

**UTILIZACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES PARA EXTENDER EL LARGO  
DE VIDA ÚTIL DE NARANJAS (*CITRUS SINENSIS*) FRESCAS PELADAS**

**Por  
LUZ ANGELA BUITRAGO FLOREZ**

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

**en**

**CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**  
UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO  
Recinto Universitario de Mayagüez  
Facultad de Ciencias Agrícolas  
2013

Aprobado por:

\_\_\_\_\_  
Lynette E. Orellana Feliciano, PhD  
Miembro de Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Linda Wessel Beaver, PhD  
Miembro de Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
María Lourdes Plaza, PhD  
Presidente de Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Elide Valencia, PhD  
Representante de Estudios Graduados

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Edna Negrón Pérez, PhD  
Coordinadora del Programa de Ciencia y  
Tecnología de Alimentos

\_\_\_\_\_  
Fecha

## Abstract

Distributors of citrus fruits in Puerto Rico produce peeled oranges as their main product, however this product is highly perishable. The main objective of this research was to compare different edible film treatments for extending the shelf life of fresh peeled oranges stored at  $4 \pm 0.5$  ° C. Four edible films treatments were evaluated as follows: NatureSeal<sup>®</sup> (NS), NatureSeal<sup>®</sup> with 2% of potassium sorbate (NS+SP), hydroxypropyl methylcellulose with 2.5% of glycerol (HPMC), hydroxypropyl methylcellulose with 2.5% of glycerol and 2% of potassium sorbate (HPMC+SP) and a control treatment (fruit without edible film). In petri plate aerobic microorganism, fungus and yeast were counted. Weight lost, external appearance, texture, color, pH, water activity ( $a_w$ ), °Brix, vitamin C and acid titration were measured in the treatments. The analyses were performed at 0, 3, 7, 14, 21, 28 days after application of the edible film treatments. Overall, the SP edible films had the lowest microbial counts. There were no significant differences among edible films regarding weight lost, texture, pH,  $a_w$ , °Brix, vitamin C and acid titration. The HPCM edible films had the best external appearance. Overall, this study found the edible film HPCM+SP produced the best results.

# Resumen

El núcleo de cítricas de Puerto Rico produce naranjas peladas, sin embargo enfrenta el problema de la corta vida útil de este producto. Por este motivo, esta investigación fue realizada para comparar tratamientos de películas comestibles las cuales puedan ser utilizadas para extender el largo de vida útil durante el almacenamiento de naranjas frescas peladas a  $4 \pm 0.5$  °C. Se evaluaron cuatro tratamientos: NatureSeal® (NS), NatureSeal® con 2% de sorbato de potasio (NS+SP), hidroxipropylmetilcelulosa con 2.5% de glicerol (HPMC), hidroxipropylmetilcelulosa con 2.5% de glicerol y 2% de sorbato de potasio (HPMC+SP) y un control de frutas sin película. Se realizó recuento total en plato petri de microorganismos aerobios, recuento de hongos y levaduras. También, se midió pérdida de peso, apariencia externa, textura, color, pH, actividad de agua ( $a_w$ ), °Brix, vitamina C y acidez titulable en las frutas tratadas. Estos análisis se realizaron a los 0, 3, 7, 14, 21 y 28 días después de aplicar la película comestible. En general, las películas comestibles con SP presentaron menor carga microbial. No se encontraron diferencias significativas entre las películas en pérdida de peso, textura, color, pH,  $a_w$ , °Brix, vitamina C y acidez titulable. Las películas comestibles elaboradas a base de HPCM mostraron mejor apariencia. En conclusión, la película comestible HPCM+SP obtuvo el mejor resultado.

Derechos del Autor Reservados ©  
Luz Angela Buitrago Florez  
2013

*Con amor a Dios por ser mi guía, mis familiares que a pesar de la distancia siempre  
estuvieron presente en mis pensamientos, a mi esposo por su paciencia y amor y a mi hijo  
por brindarme una sonrisa cada día.*

# Agradecimientos

A Dios por permitirme concluir esta investigación, por estar siempre a mi lado y ser mi fortaleza.

A mi hijo Jose David por llenar mis días de alegría con sus travesuras, por su amor, compañía y por portarse tan bien. A mi esposo Jose Matias por brindarme su apoyo, amor, y ánimo. A mis hermanos Jose Guillermo, Sirly Dayana y Julieth Carolina y a mis padres, Amanda y Guillermo, por su ayuda incondicional, oraciones, consejos y amor.

A mi prima Yolima Arenas y mis amigas Erika, Gladys y Diana por su compañía, comprensión y ayuda en lo profesional, emocional y en las tareas diarias, especialmente a Erika por ser mi amiga del alma, como una hermana y como una madre para mi hijo.

A la Doctora María Plaza por su disposición, confianza, amistad y por permitirme trabajar en esta investigación. A la Doctora Edna Negrón por brindarme la oportunidad de estudiar en el programa. A la Doctora Lynette Orellana por su colaboración en el desarrollo de la investigación. A la Doctora Linda Beaver por su disposición, consejos y colaboración en el análisis estadístico. A la Doctora Ivellisse Padilla y Verónica Sánchez por otorgarme ayudantía en el departamento de química, por su ayuda y amistad.

Al Núcleo de Cítricas de Puerto Rico por facilitar las frutas para la investigación.

A todos mis compañeros de CITA y todas las personas que de alguna manera me colaboraron en esta investigación.

# Tabla de Contenido

Abstract.....	ii
Resumen .....	iii
Agradecimientos.....	vi
Lista de Figuras .....	x
Lista de Tablas.....	xi
Lista de Símbolos .....	xii
1. Introducción.....	1
2. Revisión de literatura.....	3
2.1 Variedad Valencia .....	5
2.2 Problemas postcosecha.....	5
2.3 Proceso de pelado de las naranjas .....	9
2.4 Películas y coberturas comestibles.....	10
2.4.1 Componentes de películas y cubiertas comestibles.....	12
2.4.2 Preparación y aplicación de películas y coberturas comestibles .....	14
2.4.3 Ventajas y desventajas del uso de películas y coberturas comestibles .....	15
2.5 Parámetros de calidad.....	16
2.5.1 Apariencia externa .....	17
2.5.2 Textura.....	17
2.5.3 Color.....	19
2.5.4 Acidez titulable .....	19
2.5.5 Vitamina C.....	20
2.5.6 Sólidos solubles totales °Brix .....	22

2.5.7 Actividad de agua ( $a_w$ ) .....	22
2.5.8 pH.....	23
2.5.9 Análisis microbiológico.....	23
3. Materiales y Métodos .....	25
3.1 Diseño experimental.....	25
3.2 Obtención de las naranja .....	25
3.3 Elaboración de películas comestibles.....	26
3.3.1 Película de NatureSeal® .....	25
3.3.2 Película de celulosa.....	25
3.3.3 Aplicación de la película.....	25
3.4 Análisis microbiológico .....	27
3.5 Pérdida de peso.....	28
3.6 Apariencia .....	29
3.7 Firmeza.....	29
3.8 Color.....	29
3.9 Análisis químico.....	30
3.9.1 pH.....	30
3.9.2 Ácidoz titulable .....	30
3.9.3 Ácido ascórbico .....	31
3.9.4 Sólidos solubles totales (SST).....	32
3.9.5 Actividad de agua.....	33
3.10 Análisis estadístico .....	33
4. Resultados y Discusión.....	34
4.1 Análisis microbiológico .....	34

4.2	Apariencia .....	37
4.3	Pérdida de peso y textura.....	39
4.4	Color.....	40
4.5	Análisis químico.....	41
5.	Conclusiones .....	44
	Literatura citada.....	45
	Anexos.....	52

# Lista de Figuras

Figura 1. Apariencia de naranjas peladas con los diferentes tratamientos, durante el tiempo de almacenamiento. ....	38
---	----

## Lista de Tablas

Tabla 1. Hongos que causan la pudrición en la postcosecha de naranjas y mandarinas en España.....	7
Tabla 2. Recuento de bacterias aerobios y hongos y levaduras en naranjas peladas con los diferentes tratamientos.....	34
Tabla 3. Recuento de bacterias aerobios y hongos y levaduras en naranjas peladas en el tiempo. ....	35
Tabla 4. Porcentaje de pérdida de peso y textura de naranjas peladas con los diferentes tratamientos. ....	39
Tabla 5. Porcentaje de pérdida de peso y textura de naranjas peladas en el tiempo de almacenamiento.....	40
Tabla 6. Parámetros de color interno en naranjas peladas con los diferentes tratamientos..	41
Tabla 7. Parámetros de color de naranjas peladas durante el tiempo de almacenamiento. ...	41
Tabla 8. pH, $a_w$ , °Brix, vitamina C y porcentaje de acidez titulable en naranjas peladas con los diferentes tratamientos.....	42
Tabla 9. pH, $a_w$ , °Brix, vitamina C y porcentaje de acidez titulable de naranjas peladas durante el tiempo de almacenamiento. ....	43

## Lista de Símbolos

L: litro

ml: mililitros

g: gramos

mg: miligramos

min: minutos

h: horas

°C: grados Celsius

ppm: partes por millón

mm: milímetros

N: normalidad

D.E.: desviación estándar

# 1. Introducción

A nivel global la producción y el consumo de frutas y vegetales frescos ha ido aumentando. Esto se debe en gran manera a que los consumidores actuales tienden a preferir alimentos de buena calidad, saludables, frescos, convenientes, seguros y amigables con el medio ambiente. Se han realizado investigaciones que han documentado que el consumo adecuado de frutas y vegetales tienen beneficios en la salud (Southon, 2000; Soerjomataram et al., 2010). Sin embargo, el consumo mundial por persona no llega a ser el recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) el cual es de 400 gramos diarios por persona (OMS, 2011). Por otra parte, cerca de un tercio de los alimentos que se producen cada año en el mundo para el consumo humano (aproximadamente 1,300 millones de toneladas) se pierden o desperdician principalmente frutas y verduras, además de raíces y tubérculos (FAO, 2011).

