



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

“INCREMENTO DE LA VIDA MEDIA DE
FRAMBUESAS (*RUBUS IDAEUS* L.) POR LA
APLICACIÓN DE UNA BIOPELÍCULA COMESTIBLE
OBTENIDA A PARTIR DEL HUESO DE
TAMARINDO (*TAMARINDUS INDICA* L.) Y SU
INTERACCIÓN CON PARÁMETROS DE CALIDAD
FISICOQUÍMICOS”

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:
KARINA ÁGUILA SÁNCHEZ

DIRECTORA:
DRA. FABIOLA AVELINO FLORES

CODIRECTORA:
MTRA. ANA LILIA SORIANO MORALES

NOVIEMBRE 2020



AGRADECIMIENTOS

El presente proyecto de tesis se realizó en el laboratorio de Patogenicidad microbiana del Instituto de Ciencias Microbiológicas (ICUAP), en conjunto con el laboratorio de química analítica del edificio EMA 6 de la BUAP.

A mi familia, por la educación brindada, por su motivación, cariño y apoyo incondicional, en especial a mis papás Jaime y Julieta que con su amor y ejemplo he podido llegar hasta este momento.

A mi directora de tesis D. C. Fabiola Avelino Flores, por la oportunidad de desarrollar y dirigirme en este proyecto de investigación, por su tiempo, por su calidez humana y compartir sus conocimientos de manera generosa.

A mi codirectora de tesis, M.C. Ana Lilia Soriano Morales, por su apoyo, enseñanzas y tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

A la D. C. Elsa Iracena Castañeda Roldán por sus enseñanzas, tiempo y apoyo.

A la M.C. Madai Gizeh Sánchez Arzubide por permitirme el uso del laboratorio de alimentos y equipos de la facultad de ingeniería química de la BUAP.

A la M.C. Lesset del Consuelo Ramos Ramírez por sus enseñanzas y tiempo invertido en el análisis estadístico de esta tesis.

A mis sinodales D. C. Fabiola Avelino Flores, D. C. Elsa Iracena Castañeda Roldán, D. C. María Del Carmen Guadalupe Avelino Flores, por su apoyo, sus valiosas sugerencias y tiempo invertido en la revisión de esta tesis.

A mis compañeros de laboratorio, por el apoyo y los buenos momentos.

A mis hermanos, Karla y Jaime, a mis amigas y amigos, por el apoyo moral y el acompañamiento.

ÍNDICE

1.	RESUMEN	1
2.	ANTECEDENTES GENERALES.....	2
2.1	Frambuesas: Características generales.....	2
2.2	Composición.....	3
2.3	Manejo de las frambuesas.....	4
2.4	Métodos para prolongar la vida de anaquel.....	4
2.5	<i>Mentha piperita</i>	6
2.6	<i>Tamarindus indica</i>	8
3.	ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	9
4.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
5.	JUSTIFICACIÓN.....	13
6.	HIPÓTESIS.....	14
7.	OBJETIVOS	14
7.1	Objetivo general.....	14
7.2	Objetivos específicos	14
8.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
8.1	Materiales.....	15
8.2	Métodos.....	15
8.2.1	Pruebas de caracterización para el extracto acuoso de semilla de tamarindo.....	17
8.2.1.1	Caracterización por Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier.	17
8.2.1.2	Determinación de presencia de ácido cianhídrico	17
8.2.1.3	Determinación de pH.....	18
8.2.1.4	Determinación de actividad de agua.	18
8.2.1.5	Determinación de humedad.....	18
8.2.1.6	Determinación de sólidos solubles.....	19
8.2.2	Obtención del aceite esencial de menta.....	19
8.2.3	Elaboración y aplicación de la biopelícula.....	20
8.2.3.1	Elaboración de la biopelícula.....	20
8.2.3.2	Aplicación de la biopelícula.....	20

8.2.4 Pruebas fisicoquímicas	21
8.2.4.1 Preparación de la muestra.....	21
8.2.4.2 Determinación de pH.....	21
8.2.4.3 Determinación de actividad de agua.....	22
8.2.4.4 Determinación de humedad.....	22
8.2.4.5 Determinación de sólidos solubles.....	22
8.2.4.6 Determinación de acidez titulable.....	22
8.2.4.7 Determinación de color.....	23
8.2.5 Análisis estadístico.....	23
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
9.1 Caracterización para el extracto acuoso de semilla de tamarindo.....	24
9.1.1 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR) del extracto acuoso obtenido de la semilla de tamarindo....	24
9.1.2 Determinación de la presencia de ácido cianhídrico en el extracto acuoso de semilla de tamarindo.....	26
9.1.3 Análisis fisicoquímicos del extracto acuoso de la semilla de tamarindo.....	28
9.2 Parámetros fisicoquímicos.....	31
9.2.1 Determinación de pH	31
9.2.2 Determinación de actividad de agua	33
9.2.3 Determinación de humedad.....	35
9.2.4 Determinación de sólidos solubles	37
9.2.5 Determinación de acidez titulable	39
9.2.6 Determinación de color.....	42
9.3 Análisis estadístico de resultados	45
10. CONCLUSIONES	48
11. PERSPECTIVAS	49
12. BIBLIOGRAFÍA.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Metodología general.....	16
Figura 2. Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier de mucílago de tamarindo secado por pulverización. (Fuente: Alpizar et al., 2017).	25
Figura 3. Espectro de absorción FTIR/Vertex 70 del extracto acuoso obtenido de la semilla de tamarindo (Fuente: Mendieta 2019).	25
Figura 4. Frambuesas con biopelícula en el día 9 de almacenamiento, con un tiempo de aplicación de 1 (A), 3 (B) y 5 (C) minutos respectivamente (Fuente: Autoría propia).....	30
Figura 5. Frambuesas después de haber sido tratadas con la biopelícula (A) y el control (B) (Fuente: Autoría propia).....	31
Figura 6. Comportamiento del pH de las frambuesas a lo largo de los días de almacenamiento, el cual muestra que no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los valores de pH del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).....	32
Figura 7. Comportamiento del parámetro actividad de agua (A_w) en las frambuesas a lo largo del tiempo de almacenamiento, el cual indica que sí existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de A_w del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).....	34
Figura 8. Comportamiento del porcentaje de humedad (contenido de agua) en las frambuesas a lo largo de los días de almacenamiento. Se muestra que sí hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los valores de humedad del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).	37
Figura 9. Comportamiento del contenido de sólidos solubles en las frambuesas a lo largo del tiempo de almacenamiento, el cual evidencia que no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre los valores de sólidos solubles del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).	39
Figura 10. Comportamiento del contenido de ácido cítrico presente en las frambuesas a lo largo de los días de almacenamiento, el cual indica que sí hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los valores de porcentaje de ácido cítrico del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).....	42
Figura 11. Efecto del uso de la biopelícula sobre el color (parámetro L^*) de las frambuesas frescas del grupo con tratamiento y del grupo control a través del tiempo de almacenamiento (Fuente: Autoría propia).....	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Componentes presentes en el aceite esencial de menta. (Fuente: Sustrikova & Salamon, 2004).....	7
Tabla 2. Análisis fisicoquímico del extracto acuoso de semilla de tamarindo. Fuente: Mendieta, 2019.....	29
Tabla 3. Formulación de la biopelícula aplicada a las frambuesas frescas (Fuente: Autoría propia).....	30
Tabla 4. Diferencia en la evolución de los parámetros de color de las frambuesas durante el almacenamiento (Fuente: Autoría propia).	44
Tabla 5. Matriz de correlación de Spearman de los parámetros fisicoquímicos evaluados (Fuente: Autoría propia).....	45

1. RESUMEN

De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, las bayas, son aquellas frutas jugosas, redondeadas, de colores vivos, dulces o agrias, a las que pertenecen las frambuesas.

La frambuesa presenta altas tasas de respiración (100 ml de CO₂/kg.h a 20°C) en comparación con otros frutos (Kader & Pelayo, 2007), lo cual aunado a su alto contenido de azúcares la vuelve una de las frutas más perecederas, con una vida poscosecha muy corta (3-5 días a temperatura ambiente) (Jin *et al.*, 2012).

Debido a esto, es importante investigar y desarrollar nuevas técnicas y tecnologías que permitan alargar la vida media de las frambuesas frescas de forma natural sin que se involucre un procesamiento industrial debido a que en la época actual, la sociedad opta por consumir alimentos mínimamente procesados.

Es por ello que surge la idea de investigar y desarrollar una biopelícula comestible a base de semilla de tamarindo a la que se le añade en su formulación aceite esencial de menta, en vista de que actualmente se ha retomado el uso de este para su aplicación en la industria de alimentos.

La biopelícula desarrollada en este trabajo se aplicó en frambuesas frescas, quienes fueron analizadas bajo parámetros de calidad fisicoquímica, tales como color, sólidos solubles, contenido de humedad, actividad de agua, contenido de ácido cítrico y pH. Dichas pruebas fueron realizadas al grupo tratado con la biopelícula y al grupo control. La aplicación de la biopelícula triplicó la vida media de las frambuesas, en comparación con el grupo control.

2. ANTECEDENTES GENERALES

2.1 Frambuesas: Características generales

De acuerdo con el *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*, las frambuesas (*Rubus idaeus* L.) comúnmente conocidas como bayas o berries, son aquellas frutas jugosas, redondeadas, de color rojo o amarillento, dulces o agrias que no tienen hueso, pero pueden presentar semillas además de que cada fruto tiene adherido un pelo de color amarillo oro. Sin embargo, biológicamente dichas frutas no pertenecen al grupo de las bayas, debido a que estas no provienen del ovario de una sola flor. A pesar de ello, se continúan nombrando de esta manera (SAGARPA, 2017).

El frambueso rojo tiene sus orígenes, en forma silvestre, en el monte Ida de la isla de Creta en Grecia, pero actualmente, su cultivo está muy extendido por todo el mundo y se produce prácticamente en todas las zonas frutícolas, tanto en el hemisferio norte como en el sur y, desde la costa hasta altitudes superiores a los 1000 msnm. En el hemisferio sur, el principal país productor es Chile, seguido de Argentina, África del Sur, Australia y Nueva Zelanda (Rubio, de Lena & Ara, 2014), sin embargo, en la última década, México se ha posicionado como un importante productor de frambuesas exportándolas principalmente a países como Estados Unidos, Canadá y Países Bajos, siendo el segundo abastecedor de berries a nivel mundial después de Chile (SAGARPA, 2017).

La frambuesa es un cultivo que se desarrolla favorablemente en regiones templadas, tropicales y subtropicales con invierno definido. Algunas de las características geográficas adecuadas para la producción son: altitud de 2000 a 3000 msnm, lluvia de 700 a 1,200 mm, temperaturas de 5 a 20°C y suelos ricos en materia orgánica con pH entre 4.2 y 5.2 (Funt & Hall, 2013).

La frambuesa presenta altas tasas de respiración (100 ml de CO₂/kg.h a 20°C) en comparación con otros frutos (Kader & Pelayo, 2007), lo cual aunado a su alto contenido de azúcares la vuelve una de las frutas más perecederas, con una vida poscosecha muy corta (3-5 días a temperatura ambiente) (Jin *et al.*, 2012).

Además pertenecen al grupo de los frutos no climatéricos y su producción de etileno es baja después de que son separadas del arbusto (Kader, 1992).

2.2 Composición

En general, el principal compuesto presente en el fruto es el agua (85-90%). Aproximadamente, contienen un 5,0% de carbohidratos, como la fructosa y glucosa, que constituyen el componente mayoritario de la fracción soluble. El ácido cítrico (1,72%) es el segundo componente de esta fracción. Son una fuente excelente de vitamina C y ricos en vitaminas A, E y K, así como en ácido fólico y diversos minerales como fósforo, calcio, magnesio, potasio, hierro y manganeso. La frambuesa se encuentra entre los alimentos bajos en sodio, ya que 100 g de este alimento solo contienen 1,0 mg (Rubio *et al.*, 2014).

Es baja en contenido calórico con un aporte de solo 52 kcal por cada 100 g. Presenta 6.5% de fibra dietaria, 1.20% de proteínas y 0.65% de lípidos totales, de los cuales el 97.8% corresponde a ácidos grasos insaturados (Strik *et al.*, 2007).

Las frutillas son una rica fuente de polifenoles, especialmente flavonoides (antocianinas, flavonoles y proantocianidinas) y elagitaninos (Häkkinen *et al.*, 1999; Skrovankova *et al.*, 2015).

2.3 Manejo de las frambuesas

Cuando son cosechadas, las frambuesas deben de ser manipuladas lo mínimamente posible y solamente las que no presenten daños deben ser colocadas en el empaque, la magnitud del daño causado por el cosechador puede ser tan grande como para enmascarar otras causas de deterioro. La fruta sobremadura o deteriorada debe ser cosechada y descartada debido a que puede ser susceptible al desarrollo de mohos (Kim & Harris, 2003).

Debido a su alta perecebilidad, el manejo poscosecha de la frambuesa debe ser sumamente cuidadoso para asegurar una óptima calidad de la fruta al momento de su consumo. Los objetivos del manejo poscosecha en frambuesa son disminuir la tasa de respiración y transpiración que resultan en pérdidas por daños y por la aparición de hongos (Jin *et al.*, 2012).

El rápido traslado al frío de la fruta es esencial durante las primeras horas después de la cosecha. Para bajar la tasa de respiración y evitar el deterioro, los productores deben tener facilidades para realizar un pre-enfriado con el fin de remover el calor del campo y posteriormente trasladar la fruta para el almacenamiento en frío. Por cada hora de retraso en el enfriado, la vida útil se reduce en un día (Joles *et al.*, 1994).

