rahman, H. A Study on Low Cost Post Harvest Storage Techniques to Extend the Shelf Life of Citrus Fruits and Vegetables. **2019**, *9* (1), 1–17. <https://doi.org/10.9734/JERR/2019/v9i117009>.
- (33) Sridhar, A.; Ponnuchamy, M.; Kumar, P. S.; Kapoor, A. Food Preservation Techniques and Nanotechnology for Increased Shelf Life of Fruits, Vegetables, Beverages and Spices: A Review. *Environ. Chem. Lett.* **2021**, *19* (2), 1715–1735. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01126-2>.

- (34) Khodaei, D.; Hamidi-Esfahani, Z.; Rahmati, E. Effect of Edible Coatings on the Shelf-Life of Fresh Strawberries: A Comparative Study Using TOPSIS-Shannon Entropy Method. *NFS J.* **2021**, *23* (August 2020), 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2021.02.003>.
- (35) Dissanayake, P. K. Postharvest Heat Treatments to Extend the Shelf Life of Banana (Musa Spp.) Postharvest Heat Treatments to Extend the Shelf Life of Banana (Musa Spp.) Fruits. **2019**, No. November. <https://doi.org/10.9734/bpi/atias/v1>.
- (36) Vicente, A. R.; Martínez, G. A.; Chaves, A. R.; Civello, P. M. Effect of Heat Treatment on Strawberry Fruit Damage and Oxidative Metabolism during Storage. *Postharvest Biol. Technol.* **2006**, *40* (2), 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.12.012>.
- (37) Cheng, L.; Sun, D. W.; Zhu, Z.; Zhang, Z. Emerging Techniques for Assisting and Accelerating Food Freezing Processes: A Review of Recent Research Progresses. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2017**, *57* (4), 769–781. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1004569>.
- (38) Barbosa de Lima, W. C. P.; Nascimento, L. P. C.; Lima Dantas, R.; Lima Tresena, N.; Silva Júnior, J. B.; Santos de Lima, G.; Barbosa de Lima, A. G. Heat Transfer in the Cooling, Freezing and Post-Freezing of Liquid Food: Modeling and Simulation. *Diffus. Found.* **2020**, *25*, 37–53. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/df.25.37>.
- (39) Paliyath, G. *Ripening and Senescence of Fleshy Fruits*; 2018.
- (40) Bulut, M.; Bayer, Ö.; Kirtıl, E.; Bayındırlı, A. Effect of Freezing Rate and Storage on the Texture and Quality Parameters of Strawberry and Green Bean Frozen in Home Type Freezer. *Int. J. Refrig.* **2018**, *88* (April), 360–369. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2018.02.030>.
- (41) Bello, E. F. T.; Martínez, G. G.; Klotz Ceberio, B. F.; Rodrigo, D.; López, A. M. High Pressure Treatment in Foods. *Foods* **2014**, *3* (3), 476–490. <https://doi.org/10.3390/foods3030476>.
- (42) Aaby, K.; Grimsbo, I. H.; Hovda, M. B.; Rode, T. M. Effect of High Pressure and Thermal Processing on Shelf Life and Quality of Strawberry Purée and

- Juice. *Food Chem.* **2018**, *260*, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.100>.
- (43) Patras, A.; Brunton, N. P.; Da Pieve, S.; Butler, F. Impact of High Pressure Processing on Total Antioxidant Activity, Phenolic, Ascorbic Acid, Anthocyanin Content and Colour of Strawberry and Blackberry Purées. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2009**, *10* (3), 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.12.004>.
- (44) Majeed, A.; Muhammad, Z.; Majid, A.; Shah, A. H.; Hussain, M. Impact of Low Doses of Gamma Irradiation on Shelf Life and Chemical Quality of Strawberry (*Fragaria x Ananassa*) Cv. 'Corona.' *J. Anim. Plant Sci.* **2014**, *24* (5), 1531–1536.
- (45) Nigro, F.; Ippolito, A.; Lattanzio, V.; Di Venere, D.; Salerno, M. Effect of Ultraviolet-C Light on Postharvest Decay of Strawberry. *J. Plant Pathol.* **2000**, *82* (1), 29–37.
- (46) Yoon, Y. S.; Ameer, K.; Song, B. S.; Kim, J. K.; Park, H. Y.; Lee, K. C.; Eun, J. B.; Park, J. H. Effects of X-Ray Irradiation on the Postharvest Quality Characteristics of 'Maehyang' Strawberry (*Fragaria* × *Ananassa*). *Food Chem.* **2020**, *325*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126817>.
- (47) Reddy, S. V. R.; Sharma, R. R.; Gundewadi, G. *Use of Irradiation for Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables*; Elsevier Inc., 2018; Vol. 1986. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812698-1.00006-6>.
- (48) Sarron, E.; Gadonna-Widehem, P.; Aussenac, T. Ozone Treatments for Preserving Fresh Vegetables Quality: A Critical Review. *Foods* **2021**, *10* (3). <https://doi.org/10.3390/foods10030605>.
- (49) Zhang, H.; Li, K.; Zhang, X.; Dong, C.; Ji, H.; Ke, R.; Ban, Z.; Hu, Y.; Lin, S.; Chen, C. Effects of Ozone Treatment on the Antioxidant Capacity of Postharvest Strawberry. *RSC Adv.* **2020**, *10* (63), 38142–38157. <https://doi.org/10.1039/d0ra06448c>.
- (50) He, X.; Deng, H.; Hwang, H. min. The Current Application of Nanotechnology in Food and Agriculture. *J. Food Drug Anal.* **2019**, *27* (1), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.002>.