Las frutas y vegetales son una fuente rica en vitaminas y minerales (Gil, 2010). Las vitaminas son nutrientes muy inestables a la luz, la temperatura y el oxígeno, entre otros. Estos nutrientes generalmente se pierden en los alimentos procesados, siendo necesario añadirlos al final del procesamiento. Las frutas presentan menores pérdidas, ya que generalmente se consumen en fresco. La naranja (*Citrus sinensis*) es una fruta cítrica muy apetecida, su jugo es de alto valor comercial debido a sus agradables cualidades sensoriales (olor, color y sabor) y se caracteriza por su aporte de vitamina C a la dieta del ser humano (Martín-Diana et al., 2009), la cual es primordial, ya que actúa como un antioxidante, fortalece el sistema inmune y previene enfermedades del corazón, derrame cerebral y cáncer (Klimczak et al., 2007).

Un problema de postcosecha de importancia económica en los cítricos que afecta su producción en casi todas las regiones del mundo, son los hongos verdes y azules, causados por *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*, respectivamente (Cañamas et al., 2008). Estas enfermedades son controladas principalmente por la aplicación de fungicidas sintéticos. Los residuos de estos fungicidas representan un riesgo a la salud y al medio ambiente, lo que ha impulsado el desarrollo de métodos alternativos.

El envasado es un factor importante en el manejo postcosecha de la naranja (FAO, 2011). En un informe dedicado al envasado de alimentos en los países en desarrollo, se concluyó que el envasado adecuado es clave para minimizar las pérdidas ocurridas en casi todos los niveles de la cadena alimentaria. Las películas comestibles son un sistema de empaque que permite alargar la vida útil de frutas y vegetales actuando como una atmósfera modificada, ya que limita la transferencia de gases, a la vez que disminuye los problemas ecológicos por la acumulación de material no degradable (Falguera et al., 2011). Además, las propiedades funcionales de estos productos pueden ser mejoradas mediante la incorporación de antioxidantes, sabores, pigmentos, vitaminas y agentes antimicrobianos.

Actualmente, el Núcleo de Cítricos de Puerto Rico produce naranjas peladas las cuales son vendidas a comederos escolares. Sin embargo, para lograr incursionar en el mercado internacional, el largo de vida útil de este producto listo para consumo debe extenderse. Esta investigación evaluó dos tipos de películas comestibles, una disponible comercialmente y otra de hidroxipropylmetilcelulosa con sorbato de potasio para extender el largo de vida útil de naranjas peladas durante el almacenamiento y el efecto de estas películas en algunos parámetros de calidad de la fruta.

## 2. Revisión de literatura

La naranja dulce (*Citrus sinensis*) es procedente del sureste asiático (Amorós, 2003). Esta región fue el primer centro donde se originó las diferentes especies del género *Citrus*. Una segunda diversificación ocurrió en las regiones del Mediterráneo y del Caribe (Mukhopadhyay, 2004). La naranja dulce es el fruto del naranjo dulce, perteneciente al género *Citrus*, de la familia de las Rutáceas. Se produce en todas las zonas tropicales y templadas (Amorós, 2003). En Puerto Rico se encuentra a través de toda la isla, especialmente en las fincas de café en la base de la cordillera y en toda la zona húmeda (Little et al., 2001).

El principal país productor de naranja es Brasil con una producción en el 2011 de 19,8 millones toneladas, seguido de Estados Unidos con 8,0 millones toneladas (FAOSTAT, 2013). Otros países importantes en su producción son: China, India, México, España, Egipto, Italia e Indonesia. En Puerto Rico, la producción en el 2011 fue de 12 mil toneladas (FAOSTAT, 2013).

El fruto de naranja es un hesperidio con forma esférica, más o menos achatado por los extremos (Gil, 2010). Consta de un exocarpio (flavedo), donde se encuentra las vesículas que contienen los aceites esenciales, un mesocarpio (albedo) de color blanco y un endocarpio (pulpa). Su diámetro oscila entre 6 a 10 cm y su peso entre 150 a 200 g. La pulpa, anaranjada, contiene de 8 a 10 gajos alargados y curvos, que proporcionan un jugo de sabor más o menos dulce, según la variedad.

La naranja se destaca por su escaso valor energético (Gil, 2010). El aporte total de carbohidratos (8.6%) es bajo y predomina la sacarosa. El contenido de fibra es de 2.35% y, contrario a la mayoría de las frutas, predomina la fibra soluble (58%) frente a la fibra

insoluble (42%). El aporte de calcio es de 41 mg/100g, siendo la fruta que más cantidad de este mineral contiene. Posee un alto contenido de  $\alpha$ -carotenos,  $\beta$ -carotenos y  $\beta$ -criptoxantina, y se destaca el contenido de zeaxantinas y luteína. Además, posee ácidos orgánicos, especialmente ácido cítrico y compuestos fenólicos.

Las naranjas permanecen en el árbol de 6 a 10 meses; en el subtropical puede permanecer por más tiempo (Salunkhe y Kadam, 1995). El color de la fruta puede indicar correctamente la madurez de cosecha, pero este no es un índice confiable en el trópico. Sin embargo, en el trópico hay un cambio de color de verde fuerte a verde claro que suele coincidir con la madurez. Posteriormente la fruta toma un color amarillo.

Como índice de madurez, también se emplea el porcentaje de sólidos solubles totales ( $^{\circ}$ Brix) y el porcentaje de ácido cítrico del jugo; algunas veces, el porcentaje de jugo puede ser usado, el cual debe estar alrededor del 50% (Salunkhe y Kadam, 1995). Cuando la fruta está en el árbol, los sólidos solubles totales continúan aumentando, al principio rápidamente, luego lentamente hasta alcanzar 13  $^{\circ}$ Brix. Al mismo tiempo, el contenido de ácido disminuye de 2.5 a 1% o menos. Cuando la relación azúcar/acidez se encuentra entre 10 y 16, es de aceptación para la gran mayoría de consumidores. Si la fruta permanece demasiado tiempo en el árbol, se vuelve demasiado madura y de una dulzura desagradable, haciéndola no aceptable para el procesamiento y exportación.

El contenido de agua en la cáscara de la fruta determina la turgencia de los tejidos determinando la gravedad de lesiones y trastornos después de la cosecha (Ladaniya, 2008). Cuando las frutas son cosechadas temprano en la mañana o en tiempo húmedo tienden a desarrollar manchas marrones en la cáscara con ligeras presiones o golpes. Este problema se puede minimizar con un pretratamiento de curado, donde se elimina ligeramente la humedad de la cascara, facilitando el manejo mecánico.

## **2.1 Variedad Valencia**

Esta variedad de naranja lleva su nombre de donde se ha difundido, Valencia España (se cree que es de origen chino) (Ladaniya, 2008). Es la naranja dulce más cultivada en el mundo. En el hemisferio norte está es de maduración tardía (febrero-octubre), en el hemisferio sur madura en verano (septiembre-marzo). Se mantiene bien en el árbol, pero ocurren problemas de reverdecimiento. Frutas con excelente calidad presentan un color naranja en la cáscara y un color amarillo anaranjado en la pulpa, son jugosas y sin semillas. La mayoría de lo que se produce es procesada en jugo, ya que esta variedad aporta un color intenso al jugo en comparación con otras variedades (Gama y Sylos, 2005).

## **2.2 Problemas postcosecha**

Las prácticas de cosecha de frutas y verduras determinan el grado de viabilidad en la madurez y lesiones físicas (Lin y Zhao, 2007). Las lesiones físicas conducen a pérdidas de agua y de vitamina C e incrementan la susceptibilidad a la pudrición por hongos o patógenos durante el almacenamiento. Por tal motivo, la supervivencia y el crecimiento de estos microorganismos es la principal preocupación de inocuidad en frutas y vegetales frescos y mínimamente procesados. Esto se debe a la posible contaminación durante la preparación e incremento de nutrientes y fluidos celulares sobre la superficie fresca cortada.

Además, durante el almacenamiento postcosecha las frutas y verduras sufren muchos cambios fisiológicos, incluyendo ablandamiento de tejido, incremento en los niveles de azúcar, decrecimiento en los niveles de ácidos orgánicos, degradación de la clorofila acompañada de la síntesis de antocianinas o carotenoides sobre la maduración, producción y pérdida de componentes volátiles de aroma, disminución en el contenido de compuestos

fenólicos y aminoácidos, y descomposición de los materiales celulares debido a la respiración (Lin y Zhao, 2007). La temperatura y la humedad relativa afectan directamente la respiración y transpiración postcosecha de las frutas y vegetales. Temperaturas elevadas aceleran la respiración, incrementa la producción de etileno, aumenta los niveles de dióxido de carbono y conduce cambios en aroma, sabor, textura, color, apariencia y nutrientes del producto.

Un estimado del deterioro postcosecha indica que este afecta cerca de un cuarto de todo el producto cosechado, los cuales pueden ser mitigados mediante la aplicación de manejos apropiados de postcosecha, incluyendo control de temperatura y humedad relativa, composición de la atmósfera, limpieza, encerado, y aplicación de empaque (Lin y Zhao, 2007). Para controlar el crecimiento de microorganismos a la vez que se proporcionan productos de alta calidad que sean inocuos es esencial la implementación de operaciones de sanitización apropiadas durante la preparación y procesamiento del alimento y mantenimiento de condiciones de refrigeración y sanitización durante el almacenamiento. Los hongos que tienen mayor incidencia en la pudrición en naranjas y mandarinas durante el almacenamiento y mercadeo son *Penicillium* y *Alternaria* (Tabla 1).

**Tabla 1. Hongos que causan la pudrición en la postcosecha de naranjas y mandarinas en España.**

Hongo	Incidencia de pudrición (%)	
	Almacenamiento*	Mercadeo
<i>Penicillium digitatum</i> Sacc.	30-55	70
<i>Penicillium italicum</i> Wehmer	17-37	10-25
<i>Alternaria citri</i> Ell.	10-45	0-20
<i>Botrytis cineria</i> Penz.	2-15	0-10
<i>Colletotrichum gloeosporoides</i> Penz.	0-7	0-3
<i>Geotrichum candidum</i> Link.	0-5	0-3
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenh.	0-4	0-3
<i>Cladosporium herbarum</i> Link.	0-2	0-1
<i>Alternaria alternata</i>	0-1	0-0.8
<i>Phytophthora citrophthora</i> (Sm. and Sm.) Leonia	0-3	0-5
<i>Trichothecium roseum</i> (Bull.) L.K	0-0.8	0-1
<i>Fusarium oxysporum</i> Sehl.		
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) App. And Wr.	0-1.5	-
<i>Diplodia mutila</i> (Frias) Mont.	0-0.1	-
<i>Phomopsis citri</i>	0-0.8	-

\*Atmósfera convencional, humedad relativa 90%, durante dos meses a 2-4 °C. Tomado de: (Mukhopadhyay, 2004)

Los hongos verdes y/o azules causan pérdidas económicas y representan un riesgo a la salud (Baraona y Sancho, 1998). Ambas enfermedades se caracterizan por una pudrición blanda y acuosa que se inicia en cualquier parte del fruto y rápidamente cubre todo el órgano. El tejido es recubierto por una masa de color verde oliva rodeado de una franja blanca cuando se trata de *Penicillium digitatum* Sacc. Si el hongo que aparece es *Penicillium italicum* Wehmer, el síntoma es similar sólo que la masa de conidios es de color azul. Puede darse también la infección simultánea de los dos patógenos. Estos hongos sobreviven saprofiticamente sobre diferentes sustratos orgánicos y fácilmente se diseminan por medio del viento, el cual remueve los numerosos conidios superficiales. Los patógenos infectan las frutas a través de las heridas producidas por lesiones mecánicas durante el manejo de las operaciones de cultivo y cosecha y en pocos días empiezan a manifestar los síntomas (Cañamás et al., 2008).