El cultivo de esta frutilla del bosque continua en ascenso, a pesar de las complicaciones poscosecha que presentan, por su alto nivel de perecebilidad (Funt & Hall, 2013).

2.4 Métodos para prolongar la vida de anaquel

Entre las tecnologías desarrolladas para el cuidado poscosecha de las frambuesas, destacan las atmósferas modificadas y controladas, donde se eliminan o añaden gases para crear una

composición atmosférica alrededor del producto que difiera de aquella del aire (78.08% de N₂, 20.95% de O₂ y 0.03% de CO₂.) Usualmente esto consiste en reducir la cantidad de oxígeno y/o la elevación de las concentraciones de dióxido de carbono (Kader & Pelayo, 2007). Un estudio realizado por Orozco (2019) demuestra que la exposición temprana de frambuesas a atmósferas controladas como método de empaque extiende la vida de anaquel en 3.4 días.

Se ha demostrado que el uso de atmosferas modificadas o controladas provocan un retraso en la senescencia junto con los correspondientes cambios bioquímicos y fisiológicos, lo que implica una disminución en la tasa de respiración y de producción de etileno, por lo que se reduce el ablandamiento y otros cambios composicionales de los frutos (Hwang *et al.*, 2012).

Además, esta tecnología puede reducir la severidad e incidencia de pudriciones, debido a que concentraciones elevadas de CO₂ (10-15%) inhiben significativamente el desarrollo de las pudriciones causadas por *Botrytis* (Goulart *et al.*, 1992), hongo que afecta negativamente a las frambuesas.

Sin embargo, las concentraciones mal aplicadas a los empaques pueden no ser toleradas por el producto dando lugar a un deterioro aún más rápido, así como también la generación de sabores y olores desagradables a concentraciones muy bajas de oxígeno y muy altas de CO₂ como resultado de la respiración anaeróbica y del metabolismo fermentativo (Siddiqui, 2016).

Por otro lado, también se han desarrollado empaques a base de compuestos naturales que permiten alargar la vida de anaquel de los frutos frescos sin alterar su composición original ni dañar sus propiedades físicas y nutricionales. Prueba de ello es el desarrollo de biopelículas/recubrimientos comestibles que prolongan su vida media mediante la reducción de la tasa de respiración de los frutos frescos.

Las biopelículas/recubrimientos comestibles son definidos como una delgada cubierta aplicada sobre los alimentos, elaborada de componentes comestibles para el ser humano. Su principal función es la de bloquear el paso de oxígeno, humedad, dióxido de carbono y controlar el movimiento de solutos, sin alterar sus ingredientes originales y mejorar su calidad. De esta manera se reduce la pérdida de agua y disminuyen las reacciones de oxidación y respiración. Dichas cubiertas son preparadas con productos naturales como polisacáridos, proteínas, lípidos (Hassan *et al.*, 2018; Rezaei & Shahbazi, 2018; Umaraw & Verma, 2017),

Estos nuevos empaques se pueden aplicar por diferentes métodos, como por spray, inmersión, cepillado o electro-spray, con el objetivo de proteger al alimento del crecimiento microbiano que deteriora el producto, prologando su vida media y mejorando otros aspectos de calidad como atributos sensoriales, apariencia y frescura. Además, a la formulación se le pueden adicionar antioxidantes, agentes antipardeamiento y colorantes. Compuestos especiales como glicerol, sorbitol etc., se adicionan a las formulaciones para mejorar la eficiencia de los recubrimientos comestibles además de que recientemente se les han adicionado aceites esenciales para mejorar las propiedades antimicrobianas (Hassan *et al.*, 2018).

2.5 *Mentha piperita*

Los extractos de hierbas y especias, así como los aceites esenciales han sido usados desde la antigüedad para diferentes propósitos y actualmente se han retomado para su aplicación en la industria de alimentos debido a que el uso irracional de compuestos químicos sobre alimentos puede causar algunas enfermedades en los humanos (Weerakkody *et al.*, 2010).

La menta es una planta que se encuentra alrededor del mundo y tiene un valor económico por su sabor, olor y propiedades antimicrobianas y terapéuticas en alimentos.

El aceite esencial de la menta así como extractos, presentan una alta actividad antimicrobiana debido a los componentes presentes en hojas y flores de la planta como alfa terpenos, isomentona, trans carveol, óxido de pipertitona y beta cariofileno (Tabla 1). El aceite de esta planta es uno de los aceites esenciales más populares y más utilizados especialmente por sus componentes principales como el mentol y la mentona (Tyler *et al.*, 1998).

Tabla 1. Componentes presentes en el aceite esencial de menta. (Fuente: Sustrikova & Salamon, 2004).

<i>Compuesto</i>	<i>Contenido</i>
<i>Mentol</i>	40-70%
<i>Mentona</i>	7-25%
<i>Mentofurano</i>	2.5-5%
<i>Mentilacetato</i>	3.5%
<i>Carvona</i>	3.5%
<i>Isomentona</i>	0.35%
<i>Linalool</i>	0.6%

Estudios previos han demostrado su efecto antiviral, antibacteriano y antifúngico, así como también su actividad antioxidante (Kzil *et al.*, 2010).

Los microorganismos frente a los cuales presenta actividad antimicrobiana dicho aceite esencial es *Salmonella typhimurium*,

Rhizobium leguminosarum (Sivropoulou et al., 1995) *Clostridium sporogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus Vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella pullorum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, and *Comamonas terrigena* y *Streptococcus mutans* (Deans & Svoboda, 1988).

2.6 *Tamarindus indica*

Como se mencionó anteriormente, las biopelículas y recubrimientos comestibles se realizan a base de compuestos naturales, que pueden ser de fácil acceso para quienes desarrollan las formulaciones, debido a que estos se pueden adquirir de los desechos de la industria alimentaria.

La pulpa de tamarindo al ser fuente de diversos compuestos de interés nutrimental y sensorial tiene un variado número de usos, entre los que destacan la preparación de conservas, bebidas azucaradas y confitería.

Dicha pulpa comprende casi la mitad del peso de la vaina del tamarindo y es fuente de vitaminas (ácido ascórbico, riboflavina, niacina), 100 g de fruto maduro contienen 115 cal, (30 a 40% de azúcares), 18 g de carbohidratos, 3% de proteína, 3 a 5% de fibra, además de importantes minerales como calcio, fósforo y hierro, con un contenido de humedad del 20%. La acidez de la pulpa se debe a la presencia del ácido tártrico cuya concentración es del 10 a 15%; además contiene ácido acético, cítrico, málico y succínico, así como pectina (Echeverría, 2006).

Las semillas del tamarindo presentan características que las hacen diferentes del resto de semillas de diversos frutos. Estas son ovaladas, estrechas lateralmente, lisas, con su envoltorio café oscuro,

de 1 centímetro aproximadamente de largo y carecen de endospermo como reserva nutritiva.

Las semillas germinan de 5 a 10 días después de la siembra, con una tasa de germinación que varía entre 30 y 70%. Su composición química comprende: 11.3 % de agua, 13.3 % proteína, 5.4 % grasa, 57.1 % carbohidratos, 4.1 % ceniza y 8.8 % corresponde a la fibra cruda. La proteína de la semilla es rica en ácido glutámico (18%), ácido aspártico (11.6 %), glicina (9.1 %) y leucina (8.2 %) sin embargo, presenta deficiencias en algunos aminoácidos como metionina, treonina, valina y cisteína, por lo que se le considera una proteína de baja calidad. Se considera que el contenido total de aminoácidos esenciales es de 33.6% (Echeverría, 2006).

Del mismo modo, la cubierta de la semilla tiene compuestos antioxidantes como el 2-hidroxi-3', 4' -dihidroxiacetofenona, metil 3,4-dihidroxibenzoato y 3,4-dihidroxifenil acetato, quienes podrían desempeñar un efecto protector en los alimentos (Silva & Lucatero, 2006).

En algunos países, como ocurre con Japón, se produce polvo de semilla de tamarindo donde se ha permitido el uso de dicho polvo en la industria de alimentos como agente gelificante, espesante o estabilizante (Nishinari *et al.*, 2000).

3. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Se han desarrollado recubrimientos activos cuya principal función es disminuir el índice de respiración y transpiración de las bayas. Cuando dichos recubrimientos son combinados con aceites esenciales, se observa mayor efecto para el control de microorganismos. Prueba de ellos es la formulación de un recubrimiento comestible realizada por

Trejo *et al.*, (2015), a base de mucílago de nopal, carboximetilcelulosa y extracto de eucalipto con el fin de controlar la podredumbre gris y alargar la vida útil de frambuesa.

Los recubrimientos a base de carboximetilcelulosa y mucílago de nopal al 0.5% se aplicaron a frambuesas para determinar el efecto en los parámetros de calidad, capacidad antioxidante y contenido de antocianinas. Los resultados sugieren que la aplicación de dichos recubrimientos son una alternativa para la conservación de frambuesa, ya que inhiben la incidencia de la enfermedad causada por el hongo *Botrytis cinerea*, sin alterar la composición y calidad del fruto, además afirman que la adición de aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm mejora este resultado.

Guerreiro *et al.*, (2016) realizaron un trabajo dedicado al estudio del efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles a base de alginato de sodio y pectina enriquecidos con aceites esenciales, donde probaron 4 diferentes formulaciones, variando la concentración de pectina, citral y eugenol. Se analizaron parámetros tales como color, firmeza, contenido de sólidos solubles, pérdida de peso, crecimiento microbiano, presencia de compuestos fenólicos, ácidos orgánicos y actividad antioxidante. Los resultados muestran que la aplicación de dichos recubrimientos comestibles no afectó los parámetros de calidad nutricionales.

La aplicación de recubrimientos comestibles a base de citral y eugenol no afectó significativamente las propiedades fisicoquímicas y nutricionales de las frambuesas, pero sí disminuyó la carga microbiana presente en la cubierta del fruto y por lo tanto aumentó su vida media. Aseguran que estos recubrimientos comestibles aplicados en frambuesas pueden ser utilizados como tratamientos naturales postcosecha, con el objetivo de disminuir la senescencia y mantener el fruto viable hasta por 15 días a 0.5°C.

Gomes *et al.*, (2017) desarrollaron un recubrimiento comestible a base de alginato adicionado con aceite esencial de cítricos, tales como limón, lima y naranja, con el objetivo de incrementar la vida media de las frambuesas previniendo el crecimiento de microorganismos. Se realizaron 9 formulaciones variando la cantidad, concentración y tipo de aceite esencial utilizado. Además, se determinaron parámetros de calidad fisicoquímica como: color, firmeza, pérdida de peso, contenido de sólidos solubles, así como contenido de compuestos fenólicos.

Los resultados muestran que la aplicación del recubrimiento comestible sobre las frambuesas no tiene un efecto significativo en la pérdida de firmeza, contenido de sólidos solubles, y nivel de brillo, comparados con el control, sin embargo, los recubrimientos adicionados con los aceites esenciales inhibieron el crecimiento microbiano, así como el desarrollo de hongos y levaduras a lo largo de 15 días de almacenamiento.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente uno de los problemas que enfrenta la industria de alimentos es la gran pérdida económica por el deterioro masivo de los mismos, sobre todo los que se consumen frescos o mínimamente procesados debido a que pierden fácilmente, y en periodos cortos de tiempo, sus atributos característicos como color, turgencia y sabor, los cuales una vez alterados, son rechazados por los consumidores. De acuerdo con la agencia EFE, anualmente se desperdician 715 millones de toneladas de frutas y verduras en todo el mundo. Contribuyen a éstas pérdidas las bayas que son frutos altamente perecederos, específicamente las frambuesas que tienen una vida media de 2 a 3 días después de su cosecha.

México, actualmente es el segundo abastecedor de bayas a nivel mundial después de Chile (SAGARPA, 2017). Se ha posicionado como el cuarto productor a nivel mundial de frambuesas con una producción total de 120,184 toneladas (SIAP, 2017), exportándolas principalmente a países como Estados Unidos, Canadá y Países Bajos. Ante la creciente demanda internacional de dichos frutos, es necesario promover el crecimiento de su producción y comercialización, sin embargo, uno de los obstáculos más importantes para lograr este objetivo son las altas pérdidas poscosecha que se generan debido a deterioro microbiano causado por *Botrytis cinerea* y al daño fisiológico del fruto que se traduce en ablandamiento y sangrado de este (Krüger *et al.*, 2011), lo que ha generado la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías y propuestas que mantengan en óptimas condiciones los frutos, tal como ocurre con las biopelículas.

Otro de los problemas que enfrenta la industria alimentaria es la cantidad excesiva de desechos generados a los que no se les da una utilidad y se convierten en basura, este es el caso del hueso de

tamarindo que se genera por la industria de dulces y confites y que en este proyecto se pretende darle uso.

5. JUSTIFICACIÓN

Con este proyecto se pretende contribuir a solucionar dos problemas importantes, uno es el desecho excesivo del hueso de tamarindo en la industria de la confitería y el otro es la pérdida económica debida al rápido deterioro de las frambuesas, como se explica a continuación.

Hoy en día, la industria de la confitería al aprovechar únicamente la pulpa del tamarindo por los diferentes compuestos de interés que presenta, se desechan grandes cantidades de la semilla de este fruto, convirtiéndose en un residuo importante al que se le debe prestar atención.

Es por ello que se pretende retomar este residuo para la obtención de una biopelícula comestible que recubra las frambuesas frescas y así disminuya su tasa de respiración, factor que es muy importante ya que dicho proceso está directamente relacionado con la madurez de la gran mayoría de los frutos frescos.