- (51) Neethu, T. M.; Dubey, P. K.; Kaswala, A. R. Prospects and Applications of Hydrogel Technology in Agriculture. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **2018**, *7* (05), 3155–3162. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.369>.
- (52) Kaphle, A.; Akhela, P. N. N.; Hemant, U.; Daima, K. Nanomaterials for Agriculture , Food and Environment : Applications , Toxicity and Regulation. *Environ. Chem. Lett.* **2017**. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0662-y>.
- (53) Singh, T.; Shukla, S.; Kumar, P.; Wahla, V.; Bajpai, V. K. Application of Nanotechnology in Food Science: Perception and Overview. **2017**, *8* (August), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01501>.
- (54) Bains, P. S. *Materials Horizons : From Nature to Nanomaterials Biomaterials in Orthopaedics and Bone Regeneration*. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-9977-0>.
- (55) Agulló, E.; Mato, R.; Goycoolea, F. Quitina y Quitosano: Obtención, Caracterización y Aplicaciones. *Programa CYTED, CIAD, AC, Fondo Editor. la Pontif. Univ. Católica del Perú, Perú.* **2004**, No. January, 101–154.
- (56) Hidalgo, C.; Fernández, M.; Nieto, O. M.; Paneque, A. A.; Fernández, G.; Llópez, J. C. Estudio De Quitosanos Cubanos Derivados De La Quitina De La Langosta. *Rev. Iberoam. Polim* **2009**, *10* (1), 11–27.
- (57) Kurita, K. Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. *Mar. Biotechnol.* **2006**, *8* (3), 203–226. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-0097-5>.
- (58) Franco, T. T.; Peter, M. G. Advances in Chitin and Chitosan Research. *Polym. Int.* **2011**, *60* (6), 873–874. <https://doi.org/10.1002/pi.3111>.
- (59) Escorcía, D.; Hernández, D.; Sánchez, M.; Benevente, M. Diseño y Montaje de Una Planta Piloto Para La Extracción de Quitina y Proteínas. *Nexo Rev. Científica* **1970**, *22* (2), 45–55. <https://doi.org/10.5377/nexo.v22i2.42>.
- (60) Salas, V. Estudio via Simulación Molecular de Adsorción de Cromo Por Quitosano, BUAP, 2010.
- (61) Dutta, P. K.; Dutta, J.; Tripathi, V. S. Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Applications. *J. Sci. Ind. Res.* **2004**, *63*, 20–31.
- (62) Parada, L. G.; Miranda, R.; Salvador, S. Caracterización de Quitosano Por

- Viscosimetría Capilar y Valoración Potenciométrica. *Rev. Iberoam. polímeros* **2004**, 5 (1), 1–16.
- (63) Aranaz, I.; Mengibar, M.; Harris, R.; Panos, I.; Miralles, B.; Acosta, N.; Galed, G.; Heras, A. Functional Characterization of Chitin and Chitosan. *Curr. Chem. Biol.* **2009**, 3 (2), 203–230. <https://doi.org/10.2174/2212796810903020203>.
- (64) Islam, M.; Masum, S.; Rahman, M. M.; Islam, A.; Shaikh, a a. Preparation of Chitosan from Shrimp Shell and Investigation of Its Properties. *Int. J. Basic Appl. Sci.* **2011**, No. February, 77–80.
- (65) Strand, S. P.; Issa, M. M.; Christensen, B. E.; Vårum, K. M.; Artursson, P. Tailoring of Chitosans for Gene Delivery: Novel Self-Branched Glycosylated Chitosan Oligomers with Improved Functional Properties. *Biomacromolecules* **2008**, 9 (11), 3268–3276. <https://doi.org/10.1021/bm800832u>.
- (66) Velásquez, C. L. Algunos Usos Del Quitosano En Sistemas Acuósos. *Rev. Iberoam. polímeros* **2003**, 4 (2), 91.
- (67) Tangsadthakun, C.; Kanokpanont, S.; Sanchavanakit, N.; Pichyangkura, R.; Banaprasert, T.; Tabata, Y.; Damrongsakkul, S. The Influence of Molecular Weight of Chitosan on the Physical and Biological Properties of Collagen/Chitosan Scaffolds. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2007**, 18 (2), 147–163. <https://doi.org/10.1163/156856207779116694>.
- (68) Morán, M. C.; Laranjeira, T.; Ribeiro, A.; Miguel, M. G.; Lindman, B. Chitosan-DNA Particles for DNA Delivery: Effect of Chitosan Molecular Weight on Formation and Release Characteristics. *J. Dispers. Sci. Technol.* **2009**, 30 (10), 1494–1499. <https://doi.org/10.1080/01932690903123403>.
- (69) Claesson, P. M.; Ninham, B. W. PH-Dependent Interactions between Adsorbed Chitosan Layers. *Langmuir* **1992**, 8 (5), 1406–1412. <https://doi.org/10.1021/la00041a027>.
- (70) Kumirska, J.; Weinhold, M. X.; Thöming, J.; Stepnowski, P. Biomedical Activity of Chitin/Chitosan Based Materials- Influence of Physicochemical Properties Apart from Molecular Weight and Degree of N-Acetylation.