Para combatir esta enfermedad se recomienda eliminar las fuentes de inóculo en plantaciones, cajas de transporte e instalaciones donde se almacenan y comercializan los frutos (Baraona y Sancho, 1998). También, deben evitarse los daños mecánicos desde la cosecha hasta el consumo y almacenar a temperatura de 7 a 10 °C. Al momento de la cosecha es importante que los frutos estén en estado de madurez adecuado, ya que los frutos con madurez avanzada son más susceptibles a pudriciones, lo cual está asociado con la disminución en los niveles de compuestos antifúngicos que se encuentran naturalmente en el flavedo (Rodríguez et al., 2001).

Fungicidas como el imazalil, orto-fenil-fenol (ortofenil-fenato sódico) y tiabendazol tienen acción curativa, controlando infecciones preexistentes y los residuos depositados en la fruta previenen subsecuentes infecciones (Valencia-Chamorro et al., 2008). De los pocos hongos que se desarrollan, estos fungicidas retarda la esporulación. El amplio uso de estos fungicidas ha creado resistencia a los mismos en frutas cultivadas en California y España (Usual et al., 2008). El límite máximo de residuos para imazalil en frutos cítricos es de 5 mg/kg, para tiabendazol 5 mg/kg y para bifentrin en naranja dulce es de 0.05 mg/kg (Codex Alimentarius, 2010).

Para controlar estas enfermedades, disminuyendo los residuos generados y por ende los riesgos a la salud y la contaminación ambiental, se pueden utilizar métodos alternativos, como, el control biológico y la elaboración de diferentes láminas y cubiertas comestibles con preservativos (Ulloa, 2007). El recubrimiento con materiales comestibles para conservar la calidad y extender el largo de vida de anaquel de las frutas es una práctica usada hace mucho tiempo y la más común ha sido el encerado. El encerado retarda la respiración, deshidratación y senescencia de alimentos vegetales y ha sido efectivo en

cítricos y manzanas. En la actualidad, el empleo de películas comestibles se ha intensificado como una medida de conservación de frutas.

### **2.3 Proceso de pelado de las naranjas**

La demanda de frutas y vegetales mínimamente procesados ha incrementado en los últimos años, en frutas cítricas generalmente se procesan en segmentos, haciendo necesario remover la cascara, para facilitar el procesamiento (Baker, 2000). Cuando se le remueve la cáscara a los cítricos el interior de la fruta se somete a contaminación y crecimiento de microorganismos reduciendo así la vida útil del producto (Pao, 2000). Para reducir el riesgo de contaminación microbial es necesario entender los perfiles microbiales presentes naturalmente sobre las frutas frescas y en su manejo.

El proceso de pelado de la fruta puede ser realizado por los siguientes métodos (Baker, 2000):

Pelado frío. Se utiliza un cuchillo o máquinas de corte haciendo una serie de cortes, por lo general desde el extremo del vástago al extremo apical de la fruta.

Corriente caústica. La fruta se calienta con vapor o agua caliente durante varios minutos para cocinar parcialmente y aflojar la piel. La cáscara puede ser removida con la mano, un cuchillo o por máquinas y por la adición de una mezcla de hidróxido de sodio y carbonato de sodio seguida de un lavado con agua.

Infusión de enzima. La pectinasa descompone la pectina presente en la naranja, facilitando el desprendiendo de la cáscara. El alto contenido de pectina en la cáscara de frutos cítricos facilita su uso, pero es necesario utilizar vacío para ayudar a la penetración de la solución de enzima dentro de la cáscara.

Descompresión explosiva. La cáscara de la fruta es calentada a vapor por un periodo de tiempo y luego se pone a una rápida descompresión, el vacío resultante hace que la cáscara se afloje de la parte comestible.

## **2.4 Películas y coberturas comestibles**

Muchas frutas y vegetales poseen una capa natural de cera sobre la superficie, llamada cutícula (Lin y Zhao, 2007). Esta pared de cera generalmente tiene poca permeabilidad al vapor de agua. La aplicación de una cobertura externa puede mejorar esta barrera o hasta reemplazar la pared en casos donde esta ha sido removida o alterada durante manejo postcosecha o procesamiento.

Los recubrimientos comestibles son matrices biopoliméricas continuas, formados como películas y aplicados directamente sobre la superficie exterior de frutas y hortalizas frescas para mantener la calidad y prolongar su vida útil (Lin y Zhao, 2007). Los recubrimientos de ceras comestibles especialmente en los cítricos han sido utilizados en los Estados Unidos en productos frescos desde 1930 para reducir la pérdida de humedad y mejorar el brillo (McHugh et al., 2009).

Una película comestible es definida como una capa delgada o hoja sólida preformada de material comestible colocada sobre o entre componentes del alimento (McHugh et al., 2009). En adición, las películas comestibles pueden ser utilizadas como bolsas o envolturas para alimentos.

Las películas y coberturas comestibles actúan como una barrera para controlar el intercambio de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, sabor y aroma entre los componentes de los alimentos o con la atmósfera que rodea el alimento (McHugh et al.,

2009; Lin y Zhao, 2007). En adición, estas mejoran las propiedades de manipulación mecánica ayudando a: mantener la integridad estructural, funcionan como cargadores de ingredientes alimenticios funcionales, prolongan la vida útil, mejoran el valor nutricional y apariencia de los alimentos (Lin y Zhao, 2007). Para utilizar películas comestibles en alimentos, hay que considerar varios requisitos, como son: que posean las propiedades de barrera de gas y agua apropiadas, que tengan buena resistencia mecánica y adhesión, que sean seguras para el consumo humano, que presenten unas características sensoriales aceptables, que la materia prima utilizada para su elaboración sea de bajo costo, y que se puedan producir con una tecnología simple. Es importante que las películas comestibles no sean totalmente limitantes en el intercambio de gases ya que ello puede provocar ciertos desordenes fisiológicos (Ulloa et al., 2007).

La aplicación de películas comestibles en frutas y vegetales frescos ha recibido un mayor interés debido a que estas pueden servir como transportadores para varios componentes antimicrobiales que pueden reducir el riesgo de crecimiento de patógenos (McHugh et al., 2009). Conservantes, acidulantes, antioxidantes, nutrientes, y colorantes pueden ser adheridos a la película comestible para reducir el crecimiento de microorganismos en la superficie de los alimentos y mejorar sus propiedades.

Entre los agentes antimicrobianos generalmente adicionados a las coberturas comestibles se encuentran: ácidos orgánicos y sus sales, parabenos, bacteriocinas, ésteres de sacarosa, aceites esenciales, quitosano o antimicrobianos naturales (Valencia-Chamorro et al., 2008). Sales de ácido carbónico como carbonato de sodio o bicarbonato de sodio, son aditivos comunes en alimentos permitidos sin restricciones para muchas aplicaciones por las regulaciones de Europa y Norte América (Usual, 2008). Estas sales son buenas candidatas

para ser usados en combinación con otros métodos químicos, físicos y biológicos para el control integrado de enfermedades de postcosecha de cítricos.

Mientras que el microorganismo objetivo es el principal determinante en la selección de un antimicrobiano, el pH del alimento, la actividad de agua, y su composición pueden influenciar la eficacia del mismo (Franssen y Krochta, 2003). La solubilidad y polaridad del preservativo pueden determinar su compatibilidad con el sistema de cobertura y también juegan un rol importante en su estabilidad durante el procesamiento y en el lugar de almacenamiento.

#### ***2.4.1 Componentes de películas y cubiertas comestibles***

Los componentes de películas y cubiertas comestibles pueden ser divididas dentro de tres categorías: hidrocoloides, lípidos y combinados (McHugh et al., 2009). Los hidrocoloides incluyen proteínas y polisacáridos. De los polisacáridos más comúnmente utilizados en la elaboración de películas comestibles se destacan el almidón, alginato, derivados de celulosa, quitosano y agar. Las películas de proteínas se elaboran con colágeno, gelatina, gluten de trigo, maíz y zeína (Ulloa, 2007); las películas de lípidos incluyen las ceras, acilglicerol y ácidos grasos (McHugh et al., 2009); y los combinados son una combinación de ambos componentes hidrocoloides y lípidos. La elección de la formulación de la cobertura o película comestible depende en gran medida de la función deseada (biodegradabilidad, comestibilidad, apariencia estética, buenas propiedades de barrera contra oxígeno).

Las películas hechas de hidrocoloides usualmente presentan buenas propiedades mecánicas y de barrera de gases, pero pobres propiedades de barrera de vapor de agua y presentan alta permeabilidad a la humedad (Diab et al., 2001). Al contrario, las películas

compuestas de lípidos exhiben buenas propiedades de barrera del vapor de agua, pero tienen a mostrar pobre resistencia mecánica, pobre estabilidad a rancidez y alta permeabilidad al oxígeno. La combinación de estos componentes en un matriz les permite interactuar física y/o químicamente resultando así en películas con mejores propiedades. Sin embargo, la compatibilidad de los constituyentes es un aspecto importante cuando se trata de mezcla de biopolímeros y, esto podría alterar drásticamente el funcionamiento de las películas combinadas.