Debido a que México es un importante productor y exportador de frambuesas a nivel mundial, y al tratarse de frutos frágiles y altamente perecederos es necesario recurrir a tratamientos óptimos, adecuados y especializados para su comercialización (Panorama agroalimentario, 2016), porque de no ser así, únicamente tardarían de 3-4 días en descomponerse como resultado de sus procesos metabólicos, así como por la actividad microbiana proveniente de los microorganismos presentes en la superficie del fruto.

Esta investigación pretende ampliar la información disponible acerca de la aplicación de biopelículas para la conservación de diversos alimentos, así como impulsar aquellas que están

encaminadas a reducir el desperdicio de estos, además de retomar un desecho industrial del que hay pocos esfuerzos para su utilización.

6. HIPÓTESIS

La aplicación de la biopelícula comestible a base de semilla de tamarindo adicionada con aceite esencial de *Mentha piperita* prolongará la vida media de las frambuesas frescas, sin alterar sus propiedades fisicoquímicas.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Obtener un recubrimiento comestible a partir del hueso de tamarindo para aumentar la vida media de las frambuesas que no han recibido algún tratamiento previo para su conservación.

7.2 Objetivos específicos

- Obtener el extracto de la semilla de tamarindo evitando la pérdida de sus propiedades químicas.
- Obtener el aceite esencial de menta que será adicionado en la formulación de la biopelícula.
- Estandarizar el tiempo de contacto entre la biopelícula y la frambuesa, para su correcto comportamiento sobre el fruto.
- Evaluar el comportamiento de las frambuesas mediante parámetros fisicoquímicos.
- Comparar estadísticamente la vida media de las frambuesas con y sin la biopelícula.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Materiales

Las frambuesas fueron obtenidas de un productor local el mismo día de su cosecha, posteriormente se trasladaron al edificio multilaboratorios 6 de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, donde las frutas fueron seleccionadas en base a su apariencia y uniformidad, así como discriminadas aquellas que presentaran daños aparentes en el fruto, para continuar con su respectivo lavado, desinfección y aplicación de la biopelícula.

Carboximetilcelulosa, glicerol, aceite esencial de menta y el extracto acuoso del hueso de tamarindo fueron los compuestos necesarios para la elaboración de la biopelícula.

La menta utilizada para la obtención de aceite esencial fue adquirida del Jardín Etnobotánico Francisco Peláez Roldán Asociación Civil (Certificación SEMARNAT clave PUE-FLO-172-0405).

Se llevaron a cabo los análisis de las pruebas fisicoquímicas por triplicado, en cuatro tiempos diferentes para garantizar la confiabilidad de los resultados mostrados en este trabajo.

8.2 Métodos

En la figura 2 se muestra la metodología seguida para este trabajo de investigación.

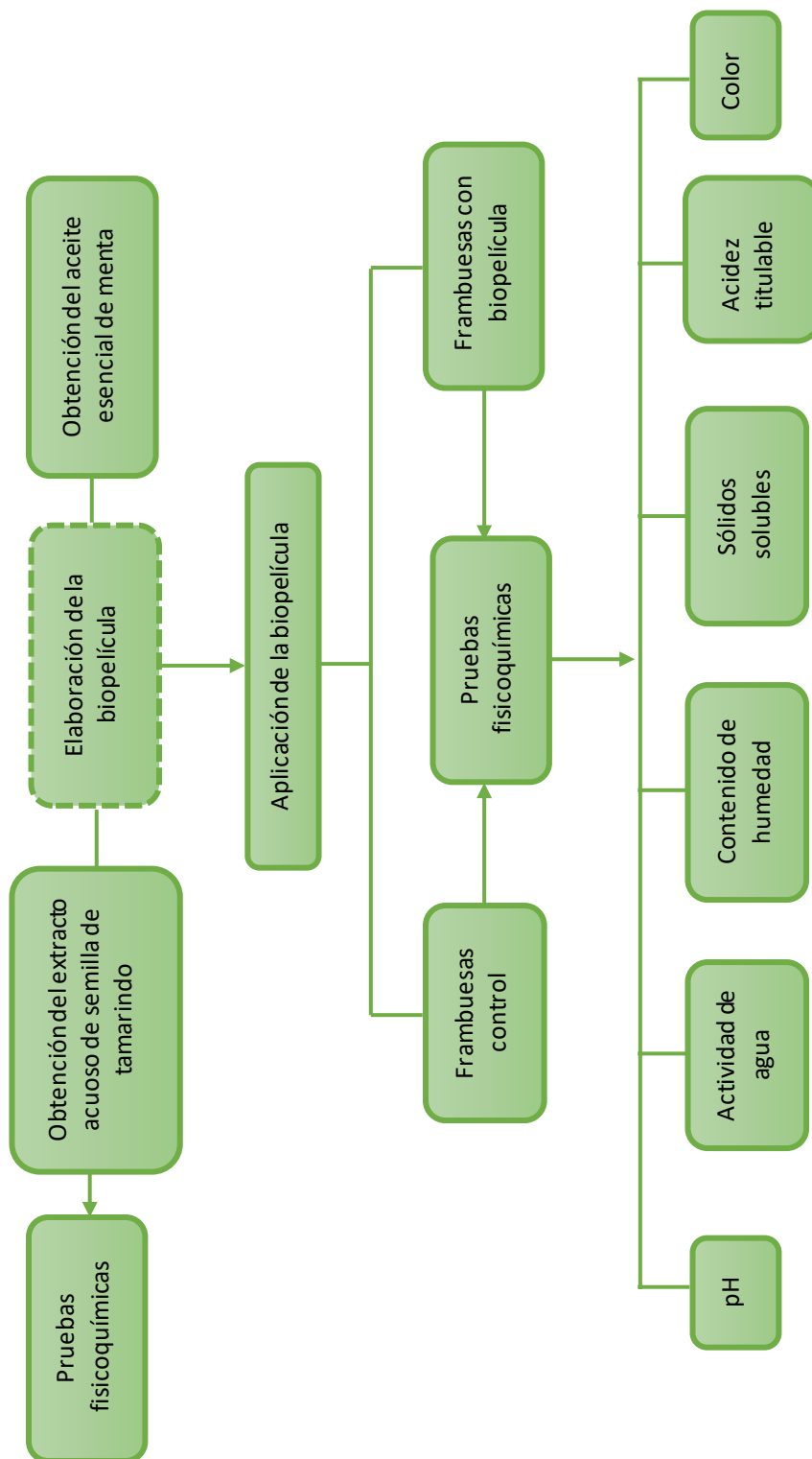


Figura 1. Metodología general.

Mendieta en 2019 caracterizó el extracto acuoso de la semilla de tamarindo utilizando Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier, determinó la presencia de ácido cianhídrico además de la evaluación de otros parámetros fisicoquímicos como: humedad, actividad de agua, sólidos solubles y pH. Dichos procedimientos y resultados fueron retomados para este trabajo de investigación que a continuación se muestran.

8.2.1 Pruebas de caracterización para el extracto acuoso de semilla de tamarindo

8.2.1.1 Caracterización por Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier.

La caracterización del extracto acuoso de la semilla de tamarindo se realizó por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), donde se colocó una porción del extracto acuoso de la semilla de tamarindo usado de forma directa en el pozo del espectro para que éste tomara la lectura correspondiente de los grupos funcionales presentes en el extracto. Del mismo modo se observó el comportamiento del agua para restar su interferencia.

8.2.1.2 Determinación de presencia de ácido cianhídrico

Para realizar las pruebas correspondientes a la caracterización del extracto acuoso del hueso de tamarindo, se obtuvo el extracto y considerando que es para uso alimenticio, se determinó la presencia de ácido cianhídrico (HCN), debido a que se trata de una semilla; se realizó la determinación cualitativa por el método de Grignard y la cuantificación por el método Denigés.

La determinación cualitativa del ácido cianhídrico en el extracto acuoso de la semilla de tamarindo se realizó mediante el método Grignard en el cual se utilizaron tiras de papel filtro cortadas con las siguientes medidas: 1 cm de ancho x 7 cm de largo. Éstas se humedecieron dentro de un matraz de 250 mL que contenía una solución de ácido pícrico al 1% y carbonato de sodio al 10%. Posteriormente estas tiras se colocaron dentro de las tapas de plástico

de los viales de vidrio de forma que no tuvieran contacto directo con el extracto que se encontraba almacenada en dichos frascos, se cerraron, y se dejaron reposar por un día en un lugar oscuro hasta observar un cambio de color que va de naranja a rojo oscuro.

Seguido de esto se realizó el método Denigés (método cuantitativo). Se tomaron 10 mL del extracto acuoso de semilla de tamarindo preparado anteriormente y se vaciaron en un matraz de 500 mL, se agregaron 10 mL de amoníaco concentrado y 1 mL de KI al 10%, enseguida se tituló con solución de nitrato de plata 0.01 N hasta que se observó turbidez permanente y se realizó el cálculo con la Fórmula 1 para conocer la cantidad de ácido cianhídrico que contenía el extracto acuoso de semilla de tamarindo.

8.2.1.3 Determinación de pH.

Esta prueba se realizó con lo fundamentado en la Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978. DETERMINACIÓN DE pH EN ALIMENTOS. DETERMINATION OF pH IN FOODS. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS. Se determinó el valor de pH del extracto acuoso de semilla de tamarindo, utilizando un potenciómetro PH-016 PH METER, la muestra se depositó en un tubo cónico de 50 mL marca Falcon, y se procedió a tomar las lecturas.

8.2.1.4 Determinación de actividad de agua.

Esta prueba se efectuó basándose en el apartado 978.18 A.O.A.C, se utilizó el equipo Aqualab series 3 TE, se depositó la muestra en la celda, la cual se colocó en el equipo y se esperaron las lecturas.

8.2.1.5 Determinación de humedad.

Esta prueba se realizó aplicando una modificación a la Norma Mexicana NMX-F-428-1982. ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (MÉTODO RÁPIDO DE LA TERMOBALANZA). FOODS. DETERMINATION OF MOISTURE (THERMOBALANCE RAPID

METHOD). NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS, dado que se empleó la termobalanza High-performance Moisture Analyzer (Witeg Labortechnik GmbH), se pesaron 5 g de muestra en la misma termobalanza, distribuyéndose cuidadosa y uniformemente en el platillo, se bajó la tapa de la balanza. La termobalanza utilizada tiene una alarma que se activa en cuanto se mantiene el peso constante durante 2 minutos y al terminar el análisis (de 25 minutos aprox.) se tomaron las lecturas.

8.2.1.6 Determinación de sólidos solubles.

La prueba se llevó a cabo basándose en la Norma Mexicana NMX-F-103-1982. ALIMENTOS. FRUTAS Y DERIVADOS. DETERMINACIÓN DE GRADOS BRIX. FOODS. FRUITS AND DERIVATIVES. DETERMINATION OF DEGREES BRIX. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS. Se determinaron los sólidos solubles contenidos en el extracto acuoso de semilla de tamarindo utilizando un refractómetro Pocket ATAGO, para el uso del equipo, primero se calibró a cero con agua destilada, se limpió con un pañuelo desechable suave, en seguida se colocó la muestra, y se obtuvieron las lecturas.

8.2.2 Obtención del aceite esencial de menta

Para la obtención del aceite esencial de menta se realizó una destilación por arrastre de vapor de agua. Primeramente, las plantas de menta fueron lavadas, secadas y trituradas para su posterior colocación en el equipo de destilación. Se recolectó el líquido saliente y se lavó con etanoato de etilo e hidróxido de sodio para lograr eliminar las micelas formadas en el lavado. Dicho proceso se realizó el mismo día de la recolecta, para evitar que el aceite esencial presente comenzara a degradarse.

El aceite obtenido se concentró en un rotavapor para finalmente almacenarlo a 4°C en un frasco ámbar.

8.2.3 Elaboración y aplicación de la biopelícula

8.2.3.1 Elaboración de la biopelícula

La biopelícula se preparó con base de los siguientes ingredientes: carboximetilcelulosa, glicerol, aceite esencial de *Mentha piperita*, agua y extracto acuoso de semilla de tamarindo. Se evaluó una misma formulación variando el tiempo de contacto entre la frambuesa y la biopelícula, con el fin de comparar los cambios visibles en los frutos a lo largo del almacenamiento. Los compuestos previamente mencionados se colocaron y mezclaron en un vaso de precipitado de 250 mL. La adición de la carboxil metil celulosa se realizó en baño maría a temperaturas entre 38-40°C para su correcta disolución. Posteriormente se dejó enfriar y se adicionó el aceite esencial de *Mentha piperita*.

Se esterilizó la biopelícula en UV por 15 minutos y se mantuvo en la campana de flujo laminar tipo II, así como todos los utensilios a utilizar.

8.2.3.2 Aplicación de la biopelícula

Se seleccionaron las frambuesas que no presentaban daños físicos visibles ni daños por deterioro microbiológico, tales como pudrición. Posteriormente se les hicieron 3 lavados con agua de la llave, seguido de un lavado con agua para bebé con el objetivo de eliminar la presencia de contaminantes físicos. Se desinfectaron con un producto a base de plata coloidal (*Microdyn*) según las especificaciones del proveedor y se escurrieron en una bandeja de plástico. La aplicación de la biopelícula sobre las frambuesas fue por el método de inmersión durante 3 minutos. Dicho tiempo de aplicación fue definido como resultado de una serie de ensayos previos, donde se varió el tiempo de contacto entre la biopelícula y la frambuesa, esto fue con 2, 3 y 5 minutos. En base a la apariencia durante el tiempo de almacenamiento de los frutos tratados, se determinó que la inmersión se ejecutara 3 minutos en cada fruto.

Finalmente se esperó a que se secaran los frutos para su posterior colocación en charolas de plástico y almacenamiento a 4°C. Todo el procedimiento se llevó a cabo bajo condiciones estériles en la campana de flujo laminar tipo II.