- Polymers (Basel)*. **2011**, 3 (4), 1875–1901. <https://doi.org/10.3390/polym3041875>.
- (71) Lertsutthiwong, P.; How, N. C.; Chandkrachang, S.; Stevens, W. F. Effect of Chemical Treatment on the Characteristics of Shrimp Chitosan . Effect of Chemical Treatment on the Characteristics of Shrimp Chitosan Bioprocess Technology , Asian Institute of Technology Present Address : Center for Chitin-Chitosan Biomaterials. *J. Met. Mater. Miner.* **2014**, 12 (1), 11–18.
- (72) Jiang, Y.; Li, J.; Jiang, W. Effects of Chitosan Coating on Shelf Life of Cold-Stored Litchi Fruit at Ambient Temperature. **2005**, 38, 757–761. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.09.004>.
- (73) Sharma, S.; Barman, K.; Siddiqui, M. W. 9 - *Chitosan: Properties and Roles in Postharvest Quality Preservation of Horticultural Crops*; Elsevier Inc., 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804313-4/00009-8>.
- (74) Babaei-ghazvini, A.; Acharya, B.; Korber, D. R. Antimicrobial Biodegradable Food Packaging Based On. **2021**.
- (75) Jesionowski, T. Zinc Oxide — From Synthesis to Application: A Review. **2014**, 2833–2881. <https://doi.org/10.3390/ma7042833>.
- (76) Carrillo Inungaray, M. L.; Reyes Munguía, A. Vida Útil de Los Alimentos / Lifetime Food. *CIBA Rev. Iberoam. las Ciencias Biológicas y Agropecu.* **2014**, 2 (3), 32. <https://doi.org/10.23913/ciba.v2i3.20>.
- (77) Doan Thi, T. U.; Nguyen, T. T.; Thi, Y. D.; Ta Thi, K. H.; Phan, B. T.; Pham, K. N. Green Synthesis of ZnO Nanoparticles Using Orange Fruit Peel Extract for Antibacterial Activities. *RSC Adv.* **2020**, 10 (40), 23899–23907. <https://doi.org/10.1039/d0ra04926c>.
- (78) Lanje, A. S.; Sharma, S. J.; Ningthoujam, R. S.; Ahn, J.; Pode, R. B. Low Temperature Dielectric Studies of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles Prepared by Precipitation Method. *Adv. Powder Technol.* **2013**, 24 (1), 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2012.08.005>.
- (79) Kwabena, D. E.; Siong, W. B.; Chin, S. F.; Maligan, M. F. Zinc Oxide Nanoparticles Synthesis Methods and Its Effect on Morphology : A Review. **2021**, No. November. <https://doi.org/10.33263/BRIAC123.42614292>.

- (80) Benhebal, H.; Chaib, M.; Salmon, T.; Lambert, D.; Crine, M.; Heinrichs, B. Photocatalytic Degradation of Phenol and Benzoic Acid Using Zinc Oxide Powders Prepared by the Sol – Gel Process. **2013**, 517–523. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2013.04.005>.
- (81) Zhang, J.; Wang, J.; Zhou, S.; Duan, K.; Feng, B.; Weng, J.; Tang, H.; Wu, P. Ionic Liquid-Controlled Synthesis of ZnO Microspheres. **2010**, 9798–9804. <https://doi.org/10.1039/c0jm01970d>.
- (82) Ecuyer, J. L.; Audet, N.; Shink, D.; Triboulet, R.; Benz, K. W.; Fiederle, M.; Lincot, D.; Tomashik, V. N.; Tomashik, Z. F. *Crystal Growth and Surfaces*; 2010. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-096513-0.00001-7>.
- (83) Strategy, A. A Development for Fruit Production Activity in Three Municipalities in Puebla. 2006.
- (84) T.-Huerta, A.; Perez-Sanchez, G. F.; Chavez, F.; Zaca-Moran, P.; Morales-Acevedo, A.; Pena-Sierra, R.; Goiz, O.; Cortes-Salinas, D. ZnO Nanowires Synthesized by CSS and Their Application as a Hydrogen Gas Sensor. *2013 10th Int. Conf. Electr. Eng. Comput. Sci. Autom. Control. CCE 2013* **2013**, 488–492. <https://doi.org/10.1109/ICEEE.2013.6676025>.
- (85) Chávez, F.; Mimila-Arroyo, J.; Bailly, F.; Bourgoin, J. C. Epitaxial GaAs by Close Space Vapor Transport. *J. Appl. Phys.* **1983**, 54 (11), 6646–6651. <https://doi.org/10.1063/1.331850>.
- (86) Yi, G.; Li, X.; Yuan, Y.; Zhang, Y. Redox Active Zn/ZnO Duo Generating Superoxide (O_2^-) and H_2O_2 under All Conditions for Environmental Sanitation. *Environ. Sci. Nano* **2019**, 6 (1), 68–74. <https://doi.org/10.1039/c8en01095a>.
- (87) Prakash, T.; Jayaprakash, R.; Neri, G.; Kumar, S. Synthesis of ZnO Nanostructures by Microwave Irradiation Using Albumen as a Template. **2013**, 2013, 1–9.
- (88) Kim, I.; Viswanathan, K.; Kasi, G.; Thanakkasaranee, S.; Sadeghi, K.; Seo, J. ZnO Nanostructures in Active Antibacterial Food Packaging: Preparation Methods, Antimicrobial Mechanisms, Safety Issues, Future Prospects, and Challenges. *Food Rev. Int.* **2020**, 00 (00), 1–29.