Debido a que la celulosa es el material estructural de la pared celular de las plantas, los derivados de celulosa poseen excelentes propiedades en la formación de películas, pero estos son costosos para uso a gran escala comercial (Lin y Zhao, 2007). Hidroxipropylmetilcelulosa (HPMC) es uno de los derivados de celulosa más comercializados. Estos materiales son no iónicos y compatibles con surfactantes, otros polisacáridos solubles en agua y sal, y pueden ser disueltos en soluciones acuosas y de etanol, produciendo películas que son solubles en agua y resistentes a grasas y aceites. Estos tipos de derivados de celulosa han sido aplicadas a algunas frutas y vegetales para proveer barrera a oxígeno, aceite, transferencia de humedad y para mejorar la adherencia.

En la elaboración de recubrimientos comestibles se requiere un plastificante, especialmente para revestimientos a base de polisacáridos y proteínas ya que la estructura de tales revestimientos es a menudo frágil y rígida debido a las interacciones extensas entre moléculas de polímero (Lin y Zhao, 2007). Los plastificantes de película funcionan debilitando las fuerzas intermoleculares entre las cadenas de polímeros adyacentes (Gounga et al., 2007). Esto resulta en un incremento en la extensibilidad y flexibilidad de la película con un decrecimiento en elasticidad, resistencia mecánica, y propiedades de barrera de la película. El glicerol, monoglicérido acetilado, polietilenglicol y sacarosa son plastificantes

comunes incorporados en la matriz polimérica de recubrimiento para disminuir la temperatura de transición vítrea de los polímeros y aumentar la flexibilidad del recubrimiento (Lin y Zhao, 2007). Los plastificantes son generalmente higroscópicos, por lo que atraen moléculas de agua; además de mejorar las propiedades mecánicas, el plastificante también afecta la resistencia de los revestimientos a la permeación de gases y vapores, donde los plastificantes hidrófilos por lo general aumentan la permeabilidad al agua de los recubrimientos.

El glicerol ha sido incorporado en la mayoría de las películas de hidrocoloides (Gounga et al., 2007). Este compuesto, es un plastificante de alto punto de ebullición, soluble en agua, polar, no volátil y miscible en proteína. Estas propiedades hacen del glicerol un plastificante adecuado para usar con un polímero compatible soluble en agua.

NatureSeal<sup>®</sup> es una cobertura comercial que contiene vitaminas y minerales (Wong, 2005). Se ha usado en formulaciones para evitar el pardeamiento en manzanas cortadas (Toivonen, 2008). La cantidad que se usa depende del peso y del producto a tratar. Esta cobertura es fácil de realizar y permite la adición de sustancias en su formulación para mejorar las propiedades de barrera y alargar la vida útil de frutas mínimamente procesadas.

#### ***2.4.2 Preparación y aplicación de películas y coberturas comestibles***

Los recubrimientos comestibles son preparados como soluciones y emulsiones de proteínas, polisacáridos y lípidos. Son aplicadas sobre la superficie por diferentes procedimientos mecánicos: inmersión, pulverización o por deposición electrostática (McHugh et al., 2009)

Las características químicas y físicas de la solución del recubrimiento tanto como el espesor, homogeneidad y adhesividad del mismo dependen de la morfología y estructura de

la superficie de las frutas o vegetales (McHugh et al., 2009). La presencia de poros, tricomas y ceras naturales en la cáscara afectan las propiedades de permeabilidad de oxígeno, dióxido de carbono y agua del recubrimiento e influyen en la capacidad para mantener la calidad de frescura en los productos.

### ***2.4.3 Ventajas y desventajas del uso de películas y coberturas comestibles***

Las coberturas comestibles tienen ventajas únicas sobre las películas sintéticas usadas para envolver alimentos (Franssen y Krochta, 2003). La cobertura es aplicada o hecha directamente sobre los alimentos después de su manufactura, a diferencia de una película de embalaje. Además, una cobertura comestible tiene una íntima y continúa asociación con el alimento hasta su consumo; esto es particularmente ventajoso para coberturas que contienen agentes antimicrobianos. Una de las desventajas de las películas se presenta durante el proceso de extrucción ya que, durante la formación de las mismas se puede destruir el agente antimicrobiano. El empaque de películas sintéticas puede ser eliminado por el consumidor mientras que las películas comestibles no son removidas, maximizando así la vida útil del producto. Además, se pueden usar plastificantes y/o emulsificantes para mejorar el proceso y las propiedades de la cobertura.

Las coberturas comestibles que contienen agentes antimicrobianos tienen la capacidad de controlar la difusión del preservativo (Franssen y Krochta, 2003). La adición directa de aditivos antimicrobianos dentro de los alimentos reduce su poder y efectividad, debido a la rápida difusión, dilución y reacción con los componentes de los alimentos (McHugh et al., 2009). El uso de películas con agentes antimicrobianos podría ser más efectivo porque en éstas la migración de los agentes desde la superficie de la película hacia la superficie de los alimentos es selectiva y gradual, por lo tanto se mantienen disponibles a la concentración

deseada por un amplio periodo de tiempo. La difusión de los antimicrobiales incorporados puede ser controlado por la composición de la película (proporción del material base de la película plastificante) y/o pH de la misma (Han, 2007).

A pesar de las ventajas y el aumento en la investigación sobre coberturas y películas comestibles, la comercialización no ha progresado significativamente, debido a la necesidad de desarrollar metodologías más eficientes para la producción masiva de películas comestibles (McHugh et al., 2009). Es necesario asegurar la calidad de los materiales de partida (materia prima), así como una buena higiene durante el moldeo y secado, para garantizar la inocuidad de los alimentos.

El desarrollo de propiedades sensoriales no deseables es un efecto adverso en los productos revestidos (Lin y Zhao, 2007). Sabores desagradables pueden ocurrir debido a los materiales del recubrimiento o a la respiración anaerobia; en adición, superficies no uniformes y pegajosas pueden aparecer haciendo el producto poco atractivo para los consumidores.

## **2.5 Parámetros de calidad**

Durante el proceso de maduración de las frutas, estas sufren cambios en la composición química, como hidrólisis de polisacáridos, cambios en los ácidos orgánicos, aumento en el aroma y cambios en la pigmentación (Agustí, 2003). Estos cambios hacen que la fruta pierda atributos de calidad (Ladaniya, 2008). La calidad se define como la combinación de características o atributos que determinan el grado de aceptación por el consumidor; está es medida según parámetros físicos, químicos y fisiológicos. En adición, se determina calidad microbial. Entre los parámetros físicos están: firmeza, color, el

tamaño, peso y volumen de la fruta, espesor de la corteza, porcentaje de jugo, sólidos solubles totales y gravedad específica. Entre los parámetros químicos se encuentra acidez titulable, contenido de vitamina C, contenido de azúcar y pH. Para los parámetros fisiológicos se determina la tasa de respiración, de producción de etileno y de reacción enzimática, contenido de gases y de etileno. En adicción, la calidad puede ser medida subjetivamente por medio de atributos sensoriales, como la apariencia externa de la fruta.

### ***2.5.1 Apariencia externa***

La evaluación de la apariencia externa para frutas frescas y mínimamente procesadas incluye observaciones de defectos de la piel, color de la corteza, frescura de la fruta, arrugas y manchas en la cáscara causadas por la senescencia natural o por el crecimiento de microorganismos (Lin y Zhao, 2007). Otros aspectos de apariencia incluyen inconsistencias en tamaño y dimensión y pérdida de brillo de la superficie. El color es importante en frutas que han sido cortadas, ya que puede ocurrir oxidación y pardeamiento enzimático y pérdida de color debido a que ocurre una mayor exposición al oxígeno. La apariencia es el criterio más importante y que el consumidor utiliza para juzgar la calidad de la fruta en el mercado (Ladaniya, 2008).

### ***2.5.2 Textura***

En términos mecánicos la textura, se trata de un fenómeno que, mediante contracción muscular, causa una deformación de la materia degustada. La textura es una propiedad extraordinariamente compleja, ya que en algunos casos se llega a distinguir características físicas tales como la viscosidad de los fluidos newtonianos y la consistencia de los no-newtonianos (Sancho et al., 1999).

La dificultad en las medidas de textura ha obligado a diseñar aparatos complejos (texturometros) que permiten estimar objetivamente esta característica y que se basan en la medida de aspectos tan diferentes como la deformación, compresión, resistencia a la tracción y fuerza de corte o de cizalla (Sancho et al., 1999).

La deformación se puede entender como la fuerza que se aplica al cuerpo alimenticio para cambiar su forma sin llegar a partirlo (Sancho et al., 1999). La compresión reduce su volumen sin llegar a dividirlo. La fuerza de corte permite dividir el alimento sin cambiar su forma. Estos tres conceptos aplicados a un alimento son casi imposibles de separar, ya que, en el momento de corte hay también una deformación y compresión, aunque luego se recupera su forma.

La firmeza de un producto es el resultado de una combinación de diferentes fuentes generadoras de firmeza, por ejemplo: cuando la turgencia es el mayor contribuidor de la firmeza, los productos son suaves y jugosos; cuando las fuerzas de pectina son las principales en proporcionar la firmeza, los productos son crujientes y jugosos; cuando las fuerzas de la pared celular dominan, los productos son esencialmente arenosos y secos y; cuando los tejidos vasculares son importantes, los productos son esencialmente duros y fibrosos (Steele, 2004). Esta es probablemente la razón de un pobre entendimiento de lo que causa las variaciones de la firmeza y consecuentemente variaciones en el mantenimiento de la calidad. La firmeza es afectada por factores como: estrés hídrico, radiación solar y temperatura durante crecimiento, nutrición de nitrógeno, fósforo, potasio y especialmente calcio y tamaño de la fruta, madurez y contenido de fibra.

### **2.5.3 Color**

El color es una propiedad intrínseca la cual caracteriza la identidad y calidad de los alimentos (Horst y Carmen, 2008). Los consumidores se sienten atraídos o disgustados por el color de un producto alimenticio, llegando a una conclusión sobre la frescura y calidad de los mismos. Por lo tanto, el color es indirectamente un atributo de calidad, que está fuertemente relacionado con la madurez fisiológica y puede ser medido no destructivamente (Steele, 2004). El color de muchos productos cambia según ocurre la maduración, de verde a rojo, o de verde a amarillo.

El color se caracteriza por tres parámetros: °hue (tono), chroma (saturación) y ligereza (luminosidad). °Hue es el tono o matriz que se refiere a la característica que permite identificar o clasificar un color como el rojo, verde y azul (Sancho et al., 1999). Este depende sobre todo de la longitud de onda dominante de la luz. Chroma representa la saturación o pureza, describe el grado o la intensidad con la que un color se separa del gris neutro y se acerca a un color puro del espectro. La pureza (Choma) de cualquier color del espectro es del 100%, mientras que la pureza del blanco es cero, es expresada como la intensidad de color en comparación con su propio brillo. La ligereza se relaciona con las connotaciones de ligero y oscuro, va desde el blanco (máxima luminosidad - 100) hasta el negro (mínima luminosidad - 0).