Se dejó un lote sin tratar como control, donde únicamente las frambuesas fueron seleccionadas, lavadas, desinfectadas y almacenadas a 4°C.

8.2.4 Pruebas fisicoquímicas

Para llevar a cabo las pruebas fisicoquímicas primero se realizó una evaluación visual en condiciones de almacenamiento del grupo tratado con la biopelícula y del grupo control, para determinar los días en los cuales se harían los análisis correspondientes. En base al comportamiento mostrado por los dos grupos estudiados, se optó por realizar las pruebas fisicoquímicas cada tercer día a lo largo de 10 días de almacenamiento para las frambuesas con biopelícula, mientras que únicamente 3 días para las frambuesas control debido a que éstas habían perdido aquellas características deseables para el consumidor, como firmeza, color y turgencia. Las determinaciones fisicoquímicas realizadas a los dos grupos fueron: pH, actividad de agua (Aw), contenido de humedad, sólidos solubles expresados en grados Bx, acidez titulable, y color.

8.2.4.1 Preparación de la muestra

La preparación de las muestras para cada una de las pruebas varió según el tipo de prueba realizada, por lo que se especifica en los apartados posteriores.

8.2.4.2 Determinación de pH.

Esta prueba se llevó a cabo basándose en la Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978. DETERMINACIÓN DE pH EN ALIMENTOS. DETERMINATION OF pH IN FOODS. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS, tal como se describe en el apartado 8.2.1.6 del presente documento.

8.2.4.3 Determinación de actividad de agua.

Esta prueba se realizó basándose en el apartado 978.18 A.O.A, se utilizó el equipo para medir actividad de agua Hygropalm HP23-AW-SET-14. Para obtener los valores requeridos, se colocó el fruto sobre el detector de la actividad de agua y se tomaron las debidas lecturas.

8.2.4.4 Determinación de humedad.

Esta prueba se llevó a cabo aplicando una modificación a la Norma Mexicana NMX-F-428-1982. ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (MÉTODO RÁPIDO DE LA TERMOBALANZA). FOODS. DETERMINATION OF MOISTURE (THERMOBALANCE RAPID METHOD). NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS, debido a que se empleó la termobalanza High-performance Moisture Analyzer (Witeg Labortechnik GmbH); se pesó 1 g de la muestra, previamente triturada, en el platillo de la balanza, se distribuyó cuidadosa y uniformemente en el platillo y se bajó la tapa de la balanza. La termobalanza utilizada tiene una alarma que se activa en cuanto se mantiene el peso constante durante 2 minutos y al terminar el análisis (de 40-50 min) se tomaron las lecturas.

8.2.4.5 Determinación de sólidos solubles.

La prueba se llevó a cabo basándose en la Norma Mexicana NMX-F-103-1982. ALIMENTOS. FRUTAS Y DERIVADOS. DETERMINACIÓN DE GRADOS BRIX. FOODS. FRUITS AND DERIVATIVES. DETERMINATION OF DEGREES BRIX. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS. Se utilizó el refractómetro Pocket ATAGO para la determinación de sólidos solubles el cual se calibró a cero con agua destilada antes de hacer cada medición. Se colocó una pequeña porción de una frambuesa molida sobre el sensor del refractómetro. Se cubrió con una superficie sólida y se registraron las lecturas.

8.2.4.6 Determinación de acidez titulable.

Esta prueba se realizó según lo establecido en la Norma Mexicana NMX-FF-011-1982. PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS, PARA USO HUMANO. FRUTA FRESCA. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE. MÉTODO DE TITULACIÓN. NON INDUSTRIALIZED FOOD PRODUCTS FOR HUMAN USE. FRESH FRUIT. DETERMINATION OF TITRABLE ACIDITY. TITRATION METHOD. NORMAS MEXICANAS. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS. Se colocaron cantidades iguales de la muestra triturada y diluida en 3 matraces Erlenmeyer, se adicionaron 3 gotas del indicador fenolftaleína y con ayuda de una bureta automática se adicionó gota a gota el titulante (NaOH 0.1N), hasta obtener un color rosado que permaneciera constante 30 segundos y se anotó el volumen de la solución de NaOH gastado. El contenido de ácido cítrico en porcentaje se calculó con la fórmula 2.

8.2.4.7 Determinación de color.

La medición del color de las frambuesas fue realizada en 3 puntos del fruto por un colorímetro, usando la escala HunterLab (L^*, a^*, b^*).

Antes de hacer las respectivas lecturas, el equipo se calibró con una placa de estandarización blanca y negra como lo sugería el manual. Para hacer estas mediciones se colocó la fruta entera en el sistema de luz y se cubrió con una tapadera de fondo oscuro; se registraron los valores.

8.2.5 Análisis estadístico

Se realizó una prueba estadística t-student para establecer si existía diferencia significativa entre las medias de los grupos con tratamiento y el control, para cada una de las pruebas fisicoquímicas (pH, actividad de agua, contenido de humedad, sólidos solubles y acidez titulable) realizadas. Los análisis se realizaron utilizando el programa estadístico Minitab 18.1 a un nivel de significancia de 0.05 con un 95% de confiabilidad.

Para saber si había algún tipo de dependencia entre los parámetros fisicoquímicos evaluados en las frambuesas con tratamiento y las frambuesas control, se realizó una matriz de correlación utilizando el programa estadístico Minitab 18.1 a un nivel de significancia de 0.05 con un 95% de confiabilidad.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Caracterización para el extracto acuoso de semilla de tamarindo

9.1.1 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR) del extracto acuoso obtenido de la semilla de tamarindo

Los resultados obtenidos por Mendieta 2019 del espectro de absorción FTIR son similares con los reportados por Alpizar *et al.*, 2017 (figura 2), quienes realizaron un estudio de las propiedades funcionales y características fisicoquímicas del mucílago de semilla de tamarindo (*Tamarindus indica* L.), obteniendo un espectro del mucilago de tamarindo secado por pulverización, es por ello que se utilizó el espectro que dichos autores obtuvieron como referencia para este trabajo.

En la figura 3 se muestra el espectro del equipo FTIR/Vertex 70 del extracto acuoso obtenido de la semilla de tamarindo, en donde se observa la parte del xiloglicano, la parte proteica y la parte lipídica.

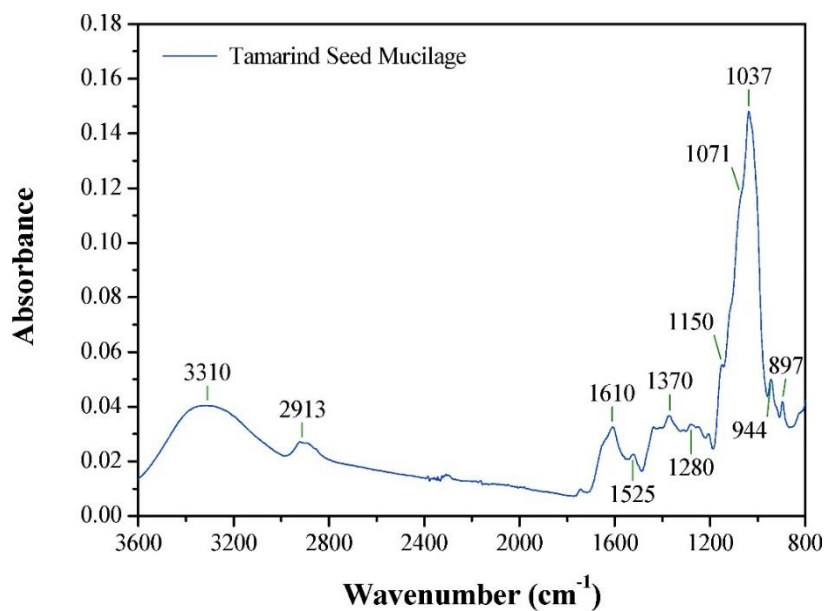


Figura 2. Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier de mucílago de tamarindo secado por pulverización. (Fuente: Alpizar *et al.*, 2017).

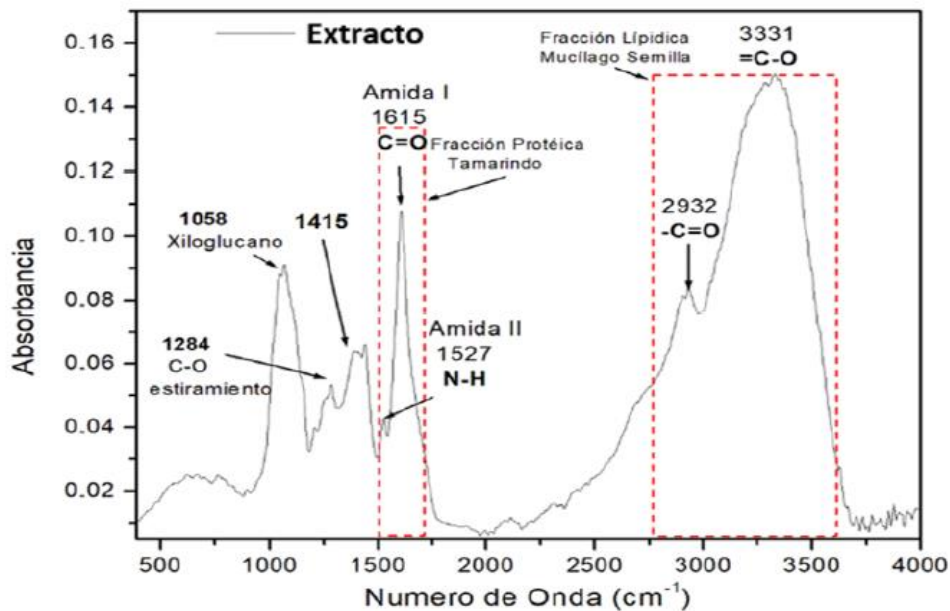


Figura 3. Espectro de absorción FTIR/Vertex 70 del extracto acuoso obtenido de la semilla de tamarindo (Fuente: Mendieta 2019).

Mediante el espectro de absorción FTIR del extracto acuoso de la semilla de tamarindo, se detectaron los enlaces =C-O y -C=O debido a que se observaron señales a los 3331 y 2932 cm^{-1} , las cuales forman parte de la fracción lipídica. Otro de los compuestos que se puso de manifiesto al analizar el extracto son las proteínas a través de las señales pertenecientes a las amidas I y II. La señal a 1615 cm^{-1} corresponde a la amida I y al grupo C=O . Por otro lado, la amida II asociada al grupo N-H se encuentra a 1527 cm^{-1} . Los estiramientos del enlace C-O emitieron la señal a 1284 cm^{-1} y los estiramientos C-C , C-N , C-O emitieron la señal a 1058 cm^{-1} , los cuales pueden ser atribuidos al xiloglucano, el cual emite señales con picos en 1370, 1150, 1037, 1071, 944 y 987 cm^{-1} (Alpizar et al., 2017). El extracto acuoso de la semilla de tamarindo mostró señales similares a las reportadas por Alpizar *et al.*, (2017) quienes analizaron un mucílago obtenido de la semilla de tamarindo y obtuvieron una señal a 310 cm^{-1} que indica la presencia del enlace =C-O correspondiente a la fracción lipídica. Además, detectaron la amida tipo I y tipo II mediante señales a 1610 cm^{-1} y 1525 cm^{-1} , respectivamente, esta última asociada al grupo N-H .

En el extracto acuoso de la semilla de tamarindo se detectó una señal a 1415 cm^{-1} que se puede asociar a grupos carboxilo (Saeid *et al.*, 2017).

9.1.2 Determinación de la presencia de ácido cianhídrico en el extracto acuoso de semilla de tamarindo

Coloquialmente, se llama cianuro al cianuro de hidrógeno o ácido cianhídrico (HCN) y a sus sales, cianuro de sodio o de potasio, y no solo al compuesto raíz cianuro, $\text{-C}\equiv\text{N}$, que da origen a la denominación (Ramírez, 2010).

El cianuro es uno de los compuestos químicos más venenosos, que afecta a los organismos vivos y al medio ambiente (Hou *et al.*, 2019). Se le encuentra en forma natural como componente orgánico

en algunas plantas o semillas de frutas -glucósidos cianogénicos- y también es producido por ciertas bacterias, hongos y algas. Por lo demás, en microcantidades el cianuro es un compuesto indispensable en la dieta humana. El sistema nervioso central (SNC) es su órgano blanco primario, pero también la tiroides y el riñón. En animales, se ha demostrado que puede producir fetotoxicidad y efectos teratógenos, como encefalocele, exencefalia y anormalidades en el desarrollo de los arcos costales (Ramírez, 2010). Debido a la inadecuada manipulación de las semillas que contienen el cianuro, este se convierte en un compuesto potencialmente tóxico que debe ser determinado para evitar complicaciones en el momento de su consumo.