- <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1737709>.
- (89) Sharma, D.; Rajput, J.; Kaith, B. S.; Kaur, M.; Sharma, S. Synthesis of ZnO Nanoparticles and Study of Their Antibacterial and Antifungal Properties. *Thin Solid Films* **2010**, *519* (3), 1224–1229. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.08.073>.
- (90) Qi, Z.; Xue, X.; Xu, X.; Zhou, H.; Li, W.; Yang, G. Postharvest Biology and Technology Detoxified and Antimicrobial-Enhanced Olive Mill Wastewater Phenols Capping ZnO Nanoparticles Incorporated with Carboxymethyl Cellulose for Fresh Strawberry Preservation. *Postharvest Biol. Technol.* **2022**, *188* (March), 111891. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111891>.
- (91) Yamamoto, O. Influence of Particle Size on the Antibacterial Activity of Zinc Oxide. *Int. J. Inorg. Mater.* **2001**, *3* (7), 643–646. [https://doi.org/10.1016/S1466-6049\(01\)00197-0](https://doi.org/10.1016/S1466-6049(01)00197-0).
- (92) Espitia, P. J. P.; Otoni, C. G.; Soares, N. F. F. *Zinc Oxide Nanoparticles for Food Packaging Applications*; Elsevier Inc., 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800723-5.00034-6>.
- (93) Al-Naamani, L.; Dutta, J.; Dobretsov, S. Nanocomposite Zinc Oxide-Chitosan Coatings on Polyethylene Films for Extending Storage Life of Okra (*Abelmoschus Esculentus*). *Nanomaterials* **2018**, *8* (7). <https://doi.org/10.3390/nano8070479>.
- (94) Emamifar, A.; Kadivar, M.; Shahedi, M.; Soleimani-Zad, S. Effect of Nanocomposite Packaging Containing Ag and ZnO on Inactivation of *Lactobacillus Plantarum* in Orange Juice. *Food Control* **2011**, *22* (3–4), 408–413. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.011>.
- (95) Safety Assessment of the Substance Zinc Oxide, Nanoparticles, for Use in Food Contact Materials. *EFSA J.* **2016**, *14* (3). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4408>.
- (96) Zinc Fact Sheet for Health Professionals <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Zinc-HealthProfessional/>.
- (97) Indumathi, M. P.; Saral Sarojini, K.; Rajarajeswari, G. R. Antimicrobial and

- Biodegradable Chitosan/Cellulose Acetate Phthalate/ZnO Nano Composite Films with Optimal Oxygen Permeability and Hydrophobicity for Extending the Shelf Life of Black Grape Fruits. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *132*, 1112–1120. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.171>.
- (98) Noshirvani, N.; Ghanbarzadeh, B.; Rezaei Mokarram, R.; Hashemi, M. Novel Active Packaging Based on Carboxymethyl Cellulose-Chitosan-ZnO NPs Nanocomposite for Increasing the Shelf Life of Bread. *Food Packag. Shelf Life* **2017**, *11*, 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.01.010>.
- (99) Youssef, A. M.; El-Sayed, S. M.; El-Sayed, H. S.; Salama, H. H.; Dufresne, A. Enhancement of Egyptian Soft White Cheese Shelf Life Using a Novel Chitosan/Carboxymethyl Cellulose/Zinc Oxide Bionanocomposite Film. *Carbohydr. Polym.* **2016**, *151*, 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.023>.
- (100) Baek, S. K.; Song, K. Bin. Development of Gracilaria Vermiculophylla Extract Films Containing Zinc Oxide Nanoparticles and Their Application in Smoked Salmon Packaging. *LWT - Food Sci. Technol.* **2018**, *89*, 269–275. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.064>.
- (101) Kumar, S.; Boro, J. C.; Ray, D.; Mukherjee, A.; Dutta, J. Bionanocomposite Films of Agar Incorporated with ZnO Nanoparticles as an Active Packaging Material for Shelf Life Extension of Green Grape. *Heliyon* **2019**, *5* (6), e01867. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01867>.
- (102) Polat, S.; Fenercioglu, H.; Unal Turhan, E.; Guclu, M. Effects of Nanoparticle Ratio on Structural, Migration Properties of Polypropylene Films and Preservation Quality of Lemon Juice. *J. Food Process. Preserv.* **2018**, *42* (4), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13541>.
- (103) Emamifar, A.; Mohammadzadeh, M. Preparation and Application of LDPE/ZnO Nanocomposites for Extending Shelf Life of Fresh Strawberries. *Food Technol. Biotechnol.* **2015**, *53* (4), 488–495. <https://doi.org/10.17113/ftb.53.04.15.3817>.
- (104) Al-Naamani, L.; Dobretsov, S.; Dutta, J. Chitosan-Zinc Oxide Nanoparticle Composite Coating for Active Food Packaging Applications. *Innov. Food Sci.*