### **2.5.4 Acidez titulable**

Los ácidos orgánicos tienen un grupo carboxilo (COOH) en estado libre, por lo que presentan propiedades ácidas (Ladaniya, 2008). Son solubles en agua y aportan el sabor ácido característico en frutas. La acidez del jugo de la mayor parte de los frutos cítricos se debe, en gran medida al ácido cítrico, el cual es medido por acidez titulable, que se define

como la suma de todos los ácidos presentes y consiste en la neutralización del jugo de la fruta con una base, hidróxido de sodio (NaOH 0.1N).

Los ácidos libres aumentan en el fruto durante las primeras etapas de desarrollo y permanecen aproximadamente a una concentración constante hasta la maduración (Agustí, 2003). Durante la maduración este contenido desciende como consecuencia de la dilución provocada por el aumento de tamaño del fruto y de su metabolización. La relación entre la concentración de ácidos y los sólidos solubles totales, es utilizada para determinar el índice de madurez, el cual se utiliza como parámetro para determinar su madurez comercial.

### **2.5.5 Vitamina C.**

La vitamina C o ácido ascórbico es un nutriente esencial soluble en agua, sintetizada por las plantas a partir de varios precursores (Sebastian et al., 2001). Este juega un papel importante, durante la fotosíntesis, el crecimiento, el desarrollo y durante las etapas en las cuales las plantas se encuentran bajo estrés. Se encuentra principalmente en frutas y vegetales como: cítricos, papaya, mango, kiwi, melón, fresas, pimientos, tomates, patata, brócoli y verduras de hojas verde. Los cítricos son los más grandes proveedores de vitamina C a la dieta humana. La deficiencia de vitamina C resulta en escorbuto, una enfermedad que actualmente es poco común, pero que se presentó especialmente en marineros y militares europeos con resultados mortales, especialmente cuando no había abastecimiento de frutas y vegetales.

El ácido L-ascorbico es la forma activa de la vitamina C, esta forma tiene la propiedad de donar electrones, lo cual hace que sea un agente reductor o antioxidante que presenta efectos quimiopreventivos (Ki Won et al., 2005). La vitamina C se ha utilizado para la prevención de enfermedades crónicas producidas por estrés oxidativo tales como cáncer,

enfermedades cardiovasculares, hipertensión, apoplejía, y trastornos neurodegenerativos. En 1997, el Fondo Mundial de Investigación del Cáncer y el Instituto Americano para la Investigación del Cáncer afirmaron que la vitamina C puede reducir el riesgo de cáncer de estómago, boca, faringe, esófago, pulmón, páncreas y de cuello uterino. Otras funciones en las cuales la vitamina C juega un rol importante es en la protección de la piel y como cofactor en la formación de colágeno y la síntesis de ceramida, modula el metabolismo de hierro intracelular y afecta la expresión de genes relacionados con el hierro en los fibroblastos de la piel humana (Duarte et al., 2009).

La Ingesta Diaria Recomendada (RDA) de vitamina C para adultos se fijó inicialmente en 60 mg/día, esta dosis aumento a 90 mg/día en el 2000 (Zajac y Kucharski, 2009). La dosis diaria recomendada de vitamina C varían mucho por personas, según el peso, edad, sexo y condición de salud del individuo.

La concentración de vitamina C en los alimentos puede ser afectada por muchos factores antes y después de la cosecha (Terry, 2010). Antes de la cosecha puede ser influenciada por el cultivar, el clima, la práctica durante la producción, la posición de la fruta en el árbol y el grado de madurez. El ácido ascórbico es susceptible a la oxidación química y enzimática durante el procesamiento, almacenamiento y la cocción de los alimentos (Ball, 2005). Algunos tratamientos postcosecha tales como la irradiación y refrigeración pueden reducir considerablemente la pérdida de vitamina C en algunos vegetales. Se ha reportado que la pérdida de vitamina C aumenta con aumentos en la temperatura de almacenamiento (Terry, 2010).

### **2.5.6 Sólidos solubles totales °Brix**

El °Brix mide mayormente el contenido de azúcar, los cuales aumentan a medida que ocurre la maduración de las fruta (Barreiro y Sandoval, 2006). En zumos de cítricos, del 75 al 80% de los sólidos solubles totales son azúcares; siendo la sacarosa, glucosa y fructosa son los más abundantes y se encuentran en proporciones de 2:1:1 (Agustí, 2003).

### **2.5.7 Actividad de agua ( $a_w$ )**

La actividad de agua es un valor medible para todos los alimentos, este valor se expresa como una fracción decimal de 1.00 cifras significativas y se define como (Steele, 2004):

$$a_w = \frac{P_s}{P_w} \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde:

$P_s$  = es la presión de vapor de un producto o solución

$P_w$  = es la presión de vapor del agua pura

La actividad de agua también puede ser definida como una medida del agua disponible en un sistema para apoyar las reacciones biológicas y químicas (Potter y Hotchkiss, 1995). La actividad de agua afecta el crecimiento de microorganismos, por ejemplo, las bacterias requieren actividad de agua en el rango de 0.90 a 1.00 y los hongos pueden crecer a valores cerca de 0.80. En adicción, la actividad de agua afecta otras propiedades de los alimentos, incluyendo reactividad y equilibrio químico, actividad enzimática, textura, color y estabilidad de nutrientes.

### **2.5.8 pH.**

El pH mide la presencia de iones de hidrógeno ( $H^+$ ) (Barreiro y Sandoval, 2006). Los microorganismos presentan pH óptimos, máximos y mínimos de crecimiento; por debajo de estos valores los microorganismos no se desarrollan pero pueden quedar viables. Cada tipo de microorganismo crece mejor a un pH dado. Por ejemplo, las bacterias crecen mejor en pH de 6 a 7, mientras que los hongos crecen a pH más bajos de 2 a 3 y las levaduras crecen a pH intermedios. El pH en jugos cítricos da una idea sobre la acidez de la fruta y puede ser una manera de expresarla (Ladaniya, 2008), además puede servir para predecir los tipos de microorganismos que pueden crecer en el mismo.

### **2.5.9 Análisis microbiológico**

Durante las etapas de procesamiento mínimo, la protección natural de frutas es generalmente removida y por lo tanto, se vuelven altamente susceptibles al deterioro microbiano (Oms-Oliu et al., 2010). Se presentan cambios en la población microbiana en el empaque de productos frescos cortados. Condiciones de alta humedad dentro del empaque y la presencia de mayor área superficial proporciona una rica fuente de nutrientes, creando un ambiente propicio para el crecimiento de microorganismos. El tipo y tasa de crecimiento de microorganismos depende en gran manera de la temperatura del producto con el tiempo, humedad relativa, atmósfera y factores intrínsecos como el pH, contenido de agua y nutrientes.

Debido al pH bajo de las frutas, la flora típica son hongos y levaduras (Oms-Oliu et al., 2010). Sin embargo, el consumo de frutas frescas cortadas ha sido asociado con enfermedades transmitidas por alimentos debido algunas bacterias patogénicas como son: *Listeria monocytogene*, *Salmonella ssp.*, *Shigella spp.*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia*

*enterocolitica*, *Staphylococcus aureus* y algunas cepas patógenas de *Escherichia coli* pueden estar presentes en frutas frescas y, consecuentemente, en ensaladas a base de frutas. Regulaciones específicas para productos cortados frescos están todavía en desarrollo, aunque Estados Unidos y países Europeos ya tienen reglamentos pertinentes. La mayoría de ellos limitan el conteo de microorganismos aerobios a  $10^{-6}$  CFU/g como el límite de la fecha de caducidad del producto.

Los principales mecanismos inhibitorios de microorganismos en el procesamiento mínimo de frutas y verduras son: incrementar la concentración de  $H^+$  (bajar el pH); presencia de ácidos orgánicos débiles, como son sorbato de potasio y benzoato y reducción de la actividad de agua ( $a_w$ ) (Gould, 2000).

La acción de los ácidos orgánicos débiles depende de la solubilidad de los ácidos en lípidos, en particular, en sus formas protonadas, no disociadas, que pueden atravesar fácilmente la membrana celular y entrar en el citoplasma (Gould, 2000). La forma no disociada es favorecida por valores bajos de pH, predominante en frutas y vegetales mínimamente preservados. Un mecanismo del modo de acción de los ácidos débiles, es tener un equilibrio a través de la membrana de la célula, que tiene un pH más alto que tiene el medio ambiente externo, por lo que la entrega de protones y aniones conservantes al interior de la célula. Numerosos estudios han indicado que, como consecuencia de esto, los ácidos conservantes pueden llevar a cabo la acidificación del citoplasma y que esto, tal vez junto con los efectos específicos del incremento de las concentraciones de anión libre, conduce a la inhibición del crecimiento.

## **3. Materiales y Métodos**

### **3.1 Diseño experimental**

El diseño experimental fue un factorial de 5x6 en un arreglo de bloques completos aleatorizados, con cuatro repeticiones (corridas). Cada corrida constó de 5 tratamientos (NatureSeal<sup>®</sup> (NS), NatureSeal<sup>®</sup> con 2% sorbato de potasio (NS+SP), hidroxipropylmetilcelulosa con 50% glicerol (HPMC), hidroxipropylmetilcelulosa con 50% de glicerol y 2% de sorbato de potasio (HPMC+SP) y un control (C) y se evaluó en 6 tiempos (0, 3, 7, 14, 21 y 28 días).

### **3.2 Obtención de las naranja**

Las muestras de naranjas peladas variedad ‘Valencia’ se obtuvieron del Núcleo de Cítricas de Puerto Rico, provenientes de República Dominicana y Puerto Rico. Las naranjas fueron lavadas, desinfectadas y peladas en las instalaciones del Núcleo de Cítricas de Puerto Rico, luego se transportaron en cestas hasta la Planta Piloto en el edificio Alfredo Ramírez de Orellana y Rosell (CITAI) del Recinto Universitario de Mayagüez Universidad de Puerto Rico, donde inmediatamente se sometieron a los diferentes tratamientos.