El cianuro en cantidad de trazas está ampliamente distribuido en las plantas, en donde se encuentra principalmente en forma de glucósido, ya que al parecer más que metabolito secundario como en un principio se creía, son productos intermediarios en la biosíntesis de algunos aminoácidos. Sin embargo, hay algunas plantas que pueden acumular una alta concentración de este tipo de compuestos (Conn, 1969; Eyjolfsson, 1970). Cuando se daña el material biológico que contiene al cianuro, se pueden liberar pequeñas cantidades de éste, viéndose comprometida la salud del consumidor. Dicho compuesto puede ingresar al cuerpo humano por diversas vías: al respirar aire, ingerir alimentos o consumir bebidas que lo contengan. Una vez en nuestros pulmones o estómago, el cianuro ingresa rápidamente a la sangre, en donde, si las cantidades son mínimas, puede ser expulsado en la orina dentro de las primeras 24 horas después de la exposición (Gerberding, 2006)

En cuanto a la determinación de ácido cianhídrico de forma cuantitativa se obtuvo que el valor promedio de las titulaciones de la muestra (10 mL) del extracto acuoso de tamarindo con el agente titulante fue de 0.2 mL, dicho valor se sustituyó en la fórmula 1 para determinar la cantidad de ácido cianhídrico presente en las muestras. Este mismo procedimiento se realizó para las muestras de 10 y 4 mL

de extracto acuoso de semilla de tamarindo, obteniéndose valores de 0.108 y 0.0432 mg de ácido cianhídrico, respectivamente. Finalmente se realizó el cálculo para 1 kg de biopelícula, obteniendo un valor de 0.216 mg/kg (Mendieta, 2019).

$$\text{Fórmula 1. } (1\text{ mL de AgNO}_3) = 5.410^{-4}\text{ g HCN} = 0.54\text{ mg de HCN}$$

Debido a que no existen normas en las que se señale el límite máximo permitido de ácido cianhídrico para las semillas de tamarindo se tomó como referencia el ACUERDO POR EL QUE SE DETERMINAN LOS ADITIVOS Y COADYUVANTES EN ALIMENTOS, BEBIDAS Y SUPLEMENTOS ALIMENTICIOS, SU USO Y DISPOSICIONES SANITARIAS, publicado en el Diario Oficial de La Federación el Lunes 16 de Julio de 2012, el cual señala que el límite máximo permitido es de 50 mg/kg en turrón, nougat, mazapán y productos similares elaborados con semillas (Diario Oficial de la Federación, 2012).

Los resultados obtenidos en este estudio respecto a la determinación de ácido cianhídrico fueron de 0.216 mg/kg, valor que se encuentra muy por debajo del límite permisible de acuerdo con la referencia anterior, lo que muestra que el extracto acuoso de semilla de tamarindo, aplicado en la biopelícula, es apto para el consumo humano.

9.1.3 Análisis fisicoquímicos del extracto acuoso de la semilla de tamarindo

En la tabla 2 se muestran las medias aritméticas de los resultados de los análisis fisicoquímicos del extracto acuoso de la semilla de tamarindo.

Tabla 2. Análisis fisicoquímico del extracto acuoso de semilla de tamarindo.
Fuente: Mendieta, 2019.

Determinación de pH (Desviación estándar)	Actividad de agua (Desviación estándar)	Determinación de humedad (Desviación estándar)	Sólidos solubles (Desviación estándar)
5.47 ± 0.017	0.963 ± 0.001	86.93 ± 0.02%	3.25 ± 0.129 °Bx.

Se eligió una sola formulación de la biopelícula (tabla 3) y se variaron los tiempos de inmersión por 2, 3 o 5 minutos. En base a las observaciones obtenidas para cada variación de tiempo, se determinó que no hubo cambios drásticos en el estado físico de los frutos a lo largo de su almacenamiento (figura 4). Los frutos recubiertos mostraron un comportamiento similar cuando la inmersión fue de 2, 3 y 5 minutos, por lo que se eligió el tiempo de 3 minutos para aplicar la biopelícula para los ensayos posteriores.

La figura 5 muestra la comparación en el aspecto entre la frambuesa tratada con la biopelícula (A) y el control (B). Se observa que la frambuesa recubierta con la biopelícula presenta mayor luminosidad, turgencia y ausencia visible de hongos, mientras que la frambuesa control presenta menor volumen, turgencia y rigidez al contacto.

Tabla 3. Formulación de la biopelícula aplicada a las frambuesas frescas (Fuente: Autoría propia).

	EAST (g)	CMC (g)	Glicerol (g)	AEMp (μ L)	Agua
Única formulación	4	2	16	30	178

Nota: EAST Extracto acuoso de la semilla de tamarindo
 CMC Carboxil-Metil-Celulosa
 AEMp Aceite esencial de *Mentha piperita*

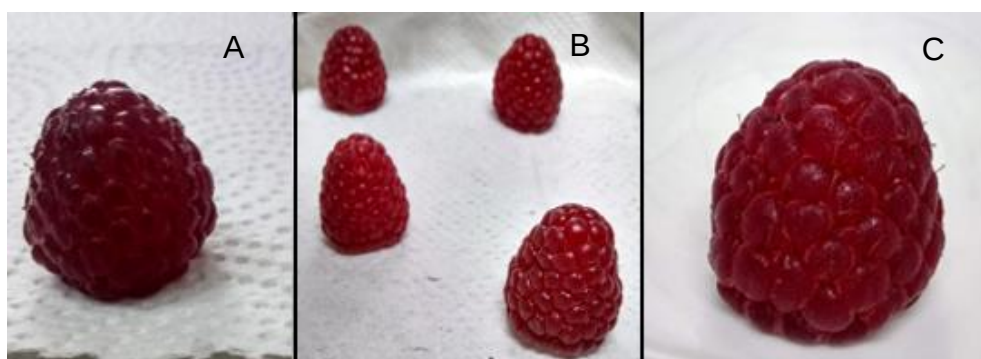


Figura 4. Frambuesas con biopelícula en el día 9 de almacenamiento, con un tiempo de aplicación de 1 (A), 3 (B) y 5 (C) minutos respectivamente (Fuente: Autoría propia).



Figura 5. Frambuesas después de haber sido tratadas con la biopelícula (A) y el control (B) (Fuente: Autoría propia).

9.2 Parámetros fisicoquímicos

Se realizaron pruebas de calidad fisicoquímica a las frambuesas que se les aplicó el tratamiento de la biopelícula por 3 minutos, así como al grupo control, con el objetivo de comparar los cambios fisicoquímicos que sufrían los frutos a lo largo del tiempo de almacenamiento.

La evaluación de parámetros fisicoquímicos mostró los cambios desarrollados en las frambuesas tratadas con la biopelícula frente a aquellas que no recibieron el tratamiento.

9.2.1 Determinación de pH

El valor de pH de un alimento es una función directa de los iones de hidrógeno libres presentes en ese alimento. Los ácidos presentes en los alimentos liberan estos iones de hidrógeno, que le dan a los alimentos ácidos su sabor ácido distintivo. Por lo tanto, el pH puede definirse como una medida de acidez libre (McGlynn, 2012).

Para la determinación de esta prueba se siguió con lo establecido en la Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978. Los resultados de esta prueba (figura 6) muestran que existieron ligeras

variaciones en los valores de pH obtenidos. Para el día 3 se registró un valor de 3, mientras que para el día 5, 8 y 10, los valores fueron 2.9, 3.1 y 2.8, respectivamente. En el caso del grupo control, se presentó un valor similar al obtenido el día 3 y 5 del grupo con tratamiento; 2.9

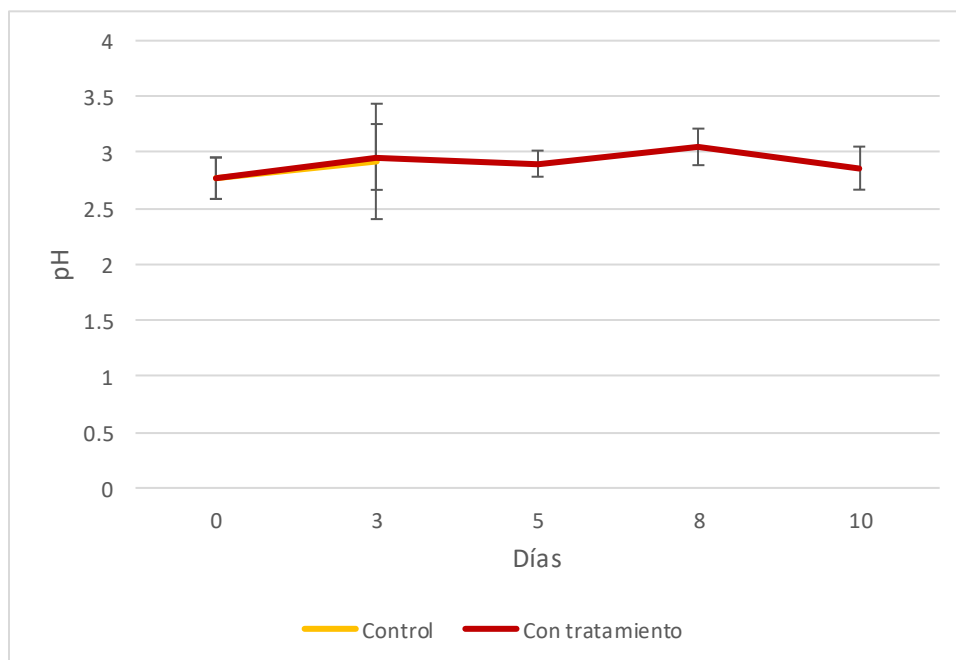


Figura 6. Comportamiento del pH de las frambuesas a lo largo de los días de almacenamiento, el cual muestra que no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los valores de pH del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).

De acuerdo a la prueba estadística t-student realizada, se determinó que no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los valores de pH del grupo tratado con la biopelícula y el control, lo que se traduce en que no hubo variaciones en la acidez de las frambuesas recubiertas con la biopelícula a lo largo del tiempo de almacenamiento. Comportamiento similar fue el obtenido por Han, C. *et al.*, (2004) quienes al diseñar un recubrimiento comestible a base de quitosano y al aplicarlo sobre frambuesas frescas obtuvieron un

retraso en cambios de diversas variables fisicoquímicas, entre ellas el pH durante el almacenamiento en frío.

Del mismo modo, Duan, J. *et al.*, (2011) confirmaron que la aplicación de un recubrimiento comestible aplicado en arándanos no afectó significativamente el comportamiento de dicho parámetro durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración, ni a temperatura ambiente.

9.2.2 Determinación de actividad de agua

La actividad de agua puede ser considerada como una medida indirecta del agua que está disponible en un producto para participar en diferentes reacciones deteriorativas y en el crecimiento microbiano (Suzanne 2003).

Para su desarrollo, los microorganismos necesitan condiciones adecuadas de pH, de nutrimentos, de oxígeno, de presión, de temperatura y de actividad del agua. Los que más agua requieren son las bacterias (>0.91), después las levaduras (>0.88), y luego los hongos (>0.80) (Badui, 2006).

En la figura 7, se muestran los resultados obtenidos para esta prueba, así como sus correspondientes desviaciones estándar.

Para el grupo control se registraron valores por debajo de 0.8, cifra que favorece el desarrollo de hongos (Badui, 2006), lo que confirma que para el día 3 las frambuesas ya presentaban crecimiento de dichos organismos deteriorativos.

Se observa que los valores de actividad de agua del grupo tratado con la biopelícula, no presentaron variaciones importantes a lo largo de los 10 días de almacenamiento, además de que es notoria la diferencia cualitativa que se presentó entre el grupo control y el del tratamiento.

Se registró un valor de 0.9 el día 5 de almacenamiento de las frambuesas tratadas con la biopelícula, siendo este el valor más bajo.

El valor más elevado es el correspondiente al día 10, con un registro de 0.96.

De acuerdo al análisis estadístico realizado, se determinó que sí existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de los dos grupos estudiados; el tratado con la biopelícula y el control. Lo anterior se traduce en que los valores de actividad de agua se mantuvieron casi constantes en el grupo tratado con la biopelícula en comparación con los del grupo control que presentaron disminución (figura 8).

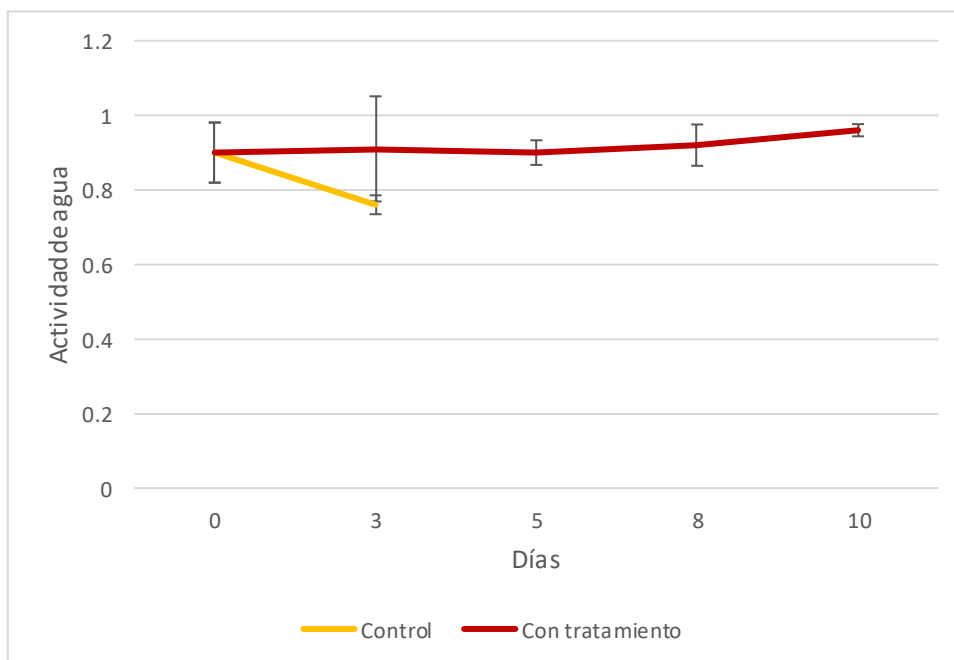


Figura 7. Comportamiento del parámetro actividad de agua (A_w) en las frambuesas a lo largo del tiempo de almacenamiento, el cual indica que sí existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de A_w del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).