- Emerg. Technol.* **2016**, *38*, 231–237.
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.10.010>.
- (105) Zhang, X.; Zhang, Z.; Wu, W.; Yang, J.; Yang, Q. Preparation and Characterization of Chitosan/Nano-ZnO Composite Film with Antimicrobial Activity. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **2021**, *44* (6), 1193–1199.
<https://doi.org/10.1007/s00449-021-02521-x>.
- (106) Vallejo-Domínguez, D.; Rubio-Rosas, E.; Aguila-Almanza, E.; Hernández-Cocoletzi, H.; Ramos-Cassellis, M. E.; Luna-Guevara, M. L.; Rambabu, K.; Manickam, S.; Siti Halimatul Munawaroh, H.; Loke Show, P. Ultrasound in the Deproteinization Process for Chitin and Chitosan Production. *Ultrason. Sonochem.* **2021**, *72*. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105417>.
- (107) Ochoa-Velasco, C. E.; Guerrero-Beltrán, J. Á. Postharvest Quality of Peeled Prickly Pear Fruit Treated with Acetic Acid and Chitosan. *Postharvest Biol. Technol.* **2014**, *92*, 139–145.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.01.023>.
- (108) Huang, Z.; Li, J.; Zhang, J.; Gao, Y.; Hui, G. Physicochemical Properties Enhancement of Chinese Kiwi Fruit (*Actinidia Chinensis* Planch) via Chitosan Coating Enriched with Salicylic Acid Treatment. *J. Food Meas. Charact.* **2017**, *11* (1), 184–191. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9385-1>.
- (109) Guevara, L.; Ochoa Velasco, C.; Carranza, P. H.; Ernesto, L. Composition, Physico Chemical Properties and Antioxidant Capacity of Renealmia Alpinia. *Bdigital.Uncu.Edu.Ar*.
- (110) Mote, V.; Purushotham, Y.; Dole, B. Williamson-Hall Analysis in Estimation of Lattice Strain in Nanometer-Sized ZnO Particles. *J. Theor. Appl. Phys.* **2012**, *6* (1), 2–9. <https://doi.org/10.1186/2251-7235-6-6>.
- (111) Ahghari, M. A.; Ahghari, M. R.; Kamalzare, M.; Maleki, A. Design, Synthesis, and Characterization of Novel Eco-Friendly Chitosan-AgIO₃ Bionanocomposite and Study Its Antibacterial Activity. *Sci. Rep.* **2022**, *12* (1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14501-6>.
- (112) Varma, R.; Vasudevan, S. Extraction, Characterization, and Antimicrobial Activity of Chitosan from Horse Mussel *Modiolus Modiolus*. *ACS Omega*

- 2020**, 5 (32), 20224–20230. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01903>.
- (113) Yusof, N. A. A.; Zain, N. M.; Pauzi, N. Synthesis of Chitosan / Zinc Oxide Nanoparticles Stabilized by Chitosan via Microwave Heating. *Bull. Chem. React. Eng. & Catal.* **2019**, 14 (2), 450–458. <https://doi.org/10.9767/bcrec.14.2.3319.450-458>.
- (114) Priyadarshi, R.; Negi, Y. S. Effect of Varying Filler Concentration on Zinc Oxide Nanoparticle Embedded Chitosan Films as Potential Food Packaging Material. *J. Polym. Environ.* **2017**, 25 (4), 1087–1098. <https://doi.org/10.1007/s10924-016-0890-4>.
- (115) Chagas, P. M. B.; Caetano, A. A.; Tireli, A. A.; Cesar, P. H. S.; Corrêa, A. D.; Guimarães, I. do R. Use of an Environmental Pollutant From Hexavalent Chromium Removal as a Green Catalyst in The Fenton Process. *Sci. Rep.* **2019**, 9 (1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49196-9>.
- (116) Restrepo F., Jorge I., Aristizábal T., I. D. Conservación de Fresa (*Fragaria x Ananassa Duch Cv . Camarosa*) Mediante La Aplicación de Recubrimientos Comestibles de Gel Mucilaginoso de Penca Sábila (*Aloe Barbadensis Miller*) y Cera de Carnaúba. *Vitae* **2010**, 17 (3), 252–263.
- (117) M.Moragas; S.Valcárcel. *NORMAS MICROBIOLÓGICAS DE LOS ALIMENTOS Y ASIMILADOS (Superficies, Aguas Diferentes de Consumo, Subproductos)*; 2021.
- (118) Sogvar, O. B.; Koushesh Saba, M.; Emamifar, A.; Hallaj, R. Influence of Nano-ZnO on Microbial Growth, Bioactive Content and Postharvest Quality of Strawberries during Storage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2016**, 35, 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.05.005>.
- (119) Kang, S. H.; Cha, H. J.; Jung, S. W.; Lee, S. J. Application of Chitosan-ZnO Nanoparticle Edible Coating to Wild-Simulated Korean Ginseng Root. *Food Sci. Biotechnol.* **2022**, 31 (5), 579–586. <https://doi.org/10.1007/s10068-022-01054-7>.
- (120) Sucharitha, K. V.; Beulah, A. M.; Ravikiran, K. Effect of Chitosan Coating on Storage Stability of Tomatoes (*Lycopersicon Esculentum Mill*). *Int. Food Res. J.* **2018**, 25 (1), 93–99.

- (121) Emamifar, A.; Kadivar, M.; Shahedi, M.; Soleimani-Zad, S. Evaluation of Nanocomposite Packaging Containing Ag and ZnO on Shelf Life of Fresh Orange Juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2010**, *11* (4), 742–748. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.06.003>.
- (122) S.H. Aly, S.; N. Mohamed, E.; S. Abdou, E. Effect of Edible Coating on Extending the Shelf Life and Quality of Fresh Cut Taro. *Am. J. Food Technol.* **2017**, *12* (2), 124–131. <https://doi.org/10.3923/ajft.2017.124.131>.
- (123) Emamifar, A.; Bavaisi, S. Nanocomposite Coating Based on Sodium Alginate and Nano-ZnO for Extending the Storage Life of Fresh Strawberries (*Fragaria x Ananassa Duch.*). *J. Food Meas. Charact.* **2020**, *14* (2), 1012–1024. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00350-x>.
- (124) Oliveira, D. M.; Kwiatkowski, A.; Rosa, C. I. L. F.; Clemente, E. Refrigeration and Edible Coatings in Blackberry (*Rubus Spp.*) Conservation. *J. Food Sci. Technol.* **2014**, *51* (9), 2120–2126. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0702-3>.
- (125) Hernández Suárez, M.; Rodríguez Rodríguez, E. M.; Díaz Romero, C. Chemical Composition of Tomato (*Lycopersicon Esculentum*) from Tenerife, the Canary Islands. *Food Chem.* **2008**, *106* (3), 1046–1056. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.025>.
- (126) Nunes, M. C. N.; Brecht, J. K.; Morais, A. M. M. B.; Sargent, S. A. Physicochemical Changes during Strawberry Development in the Field Compared with Those That Occur in Harvested Fruit during Storage. *J. Sci. Food Agric.* **2006**, *86* (2), 180–190. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2314>.
- (127) Zhu, Y.; Yu, J.; Brecht, J. K.; Jiang, T.; Zheng, X. Pre-Harvest Application of Oxalic Acid Increases Quality and Resistance to *Penicillium Expansum* in Kiwifruit during Postharvest Storage. *Food Chem.* **2016**, *190*, 537–543. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.001>.
- (128) Barboni, T.; Cannac, M.; Chiaramonti, N. Effect of Cold Storage and Ozone Treatment on Physicochemical Parameters, Soluble Sugars and Organic Acids in *Actinidia Deliciosa*. *Food Chem.* **2010**, *121* (4), 946–951. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.024>.