Para cada bloque se utilizaron 165 naranjas peladas, de las cuales se escogieron al azar 33 por tratamiento. La elaboración y aplicación de las películas comestibles a las naranjas peladas se llevaron a cabo en la Planta Piloto de CITAI. En cada tiempo de muestreo para cada tratamiento se seleccionaron al azar dos naranjas una para realizar el análisis microbiológico los cuales se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos (CTA-219) y con la otra se determinó la pérdida de peso y textura. Luego se

partió por la mitad y se determinó el color de la parte interna. Finalmente se exprimó usando un exprimidor eléctrico, el jugo se usó para los diferentes análisis químicos. Los análisis de textura y color se realizaron en el Laboratorio de Sensorial ubicado en CITAI, la pérdida de peso y los análisis químicos fueron realizados en el Laboratorio de Química de Alimentos (CTA-220).

### **3.3 Elaboración de películas comestibles**

#### **3.3.1 Películas de NatureSeal<sup>®</sup>**

Se preparó una solución de NatureSeal<sup>®</sup> al 9% disolviendo 90 g de NatureSeal<sup>®</sup> en 910 ml de agua destilada (Rôble et al., 2009). Para la película de NatureSeal<sup>®</sup> con 2% de sorbato de potasio, se disolvió 90 g de NatureSeal<sup>®</sup> en 490 ml de agua destilada y se mezcló con 20 g de sorbato de potasio (99% de pureza) disuelto en 400 ml de agua destilada. Para evitar la precipitación del sorbato de potasio el pH de la solución se ajustó a 6 con una solución de ácido ascórbico al 1%. Las soluciones se prepararon en recipientes previamente desinfectados a temperatura ambiente. Todos los reactivos utilizados fueron grado alimenticio.

#### **3.3.2 Películas de hidroxipropilmetilcelulosa**

Se preparó una solución de hidroxipropilmetilcelulosa al 5% y glicerol al 2.5%. Para esto se tomó 50 g de hidroxipropilmetilcelulosa (Methocel<sup>™</sup> E19) y 25 g de glicerol (99 +% Sintético) y se disolvieron en 925 ml de agua destilada. Para la película de hidroxipropilmetilcelulosa que contenía sorbato de potasio se disolvió 50 g de hidroxipropilmetilcelulosa (Methocel<sup>™</sup> E19), 25 g de glicerol (99 +% Sintético) y 20 g de

sorbato de potasio (99% de pureza) en 905 ml de agua destilada. Las soluciones se prepararon en un mátraz erlenmeyer de 1.0 L a una temperatura de  $70 \pm 4^{\circ}\text{C}$ , con agitación contante. Cuando la solución estuvo homogénea se dejó enfriar hasta una temperatura aproximada de  $25^{\circ}\text{C}$ .

### ***3.3.3 Aplicación de la película.***

Las naranjas se sumergieron en cada solución por 2 min, se dejaron secar al ambiente, se identificaron y pesaron. Luego se colocaron en cestas debidamente rotuladas y previamente desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio a 200 ppm. Las muestras se almacenaron en refrigeración a  $4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  por 4 semanas.

## **3.4 Análisis microbiológico**

El análisis microbiológico se realizó para determinar la presencia de hongos y levaduras y para aerobios totales. Con este propósito se utilizaron los medios PDA (Potato Dextrose Agar) y PCA (Plate Count Agar), respectivamente. Los análisis se llevaron a cabo siguiendo los procedimientos establecidos en el Bacteriological Analytical Manual (BAM, por sus siglas en inglés). Los medios y las soluciones utilizadas fueron previamente esterilizados en una autoclave a una temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$  por 15 min. Todos los muestreos se hicieron por duplicado al lado de un mechero.

Los medios PCA y PDA fueron preparados según las indicaciones del fabricante. Al medio de PDA, se le ajustó el pH a  $3.5 \pm 0.1$  con una solución de ácido tartárico al 10 %, después de esterilizado a una temperatura aproximada de  $40^{\circ}\text{C}$ .

La muestra seleccionada para el muestreo microbiológico se sumergió dentro de una bolsa estéril que contenía 225 ml de agua peptonada 0.1 % durante 2 min. Luego de la solución de enjuague se tomó una muestra de 10.0 ml y se transfirió a botellas de dilución que contenían 90 ml de agua peptonada al 0.1 %. Se realizaron diluciones seriadas desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-6}$ . Para la inoculación de los platos, de cada dilución se tomó 1.0 ml para llevar a cabo estriado en los platos de PDA y PCA. Los platos de PDA se incubaron a  $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  por 5 días y los de PCA se incubaron a  $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  por  $48\text{ h} \pm 2\text{ h}$ .

Después del periodo de incubación se realizó el conteo de colonias, se utilizaron platos que contenían entre 25 y 250 CFU (Colony Forming Units) para el conteo de PCA y entre 10 y 150 CFU para el conteo de PDA. Los resultados del conteo total en cada plato se realizaron utilizando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2) \times d]} \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde:

N = número de colonias por g de producto

$\sum C$  = suma de todas las colonias en todos los platos donde hubo conteo

$n_1$  = número de platos en la primera dilución donde hubo conteo

$n_2$  = número de platos en la segunda dilución donde hubo conteo

d = dilución donde se obtuvo el primer conteo

### **3.5 Pérdida de peso**

La pérdida de peso fue determinada siguiendo el procedimiento descrito por Materano et al., (2007). Se tomó una naranja al azar de cada tratamiento y utilizando una balanza se le

determinó el peso a temperatura ambiente. Los resultados de pérdida de peso fueron obtenidos utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ *Peso perdido* } = \frac{\text{Peso inicial (g)} - \text{Peso final (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} * 100 \quad \text{Ecuación 3.}$$

### **3.6 Apariencia**

La apariencia se determinó por medio de fotografías y observaciones de la superficie en cada tiempo de muestreo.

### **3.7 Firmeza**

La firmeza se determinó mediante la prueba de compresión con un analizador de textura TA-XT2, previamente calibrado. Para la realización de la prueba se utilizó un “probe” TA-60, el cual es un cilindro de 10 mm de diámetro, con punta redonda. La fuerza aplicada para cada determinación fue de 2000 g, la velocidad del “probe” antes de la prueba fue de 5.00 mm/s, durante la prueba fue de 2 mm/s y después retornaba con una velocidad de 10.00 mm/s. Se tomaron como mínimo 3 mediciones por tratamiento, las cuales se reportaron como distancia de compresión en mm.

### **3.8 Color**

El color interno de las naranjas se obtuvo utilizando el colorímetro MiniScan XE, previamente calibrado, con platos de porcelana negro y blanco. Cada naranja se cortó por la mitad en sentido ecuatorial y las mediciones se realizaron en tres lugares diferentes. Se registraron las variables L, \*a y \*b, donde L representa luminosidad, con valores que van

desde 0 (negro) hasta 100 (blanco). Los parámetros \*a y \*b se utilizaron para encontrar el Choma (saturación) y °Hue (tono) (McGuire, 1992). Los valores de Choma y °Hue fueron calculados en infostat utilizando las siguientes formulas:

$$\text{Chroma}=\text{SQRT}((a*a)+(b*b)) \quad \text{Ecuación 4.}$$

$$\text{°Hue}=(\text{ARCOTAN}(b)/(a)/6.2832)*360 \quad \text{Ecuación 5.}$$

Donde:

a= verde/rojo

b= azul/amarrillo

SQRT= raíz cuadrada

ARCOTAN= arcotangente

### **3.9 Análisis químico**

#### **3.9.1 pH**

Las determinaciones de pH fueron realizadas con un metro de pH (Sartorius) siguiendo el método de la AOAC 981.12 (1997). El metro de pH se calibró con soluciones amortiguadoras de pH de 4.0, 7.0 y 10.0, a 25 °C. El pH fue determinado directamente en una muestra de 20 ml del jugo de naranja.

#### **3.9.2 Ácidez titulable**

El porcentaje de ácidez titulable se determinó según método oficial 939.05 de la AOAC (2000). Se tomó una alícuota de 10 ml de jugo (el cual fue pesado) y luego se diluyó en 50 ml de agua destilada. Para determinar el punto final de la titulación se agregó de 2 a 3 gotas

del indicador (fenolftaleína 2 %). La titulación se realizó con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) estandarizada (con KHP) a una concentración promedio de 0.089 N.

Las determinaciones se hicieron por triplicado para cada muestra. Los resultados se expresaron como porcentaje de acidez, definido en la siguiente manera.

$$\% \text{ acidez} = \frac{\text{g ácido X}}{100 \text{ ml muestra}} \quad \text{Ecuación} \quad 6.$$
$$\% \text{ acidez} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times \text{meq}_{\text{ácido X}} \times 100}{V}$$

Donde:

$V_{\text{NaOH}}$ : volumen de NaOH usado para la titulación

$N_{\text{NaOH}}$ : normalidad del NaOH

$\text{meq}_{\text{ácido X}}$ : miliequivalentes de ácido

El valor de miliequivalentes de base a ácido utilizado para los cálculos de acidez titulable fue de 0.064 (el cual corresponde al ácido cítrico).

### 3.9.3 Ácido ascórbico

El contenido de vitamina C o ácido ascórbico se determinó según el método oficial 967.21 de la AOAC (1998). Para este propósito se tomó una alícuota de 2.00 ml de jugo de naranja (a la cual se le determinó su masa), se transfirió cuantitativamente a un matraz erlenmeyer de 50 ml. Se le agregaron 5.00 ml de una solución de ácido metafosfórico y ácido acético y 8.00 ml de agua destilada a la muestra y se procedió a titular con una solución de tinte 2,6-dicloroindofenol, previamente estandarizada.

Para la estandarización del tinte se tomó 2.00 ml de una solución estándar de ácido ascórbico 1mg/ml y se transfirió a un matraz erlenmeyer de 50 ml. A los 2.00 ml se

adicionó 5.00 ml de una solución de ácido metafosfórico y ácido acético y 8.00 ml de agua destilada. Simultáneamente se tituló un blanco, donde se adicionó 7.00 ml de una solución de ácido metafosfórico y ácido acético y 8.00 ml de agua destilada.