Los valores de A_w observados en este trabajo oscilan en el rango de 0.9-0.96, resultado similar al encontrado por Muñoz (2012), quien reporta un valor de 0.92 de A_w en frambuesas frescas, por lo que se puede decir que la aplicación de la biopelícula favoreció a que no se alterara esta propiedad fisicoquímica del fruto y mantuviera su frescura por un tiempo más prolongado.

9.2.3 Determinación de humedad

Por cuestiones de normatividad se manejará indistintamente el término contenido de agua y humedad, debido a que el equipo empleado para hacer dicha valoración fue una termobalanza, que se emplea para determinar la cantidad de agua contenida en cierto producto.

La humedad es un factor importante en la calidad de los alimentos, su forma de conservación y su resistencia al deterioro (Suzanne, 2003).

En la literatura se emplea tanto el término contenido de humedad como contenido de agua para referirse a la cantidad de agua presente en un alimento (Karmas, 1980).

El agua además de ser una sustancia considerablemente abundante en la naturaleza es un componente mayoritario en la mayoría de los alimentos donde contribuye en forma determinante a características como textura, apariencia, sabor, etc. Igualmente, el agua es un factor importante en el deterioro de alimentos por el papel que desempeña en diferentes reacciones químicas y enzimáticas, así como en el desarrollo microbiano (Fennema, 1985).

Desde la antigüedad se ha reconocido que los alimentos con mayor contenido de humedad son los más perecederos, de tal manera que el control del contenido de humedad de un producto ha sido una herramienta para su conservación (Labuza, 1980).

En este trabajo de investigación, la determinación de contenido de humedad se realizó bajo lo fundamentado en la Norma Mexicana NMX-F-428-1982. La figura 8 muestra las medias aritméticas y las desviaciones estándar obtenidas a lo largo de los 10 días de análisis para las frambuesas con biopelícula, y los 3 días de análisis para los frutos control. Se observó a través de los días de almacenamiento un decremento y aumento paulatino en el porcentaje de humedad. Se registró un valor inicial de 86.95% para ambos grupos, sin embargo, para el día 3 del grupo control el valor disminuyó a 84.57%, mientras que para los frutos con tratamiento disminuyó a 83.77% para el día 5, y recuperándose nuevamente para el día 10, con un valor de 84.15%.

En base a la prueba estadística t-student se concluyó que sí existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de porcentaje de humedad obtenidos para el grupo con tratamiento y el grupo control. Lo descrito previamente se traduce en que no hubo una pérdida de agua importante que afectara la firmeza y apariencia de las frambuesas, en comparación con las frambuesas control, por lo que se afirma que el comportamiento de los frutos tratados con la biopelícula fue favorable, debido a que esta funcionó como una barrera ante la pérdida de agua a causa de la transpiración de los frutos. Esto se sustenta con lo reportado por *Han et al.*, (2004), quienes elaboraron un recubrimiento comestible a base de quitosano que al aplicarlo sobre fresas y frambuesas frescas obtuvieron que el recubrimiento diseñado desempeña una importante función como barrera contra la humedad y por lo tanto se reduce la pérdida de peso de los frutos estudiados. Citado artículo relaciona la pérdida de humedad con la pérdida de peso, debido a que la pérdida de agua aunado al proceso de transpiración son los principales responsables de la pérdida de peso de las frutas.

Del mismo modo, estos resultados concuerdan con lo reportado por Rubio *et al.*, (2014), quienes afirman que el agua al ser el principal compuesto de las frambuesas, representa entre el 85-90% del fruto, por lo que se puede concluir que la aplicación de la biopelícula no

alteró el contenido del biocomponente mayoritario de la frambuesa; el agua.

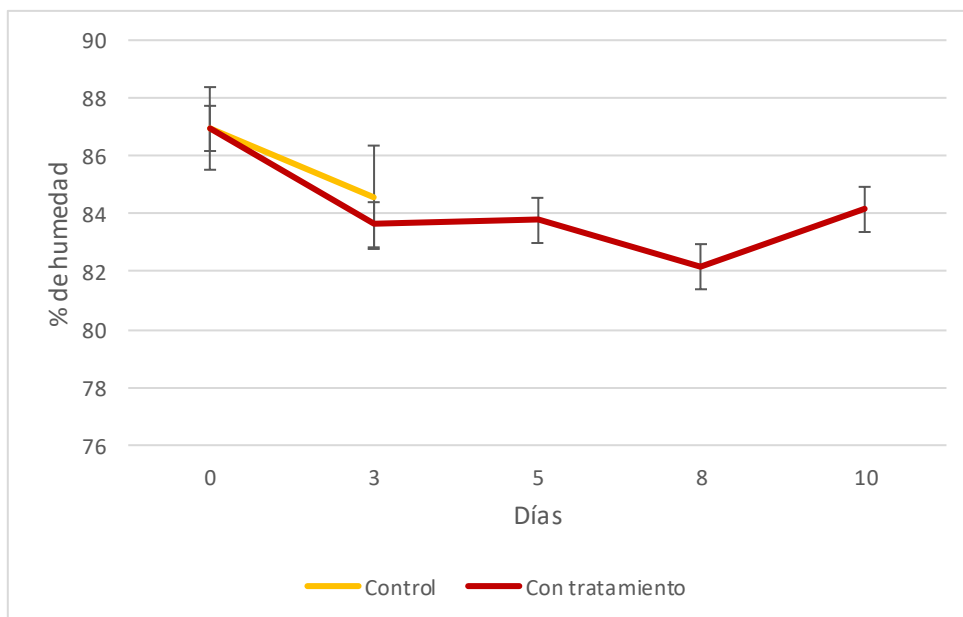


Figura 8. Comportamiento del porcentaje de humedad (contenido de agua) en las frambuesas a lo largo de los días de almacenamiento. Se muestra que sí hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los valores de humedad del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).

9.2.4 Determinación de sólidos solubles

Uno de los aspectos que refleja el grado de madurez de los frutos es el comportamiento de los sólidos solubles totales (SST) o grados Brix. El contenido de SST está constituido por 80-95% de azúcares y la medida de SST se encuentra asociada con los azúcares disueltos en el jugo celular (Osterloh *et al.*, 1996).

Durante la maduración y senescencia de los frutos se producen ligeros aumentos y disminuciones, respectivamente, ya que el almidón

y los ácidos orgánicos en la fruta se convierten en azúcares para procesos metabólicos (Duan *et al.*, 2011).

La concentración de sólidos solubles presente en las frambuesas fue determinada mediante un análisis por refracción, siguiendo la metodología establecida en la Norma Mexicana NMX-F-103-1982. En la figura 9 se muestran los valores con sus respectivas desviaciones estándar obtenidos de dicho análisis. Para el día 3 de almacenamiento se registró un valor de 10.54, el cuál aumentó hasta llegar a un valor de 13.1 para el día 8, sin embargo, pasado este tiempo, el valor de grados brix presentó una disminución, registrándose un valor de 11.78 para el día 10. De acuerdo con análisis estadístico realizado, se determinó que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los valores de los dos grupos analizados; el control y el tratado con la biopelícula, es decir, el contenido de sólidos solubles en los dos grupos estudiados tiende a ser similar, debido a sus procesos de maduración naturales.

Lo anterior puede ser explicado teniendo en cuenta que algunos solutos se depositan en las vacuolas de las células vegetales y a medida que avanza el proceso de maduración en el fruto, estos solutos son convertidos en azúcares, tal como lo afirma Ayala *et al.*, (2013). Los resultados de este trabajo muestran que la aplicación de la biopelícula a las frambuesas prolongó el tiempo en el que los frutos completaban su proceso de maduración, por lo que se logró observar la disminución en los valores de los grados brix hasta después del día 8 de almacenamiento.

Del mismo modo como menciona Moreno & Oyola, (2016) el aumento de los sólidos solubles posiblemente este influenciado por la transformación de ácidos orgánicos en azúcares, predominando en frambuesas el ácido cítrico según la Norma Mexicana NMX-FF-011-1982. Tal como se detalla más adelante, también hubo un decremento en los valores del contenido de ácido cítrico por lo que se vuelve a confirmar lo dicho por citados autores.

Resultados similares fueron obtenidos por Guerreiro *et al.*, (2015), quienes formularon y aplicaron a las frambuesas un recubrimiento comestible a base de alginato y eugenol, demostrando que el contenido de sólidos solubles, en una de sus formulaciones, presentó un aumento notable a lo largo de 14 días de almacenamiento.

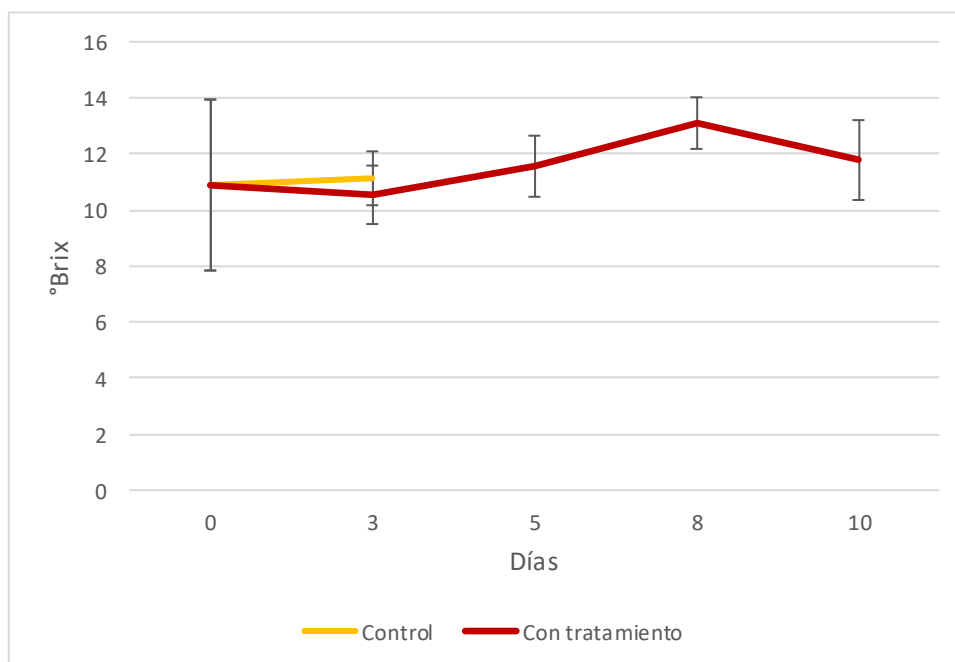


Figura 9. Comportamiento del contenido de sólidos solubles en las frambuesas a lo largo del tiempo de almacenamiento, el cual evidencia que no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre los valores de sólidos solubles del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).

9.2.5 Determinación de acidez titulable

La acidez total titulable (ATT) es una medida del porcentaje de ácidos orgánicos presentes en un alimento. Estos compuestos se usan durante la respiración del fruto, siendo varios de ellos

componentes esenciales en el ciclo respiratorio de los ácidos tricarboxílicos (Kays, 2004).

Aparte de su importancia bioquímica, los ácidos orgánicos contribuyen en gran parte al sabor, en una relación típica entre azúcares y ácidos en las diferentes especies de frutales (Wills *et al.*, 1998).

Los ácidos orgánicos se presentan en concentraciones relativamente elevadas en frutas y bayas, en donde contribuyen decisivamente al sabor (Matissek *et al.*, 1998), siendo el ácido predominante en frambuesas el ácido cítrico de acuerdo con la Norma Mexicana NMX-FF-011-1982.

Dichos ácidos están presentes en la pulpa de los frutos y son metabolizados durante la maduración, donde tienen varios destinos; los principales son: metabolismo mediante el ciclo de Krebs (respiración), gluconeogénesis, fermentación a etanol, síntesis/interconversión de aminoácidos y como sustrato para la producción de metabolitos secundarios, tales como pigmentos (Etienne *et al.*, 2013; Famiani, *et al.*, 2000; Famiani *et al.*, 2005; Famiani, *et al.*, 2007; Famiani *et al.*, 2014a; Ruffner, 1982a, 1982b; Sweetman *et al.*, 2009).

Para determinar la acidez valorable, procedente de los ácidos orgánicos contenidos en los alimentos, se puede hacer uso del volumen de una base valorada consumido en la volumetría, hasta el punto final de la fenolftaleína (Suzanne, 2003). Los cálculos para la obtención del contenido en porcentaje del ácido cítrico presente en las frambuesas se obtuvieron con la fórmula 2, proporcionada por la norma previamente mencionada.

$$\text{Fórmula 2. \% Acidez} = \frac{V_1 \times N \times m_{eq}}{V_0} \times 100$$

Donde:

V_1 = Volumen en mililitros (mL) de la solución de NaOH gastada en la determinación.

N = Normalidad (concentración) de la solución de NaOH.

m_{eq} = Peso equivalente del ácido orgánico presente en el fruto

V_o = Volumen en mililitros de la muestra titulada.

En la figura 10 se muestran los resultados obtenidos del cálculo de ácido cítrico presente en las frambuesas. El valor inicial calculado fue de 0.37 para el día 0, sin embargo, presentó una disminución evidente en el transcurso del almacenamiento obteniéndose un valor de 0.28 para el día 8 y finalmente se registró un valor menor a este, 0.24 para el día 10 de almacenamiento. El análisis estadístico mostró que sí existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el grupo control, y el grupo tratado con la biopelícula con respecto a la acidez titulable., lo que indica que la cantidad de ácido cítrico presente en las frambuesas del grupo tratado disminuyó considerablemente, propio del metabolismo de las frambuesas durante el proceso de maduración.