- (129) Varasteh, F.; Arzani, K.; Barzegar, M.; Zamani, Z. Pomegranate (*Punica Granatum* L.) Fruit Storability Improvement Using Pre-Storage Chitosan Coating Technique. *J. Agric. Sci. Technol.* **2017**, *19* (2), 389–400.
- (130) Tanada-Palmu, P. S.; Grosso, C. R. F. Effect of Edible Wheat Gluten-Based Films and Coatings on Refrigerated Strawberry (*Fragaria Ananassa*) Quality. *Postharvest Biol. Technol.* **2005**, *36* (2), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.12.003>.
- (131) HUBER, D. J. Strawberry Fruit Softening: The Potential Roles of Polyuronides and Hemicelluloses. *J. Food Sci.* **1984**, *49* (5), 1310–1315. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1984.tb14976.x>.
- (132) Barikloo, H.; Ahmadi, E. Effect of Nanocomposite-Based Packaging and Chitosan Coating on the Physical, Chemical, and Mechanical Traits of Strawberry during Storage. *J. Food Meas. Charact.* **2018**, *12* (3), 1795–1817. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9795-3>.
- (133) Hernández-Muñoz, P.; Almenar, E.; Ocio, M. J.; Gavara, R. Effect of Calcium Dips and Chitosan Coatings on Postharvest Life of Strawberries (*Fragaria x Ananassa*). *Postharvest Biol. Technol.* **2006**, *39* (3), 247–253. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.11.006>.
- (134) Gao, Y.; Xu, D.; Ren, D.; Zeng, K.; Wu, X. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Citrus sinensis* peel extract and application to strawberry preservation: A comparison study. *Lwt*, **2020**, *126*, 109297. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109297>
- (135) Boura-Theodoridou, O.; Giannakas, A.; Katapodis, P.; Stamatis, H.; Ladavos, A.; Barkoula, N. M. Performance of ZnO/chitosan nanocomposite films for antimicrobial packaging applications as a function of NaOH treatment and glycerol/PVOH blending. *Food Packaging and Shelf Life*, **2020**, *23*, 100456. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100456>
- (136) Priyadarshi, R.; Negi, Y. S. Effect of varying filler concentration on zinc oxide nanoparticle embedded chitosan films as potential food packaging material. *Journal of Polymers and the Environment*, **2017**, *25*(4), 1087-1098.

- <https://doi.org/10.1007/s10924-016-0890-4>
- (137) Zahiri Oghani, F.; Tahvildari, K.; Nozari, M. Novel antibacterial food packaging based on chitosan loaded ZnO nano particles prepared by green synthesis from Nettle leaf extract. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, **2021**, 31(1), 43-54.
<https://doi.org/10.1007/s10904-020-01621-7>
- (138) Sogvar, O. B.; Saba, M. K.; Emamifar, A.; Hallaj, R. Influence of nano-ZnO on microbial growth, bioactive content and postharvest quality of strawberries during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **2016**, 35, 168-176.
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.05.005>
- (139) Al-Naamani, L.; Dobretsov, S.; Dutta, J. Chitosan-zinc oxide nanoparticle composite coating for active food packaging applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **2016**, 38, 231-237.
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.10.010>
- (140) Kumar, S.; Boro, J. C.; Ray, D.; Mukherjee, A.; Dutta, J. Bionanocomposite films of agar incorporated with ZnO nanoparticles as an active packaging material for shelf life extension of green grape. *Heliyon*, **2019**, 5(6), e01867.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01867>
- (141) Yadav, S.; Mehrotra, G. K.; Dutta, P. K. Chitosan based ZnO nanoparticles loaded gallic-acid films for active food packaging. *Food Chemistry*, **2021**, 334, 127605. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127605>
- (142) Sarojini, M. P.; Rajarajeswari, G. R. Mahua oil-based polyurethane/chitosan/nano ZnO composite films for biodegradable food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2019**, 124, 163-174.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.195>
- (143) He L, Liu Y.; Mustapha A.; Lin M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiol Res*, **2011**, 20;166(3):207-15.

<https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.03.003>.

- (144) Lakshmeesha, T. R.; Murali, M.; Ansari, M. A.; Udayashankar, A. C.; Alzohairy, M. A.; Almatroudi, A.; Niranjana, S. R. Biofabrication of zinc oxide nanoparticles from *Melia azedarach* and its potential in controlling soybean seed-borne phytopathogenic fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **2020**, 27(8), 1923-1930.

<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.013>

- (145) Jackson, S. L.; Heath, I. B. Roles of calcium ions in hyphal tip growth. *Microbiological Reviews*, **1993**, 57(2), 367-382.