El ácido ascórbico de la muestra reduce el tinte indicador, 2,6-dicloroindofenol a una solución incolora, hasta llegar al punto final de la titulación (cambio de color a rosa pálido que persistió por 5 s). Las determinaciones fueron realizadas por triplicado para cada muestra y la concentración de ácido ascórbico se determinó con la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{mg Ácido ascórbico}}{\text{g muestra}} = (\mathbf{X} - \mathbf{B}) \times \left(\frac{\mathbf{F}}{\mathbf{E}}\right) \times \left(\frac{\mathbf{V}}{\mathbf{Y}}\right) \quad \text{Ecuación 7.}$$

Donde:

X: promedio del volumen (ml) gastados para la titulación de la muestra

B: promedio del volumen (ml) gastados para la titulación del blanco

F: mg de ácido ascórbico equivalente en 1 ml de la solución estándar indofenol

E: peso de la muestra (g)

V: volumen inicial de la solución ensayo

Y: volumen de la muestra de la alícuota titulada.

#### **3.9.4 Sólidos solubles totales (SST)**

Los sólidos solubles totales se determinaron según el método oficial AOAC 932.14 (1998) utilizando un refractómetro digital a 25 °C. La muestra de jugo de naranja fue colocada con un gotero en el refractómetro previamente calibrado con agua destilada. Los

resultados se expresaron como °Brix. La determinación de sólidos solubles totales se realizó por triplicado para cada muestra.

### ***3.9.5 Actividad de agua***

La actividad de agua se determinó con un hidrómetro de punto de rocío a 25 °C, Aqua Lab CX-2. Se tomó una muestra de jugo de naranja y se colocó en un recipiente de plástico hasta la mitad del recipiente. Antes de cada lectura, el equipo fue calibrado con un estándar de  $a_w = 0.9840$ .

### **3.10 Análisis estadístico**

Para detectar interacciones y diferencias significativas entre los factores para las diferentes variables se realizó un análisis de varianza. Las variables independientes fueron: pH, acidez titulable, ácido ascórbico, actividad de agua, color, sólidos solubles totales, firmeza, pérdida de peso, recuento de aerobios totales y recuento de hongos y levaduras. Se utilizó la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) para comparar medias de tratamientos.

## 4. Resultados y Discusión

### 4.1 Análisis microbiológico

Los recuentos de bacterias aerobias (PCA  $\log_{10}$  CFU/g) y los recuentos de hongos y levaduras (PDA  $\log_{10}$  UFC/g) varió entre los tratamientos (Tabla 2). Estas diferencias fueron consistentes en el tiempo, donde no se encontró diferencias (Tabla 3). En el caso de bacterias aerobias, los tratamientos no presentaron diferencia respecto al control (C). Las frutas tratadas con NS+SP y HPMC+SP presentaron menor recuento de bacterias aerobias que las tratadas con HPMC. La adición de SP en las películas comestibles de NS no tuvo efecto significativo en el recuento de bacterias aerobias. Los efectos de tratamientos sobre el recuento de hongos y levaduras fueron similares a lo observado en el recuento de bacterias aerobias. Sin embargo, las frutas tratadas con HPMC presentaron recuentos de hongos y levaduras significativamente más altos que los demás tratamientos. El efecto de SP en las películas de NS y HPMC resultó en un bajo recuento de hongos y levaduras.

**Tabla 2. Recuento de bacterias aerobias y hongos y levaduras en naranjas peladas con los diferentes tratamientos.**

<b>Tratamiento</b>	<b>PCA <math>\log_{10}</math> CFU/g.</b>	<b>PDA <math>\log_{10}</math> CFU/g.</b>
NS	4.75 ab	4.25 b
HPMC	5.31 b	4.94 c
NS+SP	4.29 a	3.37 a
HPMC+SP	4.31 a	3.45 a
C	4.78 ab	4.10 b
D.E.	0.8443	0.7495

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de diferencia significativa de Tukey.

NS= NatureSeal<sup>®</sup>, HPMC= hidroxipropylmetilcelulosa con 2.5% de glicerol, SP= sorbato de potasio, C= control.

CFU= Colony Forming Units (unidades formadoras de colonias)

PDA= Potato Dextrose Agar

PCA= Plate Count Agar

**Tabla 3. Recuento de bacterias aerobias y hongos y levaduras en naranjas peladas en el tiempo.**

<b>Tiempo (Día)</b>	<b>PCA log<sub>10</sub> CFU/g.</b>	<b>PDA log<sub>10</sub> CFU/g.</b>
0	4.24 a	3.69 a
3	4.65 a	3.79 a
7	4.76 a	4.05 a
14	4.69 a	4.20 a
21	4.92 a	4.11 a
28	4.86 a	4.29 a
D.E	0.8443	0.7495

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de diferencia significativa de Tukey.

CFU= Colony Forming Units (unidades formadoras de colonias)

PDA= Potato Dextrose Agar

PCA= Plate Count Agar

El tratamiento de HPMC tendió a presentar mayor carga microbiana con respecto a los otros tratamientos y el control (C), aunque en el recuento de bacterias aerobias no fue significativo. Una posible explicación a esto es que debido a que en este tratamiento el proceso de secado de la película comestible tardó más tiempo con respecto a los demás tratamientos, las muestras pudieron haber estado expuestas a una contaminación microbiana del ambiente. El tiempo de secado de la película comestible es uno de los puntos críticos de control durante el procesamiento (McHugh et al., 2009). El material de la película comestible pudo ser fuente de energía para los microorganismos presentes en la muestra, ya que es a base de celulosa.

En general, en todos los tratamientos las medias de los conteos de hongos y levaduras no excedieron el límite ( $6 \log_{10}$  CFU/g) para determinar el largo de vida útil en frutas estipulado por el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos IFST (1999) citado por (Rojas-Graü et al., 2007).

La efectividad de SP en reducir el crecimiento de bacterias aerobias y de hongos y levaduras ha sido reportada en varios estudios. García et al. (1998), observaron una reducción en el crecimiento microbiano y prolongación en el largo de vida útil de fresas,

usando cobertura a base de almidón con sorbato de potasio. En adición, Valencia-Chamorro et al. (2008) observaron una actividad inhibitoria de sorbato de potasio contra *P. digitatum* y *P. italicum* al utilizar una película comestible de HPMC-lípido. La investigación actual confirma las observaciones sobre la efectividad de SP para mejorar la seguridad microbial. En general, los tratamientos NS+SP y HPMC+SP ocasionaron una disminución en el crecimiento de bacterias aerobias y de hongos y levaduras, aunque en el recuento de bacterias aerobias no hubo diferencias con NS y el control. El sorbato de potasio es una sustancia conocida como GRAS (“Generally Recognized as Safe”), la cual es ampliamente utilizada en alimentos para prevenir el crecimiento de hongos y así extender el largo de vida útil (Valencia-Chamorro et al., 2008). Este compuesto presenta buena solubilidad en agua, lo cual facilita su uso en soluciones acuosas (Montesinos-Herrero et al., 2009). Su efectividad mejora cuando se combina con calor. La acción antimicrobiana de sorbatos depende del pH, siendo más efectivo a pH bajos, principalmente en un rango de 3 a 6.5, aunque pueden ser efectivos a pH tan altos como 7 (Montesinos-Herrero et al., 2009; Valencia-Chamorro et al., 2008). El pH bajo permite que la molécula este en su estado no disociado facilitando permear la membrana plasmática, posteriormente al encontrarse con un pH más alto en el interior de la célula, la molécula se disocia dando como resultado la liberación de aniones y protones que se acumulan dentro de la célula. Varios mecanismos para la inhibición del crecimiento de microorganismos por la acción de ácidos débiles han sido planteados entre los que se incluyen: disrupción de la membrana, la inhibición de reacciones metabólicas esenciales, la tensión en la homeostasis del pH intracelular y la acumulación de aniones tóxicos (Brul y Coote, 1999). Se ha propuesto que la acción actual inhibitoria de preservativos de ácidos débiles podría ser debido a la respuesta de estrés introducido, el cual consume mucha energía para intentar restaurar la homeostasis,

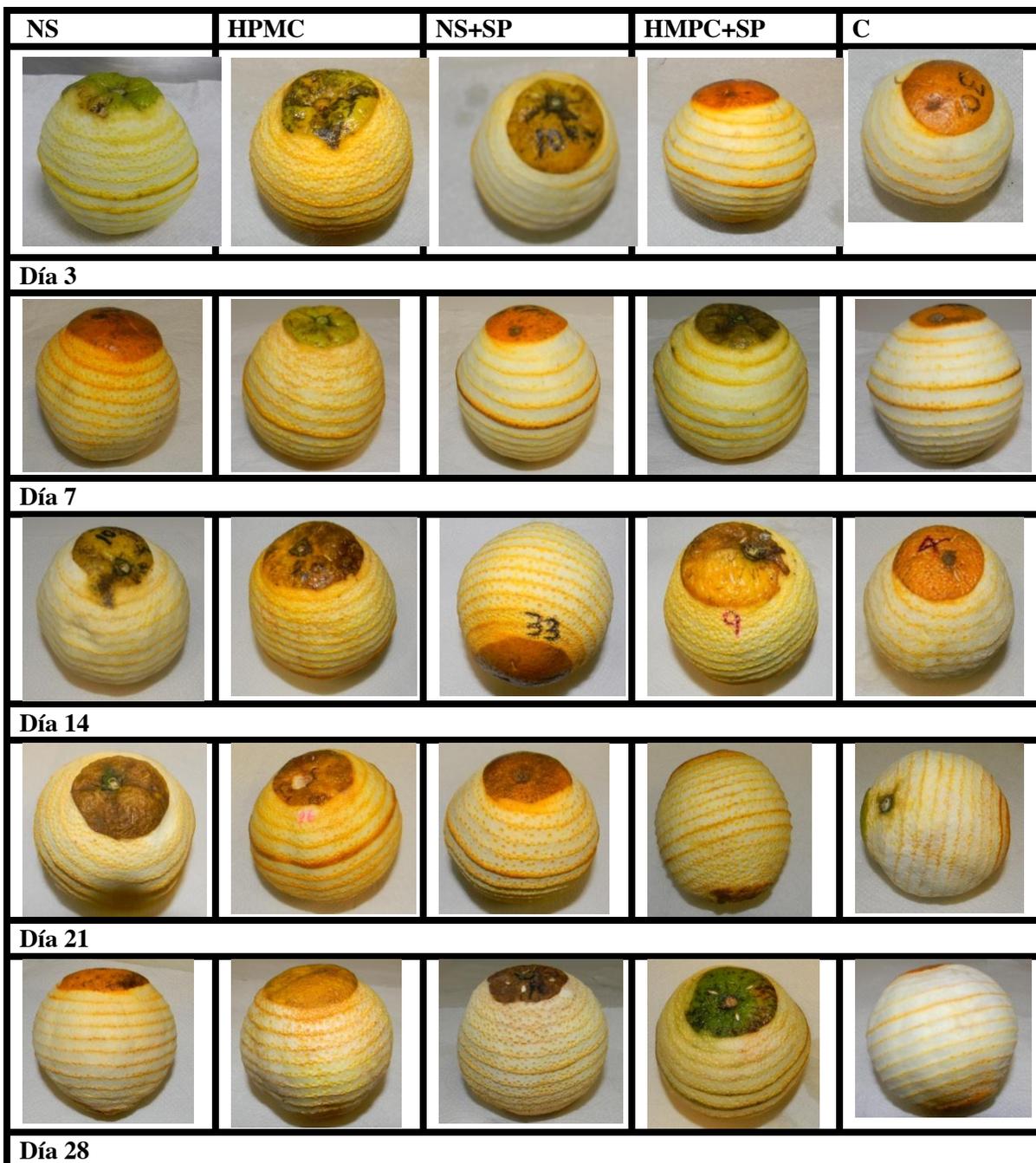
reduciendo la energía disponible para el crecimiento y otras funciones metabólicas esenciales.