Dichos resultados se sustentan con lo reportado por Famiani *et al.*, (2005), (2009), (2014a); Famiani & Walker (2009) & Ruffner (1982a), quienes afirman que durante la maduración de algunos frutos blandos, la cantidad de malato/citrato, tanto en concentración como en contenido por fruto, disminuye, y ello muestra que los ácidos orgánicos almacenados son metabolizados.

Situación semejante reportó Guerreiro *et al.*, (2016) quienes al aplicar un recubrimiento comestible a base de alginato/pectina/aceites esenciales sobre frambuesas, mostraron que el contenido de ácido cítrico presente en los frutos disminuyó notablemente al final del almacenamiento en todas sus formulaciones estudiadas.

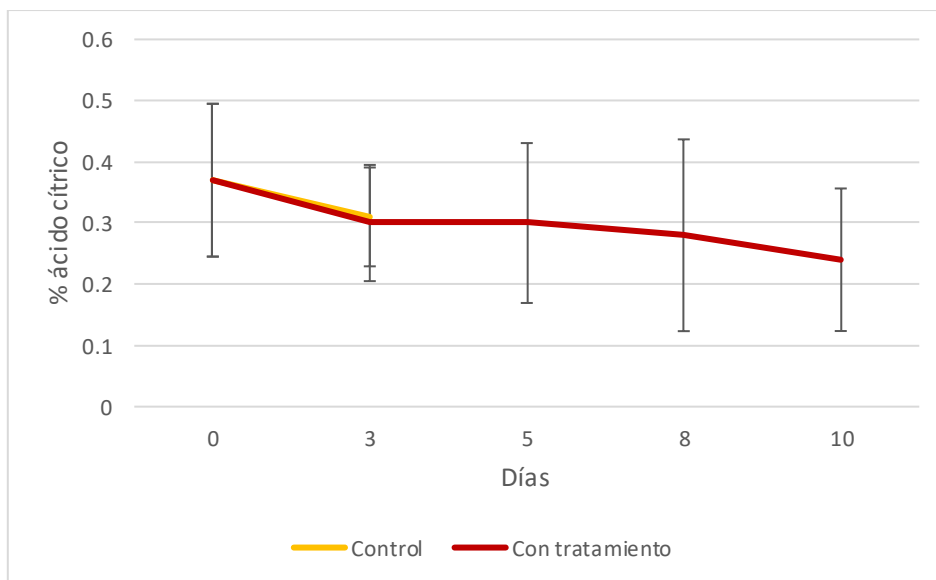


Figura 10. Comportamiento del contenido de ácido cítrico presente en las frambuesas a lo largo de los días de almacenamiento, el cual indica que sí hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los valores de porcentaje de ácido cítrico del grupo con tratamiento y del grupo control (Fuente: Autoría propia).

9.2.6 Determinación de color

El color es una cualidad organoléptica, sujeta a cambios, que determina la aceptabilidad de los alimentos por parte del consumidor. Se aprecia por medio del sentido físico de la vista y es considerado un indicador importante en la maduración de los frutos, además, es usado por los consumidores para hacer conclusiones acerca del grado de madurez y frescura del fruto, es por ello que se recurre a la medición del color de los alimentos como herramienta de control de calidad y seguridad alimentaria (Mathias & Ah, 2014).

Como se muestra en la figura 11, el parámetro L^* , que indica la luminosidad de los frutos (0 = oscuro y 100 = blanco), presentó un ligero aumento del día 3 al día 5, registrándose valores de 17.21 y 19.01, respectivamente. El valor más elevado (color rojo más ligero) se obtuvo el día 10 de almacenamiento, que corresponde a 19.99. En general, el valor de dicho parámetro no mostró afectaciones

importantes en la apariencia del fruto recubierto con la biopelícula, debido a que el fruto mantuvo su color atractivo durante su vida media.

Dichos resultados concuerdan con lo reportado por Gomes *et al.*, (2017) quienes al aplicar a las frambuesas un recubrimiento comestible adicionado con aceite esencial de cítricos, obtuvieron que los frutos recubiertos presentaron un color rojo más ligero a lo largo de los 15 días de almacenamiento, afirmando finalmente que la aplicación del recubrimiento favorece que el color propio de las frambuesas se mantenga sin alterar, y de esta manera los consumidores no las desechen por cambios en su apariencia.

Los valores de saturación del color se obtuvieron después de interpretar los parámetros a^* y b^* , utilizando la fórmula 3.

$$\text{Fórmula 3. } Chroma = C = (a^2 + b^2)^{\frac{1}{2}}$$

La saturación del color o *Chroma* describe la intensidad del color y es una medida de que tan diferente es el color del gris (Hunter & Harold 1987).

En la tabla 4 se muestran los valores de los parámetros de color evaluados para las frambuesas tratadas con biopelícula y el grupo control.

Los resultados obtenidos para el parámetro *Chroma* son presentados en la tabla 4, que muestran un aumento del día 0 al día 3, con valores de 18.28 y 24.88, respectivamente. Sin embargo, después del día 3, los valores disminuyen hasta llegar a 20.26, correspondiente al día 10 de almacenamiento.

Un resultado similar fue el obtenido por Gomes *et al.*, (2017) donde los valores de *Chroma* tienden a disminuir después de 4 días, aun cuando se presentó un valor elevado a los 2 días de almacenamiento. Han *et al.*, (2004) y Vicente *et al.*, (2007) afirman que el primer aumento en el valor registrado es propio del proceso de maduración del fruto y este es atribuido a la síntesis de antocianinas quienes están involucradas en reacciones de copigmentación con

compuestos fenólicos, que también contribuyen al color debido al pardeamiento enzimático, por lo tanto la aplicación de la biopelícula sobre los frutos retardó la maduración (descomposición) de los mismos.

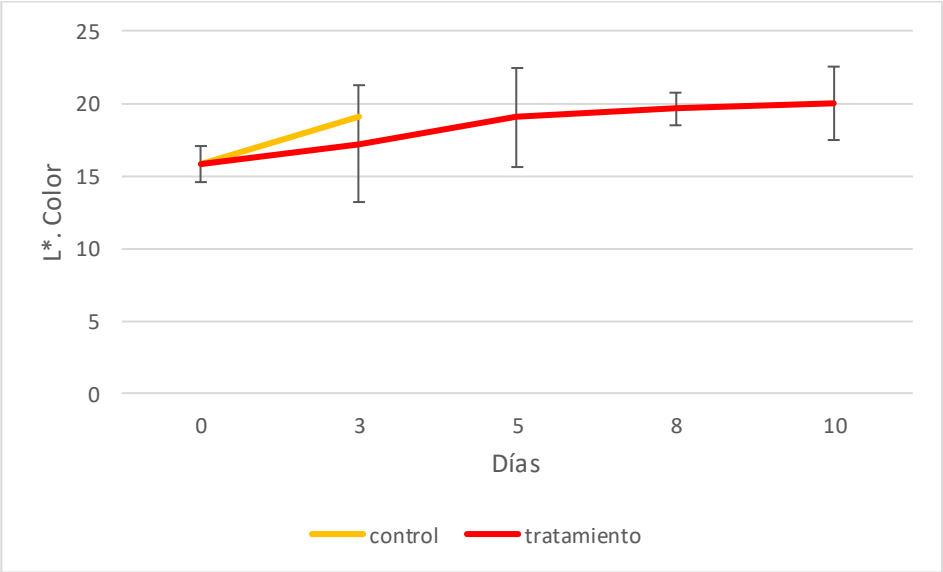


Figura 11. Efecto del uso de la biopelícula sobre el color (parámetro L*) de las frambuesas frescas del grupo con tratamiento y del grupo control a través del tiempo de almacenamiento (Fuente: Autoría propia).

Tabla 4. Diferencia en la evolución de los parámetros de color de las frambuesas durante el almacenamiento (Fuente: Autoría propia).

	Días				
	0	3	5	8	10
Biopelícula					
L*	15.8 ± 1.25	17.21 ± 4.03	19.01 ± 3.41	19.60 ± 1.12	19.99 ± 2.53

<i>a*</i>	17.09 ± 2.88	22.8 ± 1.41	20.38 ± 3.79	18.97 ± 0.67	19 ± 4.63
<i>b*</i>	6.5 ± 0.70	9.94 ± 1.34	7.24 ± 1.61	6.37 ± 0.17	7.03 ± 2.16
<i>Chroma</i>	18.28 ± 1.94	24.88 ± 2.11	21.61 ± 1.70	20 ± 0.27	20.26 ± 1.29
Control					
<i>L*</i>	15.8 ± 1.24	19.07 ± 3.98	NA	NA	NA
<i>a*</i>	17.09 ± 2.87	22.05 ± 0.53	NA	NA	NA
<i>b*</i>	6.5 ± 0.69	9.95 ± 0.85	NA	NA	NA
<i>Chroma</i>	18.28 ± 1.94	24.2 ± 0.7	NA	NA	NA

NA (No Aplica): No se visualizan valores de los días 5, 8 y 10 del grupo control, debido a que el fruto ya no se encontraba en condiciones óptimas para su consumo, por lo que no fueron analizados.

9.3 Análisis estadístico de resultados

Con el objetivo de establecer las relaciones existentes entre los parámetros fisicoquímicos evaluados, pH, sólidos solubles, porcentaje de humedad, actividad de agua y acidez titulable, se efectuó una matriz de correlación de Spearman utilizando el programa Excel. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Matriz de correlación de Spearman de los parámetros fisicoquímicos evaluados (Fuente: Autoría propia).

	pH	Sólidos solubles	% de humedad	Actividad de agua	Acidez titulable
pH	1		-1**		

Sólidos solubles		1		1*	-1*
% de humedad	-1**		1		
Actividad de agua		1*		1	-1**
Acidez titulable		-1*		-1**	1

**La correlación es significativa en el nivel 0.01 (bilateral)

*La correlación es significativa en el nivel 0.05 (bilateral)

Se visualiza una correlación negativa entre los parámetros de porcentaje de humedad y de pH, es decir, existe una relación inversa entre ambas variables, porque cuando disminuye la humedad, el pH aumenta (se vuelve menos ácido) y por lo tanto las condiciones no son las óptimas para el desarrollo de microorganismos deteriorativos, tales como los hongos y levaduras quienes crecen a pH más ácidos con porcentajes de humedad elevados.

Por otro lado, se determinó una correlación positiva entre el contenido de sólidos solubles y la actividad de agua, lo que es evidente porque los valores de actividad de agua se mantienen por arriba de 0.9, indicando que los frutos conservan ese valor propio de las frambuesas frescas. Aunado a dicha afirmación, el contenido de sólidos solubles siguió en aumento, como resultado del proceso metabólico de los frutos.

Se estableció una correlación negativa entre el contenido de sólidos solubles y el de ácido cítrico (acidez titulable), es decir, mientras los valores de grados brix aumentan, los de acidez titulable disminuyen, lo cual ocurre debido a que los ácidos orgánicos son transformados en solutos utilizables (azúcares) para los procesos metabólicos de las células vegetales. Es por lo mismo que el contenido de sólidos solubles aumenta a medida que avanza el tiempo de almacenamiento.

Del mismo modo, se determinó una correlación negativa entre los parámetros de actividad de agua y acidez titulable. Para este caso, los valores de A_w aumentaron y los de acidez titulable disminuyeron, lo cual se explica afirmando nuevamente que el valor de A_w se mantuvo por arriba de 0.9 el cual es característico de las frambuesas frescas y por lo tanto es importante mantenerlo constante. La disminución de los valores de acidez titulable se debe a que el ácido cítrico presente en las frambuesas es requerido por las células vegetales para continuar con sus procesos metabólicos, como también se mencionó anteriormente.

10. CONCLUSIONES

Se obtuvo el extracto acuoso de la semilla de tamarindo manteniendo sus propiedades químicas que favorecieron la composición y comportamiento de la biopelícula sobre las frambuesas, tales como proteínas y lípidos, evidenciados en el espectro de absorción FTIR.

La obtención y adición del aceite esencial de menta a la formulación de la biopelícula contribuyó a retardar la descomposición de los frutos.

Se estandarizó el tiempo de contacto entre la biopelícula y la frambuesa para la preservación de las mismas, al probar 3 tiempos de inmersión diferentes para determinar que el tiempo de aplicación adecuado fue de 3 minutos.

La aplicación de la biopelícula comestible resultó ser una buena alternativa para la preservación de las frambuesas frescas durante 10 días de almacenamiento con respecto al grupo de frambuesas sin biopelícula que sólo duraron en condiciones aceptables 3 días, tomando en cuenta los parámetros fisicoquímicos evaluados, es decir triplicó la vida media de las frambuesas.

11. PERSPECTIVAS

- Realizar un análisis sensorial para comprobar la aceptabilidad de las frambuesas con la biopelícula.
- Aplicar la biopelícula o variaciones de ella en otros frutos para ampliar la información disponible en esta línea de investigación.
- Realizar un análisis antimicrobiano del extracto acuoso de semilla de tamarindo.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Akthar, M. S., Degaga, B., & Azam, T. (2014). Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(1), 1-7.
- Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, G. S., & Dabur, R. (2009). Natural products-antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian Natural Products research*, 11(7), 621-638.
- Ayala, L., Valenzuela, C., y Bohorquez, Y. (2014). Effect of an edible crosslinked coating and two types of packaging on antioxidant capacity of castilla blackberries. *Food Sci. Technol, Campinas*, 34(2), 281-286.
- Badui, D. S. (2006). *Química de los alimentos*. Pearson educación.
- Conn, E.E. (1969). Cyanogenetic glycoside. *J. Agric. Food Chem.* 17(3):515.
- Deans, S. G., & Svoboda, K. P. (1988). Antibacterial activity of French tarragon (*Artemisia dracunculus* Linn.) essential oil and its constituents during ontogeny. *Journal of Horticultural Science*, 63(3), 503-508.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., & Voilley, A. (1998). Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Critical Reviews in Food Science*, 38(4), 299-313.
- Duan, J., Wu, R., Strik, B.C., Zhao, Y., 2011. Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 71–79.
- Echeverría, S. & Lucatero, E. (2006). Diagnóstico de la cadena de sistema producto tamarindo (*Tamarindos indica* L.) en el estado de Colima.