<https://doi.org/10.1128/mr.57.2.367-382.1993>

- (146) El Ghaouth, A.; Arul, J.; Asselin, A.; Benhamou, N. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. *Mycological research*, **1992**, 96(9), 769-779.

[https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80447-4](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80447-4)

- (147) Lopez-Moya F.; Lopez-Llorca, L.V. Omics for investigating chitosan as an antifungal and 794 gene modulator. *Journal of Fungi*, **2016**, 2, 11; <https://doi.org/10.3390/jof2010011>

- (148) Pastor, C.; Sánchez-González, L.; Marcilla, A.; Chiralt, A.; Cháfer, M.; González-Martínez, C.; 847. Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropylmethylcellulose edible coatings 848 containing propolis extract. *Postharvest Biology and Technology*, **2011**, 60, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.11.003>

- (149) Xing, Y.; Xu, Q.; Yang, S.X.; Chen, C.; Tang, Y.; Sun, S.; Zhang, L.; Che, Z.; Li, X. Preservation mechanisms of chitosan-based coating with cinnamon oil for fruits storage based on 987 sensor data. *Sensors (Basel)*, **2016**, 16(7), 1111. <https://doi.org/10.3390/s16071111>

- (150) Grande-Tovar, C. D.; Chaves-López, C.; Serio, A.; Rossi, C.; Paparella, A.. Chitosan coatings enriched with essential oils: Effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. *Trends in Food Science & Technology*, **2018**, 78, 61-71.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.019>

(151) Restrepo, J. I.; Aristizábal, I. D. Conservación de fresa (fragaria x ananassa duch cv. camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*aloe barbadensis miller*) y cera de carnaúba. *Vitae*, **2010**,17(3), 252-263.

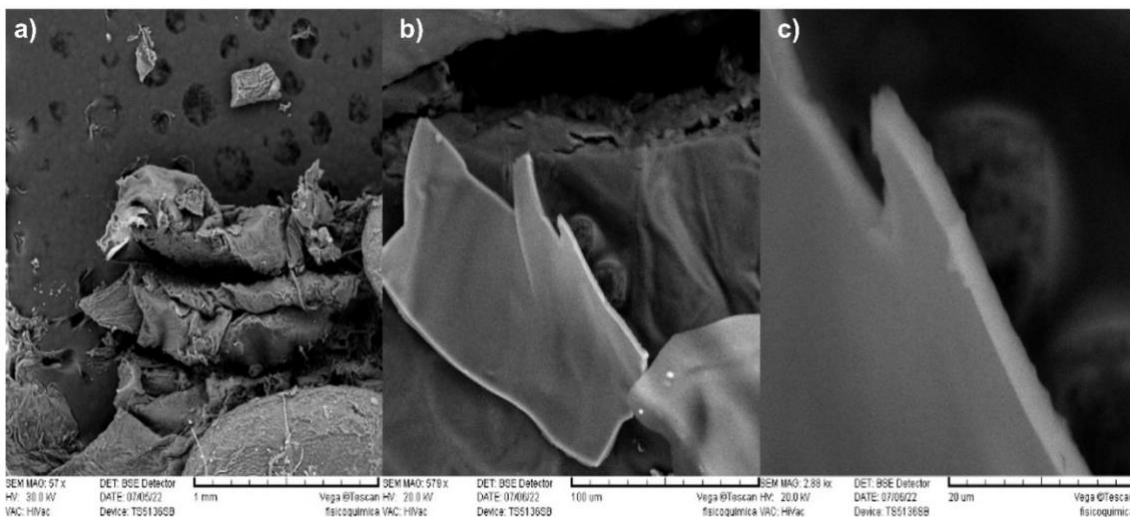
(152) Jiang, Y.; Yu, L.; Hu, Y.; Zhu, Z.; Zhuang, C.; Zhao, Y.; Zhong, Y. The preservation performance of chitosan coating with different molecular weight on strawberry using electrostatic spraying technique. *International journal of biological macromolecules*, **2020**, 151, 278-285.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.169>

(153) Esmaeili, Y.; Zamindar, N.; Paidari, S.; Ibrahim, S. A.; Mohammadi Nafchi, A.. The synergistic effects of aloe vera gel and modified atmosphere packaging on the quality of strawberry fruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, **2021**, 45(12), e16003.