- Etienne, A., Génard, M., Lobit, P., Mbéguié-A-Mbéguié, D., & Bugaud, C. (2013). What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. *Journal of Experimental Botany*, 64(6), 1451-1469.
- Eyolfson, R. (1970). Recent advances in chemistry of cyanogenic glucosides. *Fortsch. Chem. Organ. Naturist.* 28, 74-108.
- Fennema, O. R. (1985). Water and ice. En *Food Chemistry* (2aEd). O. R. Fennema (Ed.). Marcel Dekker Inc., New York.
- Famiani, F., Farinelli, D., Palliotti, A., Moscatello, S., Battistelli, A., & Walker, R. P. (2014a). Is stored malate the quantitatively most important substrate utilised by respiration and ethanolic fermentation in grape berry pericarp during ripening? *Plant Physiology and Biochemistry*, 76, 52-57.
- Famiani, F., Cultrera, N., Battistelli, A., Casulli, V., Proietti, P., Standardi, A., Chen, Z. H., Leegood, R. C., & Walker, R. P. (2005). Phosphoenolpyruvate carboxykinase and its potential role in the catabolism of organic acids in the flesh of soft fruit during ripening. *Journal of Experimental Botany*, 56 (421), 2959-2969.
- Famiani, F., Baldicchi, A., Battistelli, A., Moscatello, S., & Walker, R. P. (2009). Soluble sugar and organic acid contents and the occurrence and potential role of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) in gooseberry (*Ribes grossularia* L.). *Journal of Horticultura Science and Biotechnology*, 84(3), 249-254.
- Famiani, F., Walker, R. P., Técsi, L., Chen, Z. H., Proietti, P., & Leegood, R. C. (2000). An immunohistochemical study of the compartmentation of metabolism during the development of grape (*Vitis vinifera* L.) berries. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 675-683.
- Famiani, F., Casulli, V., Proietti, P., Walker, R. P., & Battistelli, A. (2007). Organic acid metabolism in grape: role of phosphoenolpyruvate carboxykinase. *Acta Horticulturae*, 754, 599-602.
- Flores, L. T., Cerón, G. A., Salcedo, H. R. & Sosa, M. M. E. (2017). Tratamientos poscosecha asistidos con microondas para evitar el decaimiento en frambuesas (*Rubus idaeus* L.). *Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos*, 2, (223-229)
- Funt, R. C., & Hall, H. K. (2013). Raspberries. In H. K. H. Richard C. Funt (Ed.), *Raspberries Volumen 23 de Crop production science in horticulture* (Ilustrada, p. 282). Oxfordshire, UK: CAB International.
- Gerberding, J. L. (2006). Toxicological profile for cyanide. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 341.
- Gomes, M. D. S., Cardoso, M. D. G., Guimarães, A. C. G., Guerreiro, A. C., Gago, C. M. L., Vilas Boas, E. V. D. B., ... & Antunes, M. D. C. (2017). Effect of edible coatings with essential oils on the quality of red raspberries over shelf-life. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 929-938.
- Gomorra, B. G (2008). Comercialización de frambuesa mexicana en Ottawa-Canadá. Tesis de licenciado en comercio Internacional. Instituto Politécnico Nacional.

- Goulart, B. L., Hammer, P. E., Evensen, K. B., Janisiewicz, W., & Takeda, F. (1992). Pyrolnitrin, Captan + Benomyl, and High CO₂ Enhance Raspberry Shelf Life at 0 or 18C, 117(2), 265–270.
- Guerreiro, A. C., Gago, C. M., Miguel, M. G., Faleiro, M. L., & Antunes, M. D. (2016). The influence of edible coatings enriched with citral and eugenol on the raspberry storage ability, nutritional and sensory quality. *Food Packaging and Shelf Life*, 9, 20-28.
- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W., Traber, M. G. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biol. Technol.* 33, 67–78.
- Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M., & Törrönen, A. R. (1999). Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6), 2274– 2279.
- Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. M., & Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1095-1107.
- Hou, L., Li, F., Gou, J., Zhang, X., Kong, X., Cui, X. T., Dong, C., Wang, Y. & Shuang, S. (2019). A colometric and ratiometric fluorescent probe for cyanide sensing in aqueous media and live cells. *Journal of Materials Chemistry B*, 7(30), 4620-4629.
- Hunter, R. S. and Harold, R. W. 1987. *The Measurement of Appearance*, John Wiley & Sons, New York.
- Hwang, Y. S., Min, J. H., Kim, D. Y., Kim, J. G., & Huber, D. J. (2012). Potential mechanisms associated with strawberry fruit firmness increases mediated by elevated pCO₂. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 53(1), 41–48.
- Imperfecciones de frutas y verduras contribuyen a desperdicio de alimentos. Agencia EFE. Recuperado el 03 de marzo del 2019 desde: <https://www.efe.com/efe/america/mexico/imperfecciones-en-frutas-y-verduras-contribuyen-a-desperdicio-de-alimentos/50000545-3616387#>
- Jin, P., Wang, S. Y., Gao, H., Chen, H., Zheng, Y., & Wang, C. Y. (2012). Effect of cultural system and essential oil treatment on antioxidant capacity in raspberries. *Food Chemistry*, 132(1), 399–405.
- Joles, D. W., Cameron, A. C., Shirazi, A., Petracek, P. D., & Beaudry, R. M. (1994). Modified-atmosphere Packaging of “Heritage” Red Raspberry Fruit: Respiratory Response to Reduced Oxygen, Enhanced Carbon Dioxide, and Temperature. *J. AMER. SOC. HORT. SCI*, 119(1193).
- Kader, A. A., & Pelayo, Z. C. (2007). *Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas (Tercera)*.
- Kader, A. (1992). *Biología y tecnología de postcosecha*. En *Cursos de invernadero INCAPA* (pp. 311–324).

- Karmas, E. (1980). Techniques for measurement of moisture content of foods. *Food Technol.* 34(4),52.
- Kays, S. (2004). *Postharvest biology*. Exon Press, Athens, Georgia. 568.
- Kim, M. & Harris, G. (2003). Raspberries and Related Fruits. *Encyclopedia of Food and Health*, 4916–4921.
- Krochta, J. M. (2002). *Protein-based films and coatings*. CRC, Washington, DC.
- Kzil, S., Hasimi, N., Tolan, V., Kilinc, E., & Yuksel, U. (2010). “Mineral content, essential oil components and biological activity of two mentha species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.), “*Turkish Journal of Field Crops*, vol. 15, no. 2, pp.148-153.
- Krüger, E., Dietrich, H., Schöpplein, E., Rasim, S., & Kürbel, P. (2011). Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1), 31–37.
- Labuza, T. P. 1980. The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technol.* 34(4),36.
- Liener, I.E. (1969). *Toxic constituents of plant foodstuffs*. Academic Press, New York.
- Mathias R. K., & Ah, H. K. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro sur*, 42(2), 57-66.
- Matissek, R., Schnepel, F. M., & Steiner, G. (1998). *Análisis de los alimentos. Fundamentos- Métodos- Aplicaciones*. Edit. Ecribia, SA Zaragoza. España, 173-174.
- Mayachiew, P., Devahastin, S., Mackey, B. M., & Niranjana, K. (2010). Effects of drying methods and conditions on antimicrobial activity of edible chitosan films enriched with galangal extract. *Food Research International*, 43, 125-132.
- McGlynn, W. (2012). The importance of food pH in commercial canning operations. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University Cooperative Extension Service.
- Mendieta, M. I. (2019). Incremento de la vida media de fresas frescas por la aplicación de una biopelícula comestible elaborada a base del extracto de la semilla de tamarindo (*Tamarindus indica* L.): parámetros microbiológicos (Bachelor's thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).
- Morales, M. L., Callejón, R. M., Ubeda, C., Guerreiro, A., Gago, C., Miguel, M. G., et al. (2014). Effect of storage time at low temperature on the volatile compound composition of Sevillana and Maravilla raspberries. *Postharvest Biology and Technology*, 96, 128–134.
- Moreno, B. L., & Oyola, Y. A. D. (2016). Caracterización de parámetros fisicoquímicos en frutos de mora (*Rubus alpinus* Macfad). *Acta Agronómica*, 65(2), 130-136.
- Muñoz Latorre, E. O. (2012). Obtención de pulpa de frambuesa liofilizada y aplicación en yogur como colorante y saborizante natural.

- Nishinari, K., Yamatoya, K. & Shirakawa, M. (2000). Xyloglucan. In G. O. Phillips & P. A. Williams (eds.), *Handbook of hydrocolloids*, CRC, Boca Raton, 247-267.
- Orozco, B. D. G. (2019). Efecto de la aplicación de atmósferas controladas para alargar la vida poscosecha de variedades de frambuesa roja (*Rubus idaeus* L.) cultivadas en México.
- Osterloh, A. G., Ebert, W.H., Held, H., Schulz & E. Urban. 1996. Lagerung von Obst und Südfrüchten. Verlag Ulmer, Stuttgart. 253.
- Pérez, G. A., Mattinson, S. D., Lazcano, P. A., Fellman, J. K., Barbosa, C. G., García, A. B., & Regalado, C. (2012). Effect of native and acetylated-crosslinked waxy corn starch-beeswax coatings on quality attributes of raspberries during storage. *Starch-Stärke*, 64(8), 665-673.
- Panorama agroalimentario, Berries. (2016). Dirección de investigación y evaluación económica y sectorial. Obtenido el 31 de marzo del 2019 desde: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200633/Panorama_Agroalimentario_Berries_2016.pdf
- Pierron, D. A. (2012). Raspberry plant named "Adelita." In *Plantas de Navarra SA*.
- Ramírez, A. V. (2010). Toxicidad del cianuro: Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre. In *Anales de la Facultad de Medicina*, 71, 54-61). UNMSM. Facultad de Medicina.
- Rezaei, F., & Shahbazi, Y. (2018). Shelf-life extension and quality attributes of sauced silver carp fillet: A comparison among direct addition, edible coating and biodegradable film. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 87, 122–133.
- Rubio, J. C. G., de Lena, G. G. G., & Ara, M. C. (2014). El cultivo del frambueso. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA).
- Ruffner, H. P. (1982a). Metabolism of tartaric and malic acid in *Vitis*: a review. Parte A. *Vitis*, 21, 241-249.
- Ruffner, H. P. (1982b). Metabolism of tartaric and malic acid in *Vitis*: a review. Parte B. *Vitis*, 21, 346-358.
- SAGARPA. (2017). agrícola nacional FRUTAS DEL BOSQUE ZARZAMORA.
- Siddiqui, M. W. (2016). Eco-Friendly Technology for Postharvest Produce Quality. *Eco-Friendly Technology for Postharvest Produce Quality*.
- Silva, E. R., & Lucatero, C. S. E. (2006). Diagnóstico de la cadena del sistema producto tamarindo (*Tamarindos indica* L.), en el estado de Colima. Consejo estatal de productores de tamarindo del estado de Colima AC/Universidad de Colima. Colima, México.
- Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1995). Antimicrobial activity of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9), 2384-2388.

- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., & Sochor, J. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 24673–24706.
- Strik, B. C., R. Howard, L., Hager, T. J., & Talcott, S. T. (2007). Berry Fruit, Value- Added Products for Health Promotion. In Y. Zhao (Ed.), *Berry Fruit, Value- Added Products for Health Promotion*. Boca Raton, FL: CRC PRESS Taylor & Francis Group, 17-73.
- Sustrikova, A., & Salamon, I. (2004). Essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.) from fields in Eastern Slovakia. *Horticultural Science*, 31(1), 31-36.
- Suzanne, N. (2003). *Análisis de los alimentos*. Editorial Acirbia. Zaragoza, España, 17-18.
- Sweetman, C., Deluc, L. G., Cramer, G. R., Ford, C. M., & Soole, K. L. (2009). Regulation of malate metabolism in grape berry and other developing fruits. *Phytochemistry*, 70(11-12), 1329-1344.
- Trejo R. V., Trejo M. M. A., Pascual B. S., & Lira V. A. A. (2015). Extracción de aceite esencial de eucalipto y su aplicación como agente antifúngico en un envase activo para conservación de frambuesa. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 228-233.
- Tyler, V.E., Brady, L. R., & Robbers, J. E. (1988). *Pharmacognosy*, Lea & Febiger, Philadelphia, Pa, USA, 9th edition.
- Umaraw, P., & Verma, A. K. (2017). Comprehensive review on application of edible film on meat and meat products: An eco-friendly approach. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1270–1279.
- Vicente, A. R., Ortugno, C., Powell, A. L. T., Greve, L. C., & Labavitch, J. M. (2007). Temporal sequence of cell wall disassembly events in developing fruits. *Analysis of Raspberry (Rubus idaeus)*. *J. Agric. Food Chem*, 55, 4119–4124.
- Viveros G. J. C., Figueroa R. K. A., Gallardo L. F., García P. E., Ruiz R. O., & Hernández R. F. (2012). Sistemas de manejo y comercialización de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) en tres municipios de Veracruz. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(6), 1217-1230.
- Weerakkody, N. S., Caffin, N., Turner, M. S., & Dykes, G. a. (2010). In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*, 21, 1408-1414.
- Wills, R., B. McGlasson, D. Graham y D. Joyce. (1998). *Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals*. CAB International, Nueva York. 262.