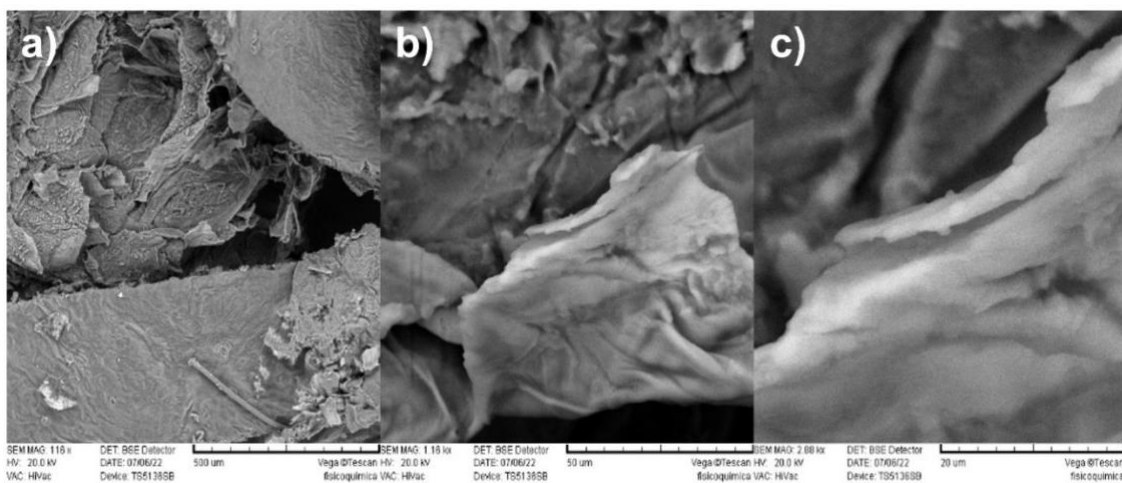
<https://doi.org/10.1111/jfpp.16003>

(154) Alvarado-Ambriz, S.; Lobato-Calleros, C.; Hernández-Rodríguez, L.; Vernon-Carter, E. J. Wet processing coffee waste as an alternative to produce extracts with antifungal activity: *In vitro* and *in vivo* valorization. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, **2020**, 19(1), 135-149.

ANEXOS



Micrografías SEM del recubrimiento de quitosano obtenido durante 1 min de inmersión. Imágenes tomadas a aumentos de: a) 57x, b) 579x y c) 2.88kx.



Micrografía SEM del recubrimiento de quitosano obtenido durante 2 min de inmersión. Imágenes tomadas a aumentos de: a) 116x, b) 1.16kx y c) 2.88kx.

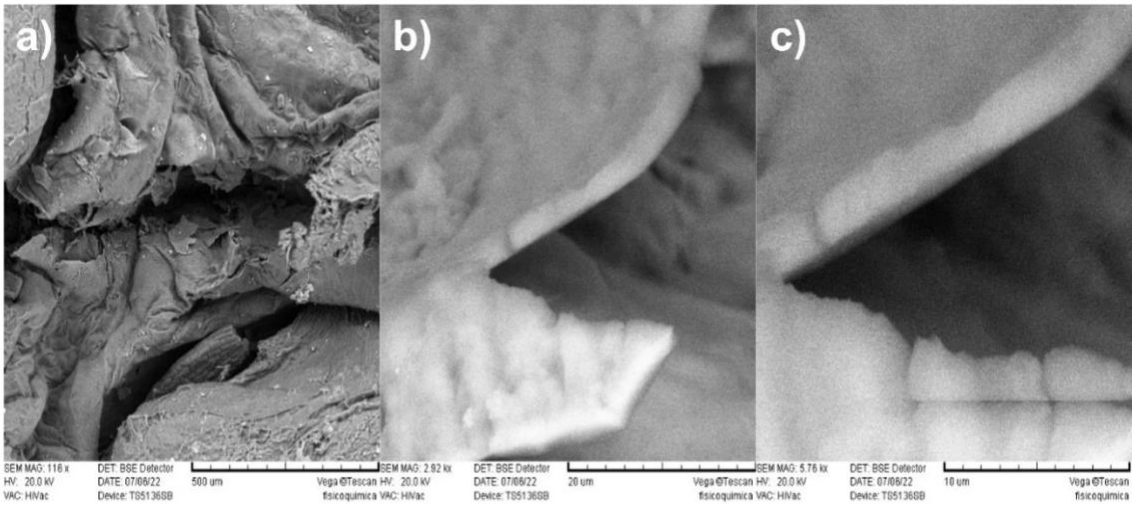


Imagen SEM del recubrimiento de quitosano y ZnO nanoestructurado obtenido durante 1 min de inmersión. Imágenes tomadas a aumentos de a)116x, b)2.92x, c)5.76x

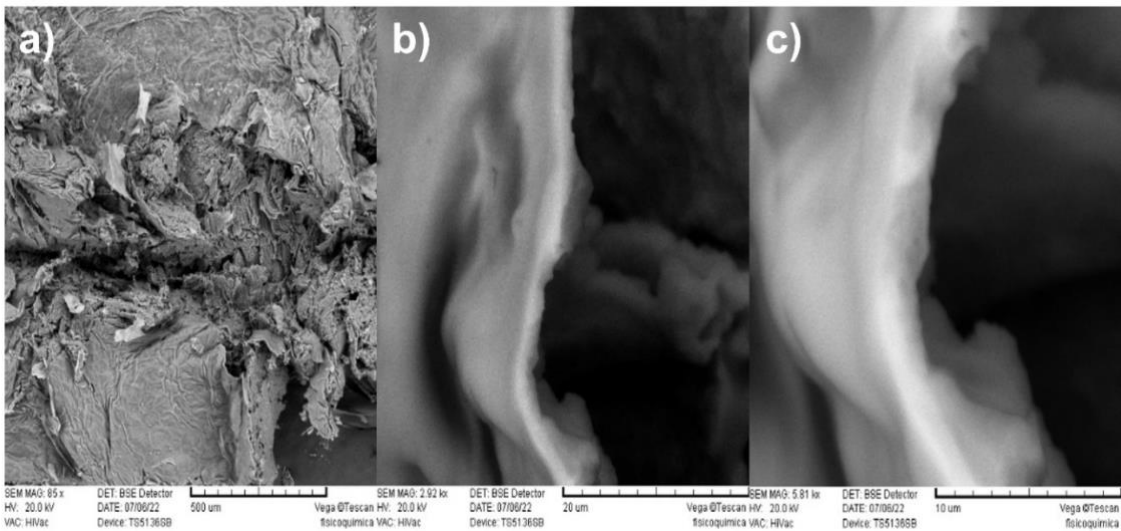


Imagen SEM del recubrimiento de quitosano y ZnO nanoestructurado obtenido durante 2 min de inmersión. Imágenes tomadas a aumentos de a)85x, b)2.92x, c)5.81x