Se observó que la película comestible de HPMC que no contenía preservativo no fue efectiva para prevenir el crecimiento de microorganismos. Esto coincide con lo reportado en estudios anteriores, donde se evaluó el efecto antimicrobiano de películas comestibles de HPMC en la disminución del crecimiento de *P. italicum* y *A. nige* (Pastor et al., 2013). Esta inhibición sólo se observó cuando la cubierta comestible contenía en su formulación própolis como preservativo, una sustancia resinosa natural extraída por las abejas de los brotes de las hojas de diferentes especies de árboles.

En cuanto a los tratamientos con NS, se ha reportado en rodajas de manzanas recién cortadas un aumento del recuento total de colonias aerobias en aproximadamente 4.3 log UFC/g de peso fresco, del día 1 al día 19 a condiciones de 4 °C. En tratamientos de NS que contenía vainilina a una concentración de 12 mM, los incrementos de las cargas microbianas totales sólo fueron de 1.6 log CUF/g de peso fresco, mostrando el efecto inhibitorio de vainilina (Rupasinghe et al., 2006).

## **4.2 Apariencia**

En apariencia se encontró que los tratamientos que contenían NS tomaron una coloración marrón en la superficie, debido a la oxidación de los compuestos de la cubierta. En el día 28 el tratamiento de NS+SP presentó cristales del preservativo sobre la superficie. En general después de 15 días de almacenamiento se observó resequedad en la superficie especialmente con los tratamientos NS y el control. Los tratamientos que tuvieron mejor apariencia durante el periodo de almacenamiento fueron HPMC y HPMC+SP (Figura 1).



**Figura 1. Apariencia de naranjas peladas con los diferentes tratamientos, durante el tiempo de almacenamiento.**

NS= NatureSeal®, HPMC= hidroxipropylmetilcelulosa con 2.5% de glicerol, SP= sorbato de potasio, C= control.

### 4.3 Pérdida de peso y textura

No se encontró diferencia significativa en la pérdida del peso y textura con los diferentes tratamientos (Tabla 4). Estos resultados en términos de textura fueron consistentes en el tiempo, donde no se encontró diferencias (Tabla 5). Durante el experimento el porcentaje de pérdida de peso aumento significativamente de 4.1% entre 0 y 3 días de almacenamiento a 16.2% entre el día 21 y 29. Este incremento trascurrió como comportamiento natural de la fruta.

Los resultados concuerdan con lo encontrado en estudios previos, donde las películas comestibles compuestas de hidroxipropilmetilcelulosa y lípidos que contenía sorbato de potasio no presentaron efectividad para prevenir la pérdida de peso en naranjas valencia (Valencia-Chamorro et al., 2009). Además, presentaron alta permeabilidad al vapor de agua (Valencia-Chamorro et al., 2008).

**Tabla 4. Porcentaje de pérdida de peso y textura de naranjas peladas con los diferentes tratamientos.**

Tratamiento	% Pérdida de peso	Textura (mm)
NS	9.7 a	6.03 a
HPMC	10.7 a	6.37 a
NS+SP	10.9 a	5.96 a
HPMC+SP	9.6 a	6.08 a
C	10.8 a	5.70 a
D.E	1.55	1.33

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de diferencia significativa de Tukey.

NS= NatureSeal<sup>®</sup>, HPMC= hidroxipropilmetilcelulosa con 2.5% de glicerol, SP= sorbato de potasio, C= control.

**Tabla 5. Porcentaje de pérdida de peso y textura de naranjas peladas en el tiempo de almacenamiento.**

<b>Tiempo (Día)</b>	<b>% Pérdida de peso.</b>	<b>Textura (mm)</b>
0	-	6.09 a
3	4.1 a	6.46 a
7	6.9 b	6.14 a
14	10.3 c	6.43 a
21	14.3 d	5.40 a
28	16.2 e	5.66 a
D.E.	1.55	1.33

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de diferencia significativa de Tukey.

#### **4.4 Color.**

Los parámetros L, choma y °hue de la parte interna de las naranjas peladas no variaron entre los tratamientos (Tabla 6). Estos resultados en L y °hue fueron consistentes durante el tiempo. En el caso de chroma tendió a disminuir ( $p \leq 0.05$ ) su saturación levemente con el tiempo, aunque en el día 28 se presentó un aumento de 35.20 a 40.36. (Tabla 7). Sin embargo esta diferencia no influye en la aceptabilidad del producto. Los valores de L estuvieron en un rango de 59.10-62.19, los valores de choma estuvieron en un rango más amplio de 34.63-44.18 y los valores de °hue de 76.85-80.26. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Carmona et al. (2012), donde no se presento cambios significativos en el color en naranja 'Navelina' a 2 °C.

**Tabla 6. Parámetros de color interno en naranjas peladas con los diferentes tratamientos.**

Tratamiento	L	Chroma	°Hue
NS	60.46 a	39.80 a	78.05 a
HPMC	60.12 a	40.22 a	77.69 a
NS+SP	60.50 a	39.98 a	78.24 a
HPMC+SP	60.49 a	39.72 a	79.06 a
C	61.04 a	39.92 a	78.92 a
D.E.	2.215	4.058	1.850

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de diferencia significativa de Tukey.

NS= NatureSeal<sup>®</sup>, HPMC= hidroxipropylmetilcelulosa con 2.5% de glicerol, SP= sorbato de potasio, C= control.

**Tabla 7. Parámetros de color de naranjas peladas durante el tiempo de almacenamiento.**

Tiempo (Día)	L	Chroma	°Hue
0	60.10 a	43.31 c	77.89 a
3	61.20 a	42.01b c	78.32 a
7	60.47 a	39.93 bc	78.94 a
14	61.03 a	38.75 ab	78.91 a
21	59.66 a	35.20 a	77.71 a
28	60.67 a	40.36 bc	78.59 a
D.E.	2.215	4.058	1.850

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de diferencia significativa de Tukey.

#### 4.5 Análisis químico.

Los resultados de pH,  $a_w$ , °Brix y acidez titulable no variaron entre los tratamientos (Tabla 8). En vitamina C se encontraron diferencias entre los tratamientos. Sin embargo, ninguno de los tratamientos fue diferente al control (C). Las frutas tratadas con NS presentaron mayor contenido de vitamina C que las tratadas con NS+SP y HPMC.

Resultados similares fueron encontrados por Tiwari et al. (2008) quienes reportaron la estabilidad en pH, °Brix y acidez titulable en jugo de naranja sometido a diferentes tratamientos de zonificación. El contenido de vitamina C de todos los tratamientos estuvieron entre los rangos establecidos por la Comisión Venezolana de Normas

Industriales de 40 a 50 mg/100mL de jugo (Huallparimachi, 2009). Para los diferentes tratamientos las medias en el contenido de °Brix estuvieron en un rango de 9.64-10.10, siendo similares a los reportados en estudios anteriores de 9.7-10.9 (Huallparimachi, 2009).

**Tabla 8. pH,  $a_w$ , °Brix, vitamina C y porcentaje de acidez titulable en naranjas peladas con los diferentes tratamientos.**

Tratamiento	pH	$a_w$	°Brix	Vit. C (mg/100g)	% Ac. Titulable
NS	3.52 a	0.9909 a	10.10 a	51.49 c	1.12 a
HPMC	3.63 a	0.9908 a	9.88 a	45.11 ab	0.97 a
NS+SP	3.58 a	0.9917 a	9.79 a	43.78 a	1.03 a
HPMC+SP	3.47 a	0.9915 a	10.06 a	51.08 bc	1.12 a
C	3.47 a	0.9922 a	9.64 a	48.85 abc	1.18 a
D.E.	0.2912	0.0033	1.3705	7.430	0.2660

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de diferencia significativa de Tukey.

Los valores de pH,  $a_w$ , acidez titulable y el contenido de vitamina C no presentaron diferencias a través del tiempo. En el caso de el °Brix se encontraron diferencias significativas en el día 7 de almacenamiento (8.69), respecto a los días 3, 14, 21 y 28, siendo la media más baja. La media más alto en el °Brix (10.49) se obtuvo en el día 21 de almacenamiento. En general, el °Brix tendió a aumentar durante el tiempo de almacenamiento, en el día 28 se obtuvo una ligera disminución (10.31) (Tabla 9). Este comportamiento se explica porque la maduración es un proceso fisiológico que va acompañado de una disminución de la concentración de acidez y un aumento en el °Brix (Palacios, 1978).

Los resultados de pH durante el tiempo de almacenamiento estuvieron en un rango de 3.44-3.59, siendo cercanos a los encontrados en estudios anteriores de 3.43-4.00 en la variedad ‘Hamlin’ y 3.52-3.91 en la variedad ‘Rhode Red Valencia’ (Huallparimachi, 2009). Los valores de acidez titulable estuvieron en un rango de 0.97-1.18, estos valores

están dentro de los rangos reportados por Palacio (1978) donde la naranja dulce mantiene un porcentaje de acidez total titulable que va desde 1-2%, con variaciones de 0.5-4.9%.

**Tabla 9. pH,  $a_w$ , °Brix, vitamina C y porcentaje de acidez titulable de naranjas peladas durante el tiempo de almacenamiento.**

<b>Tiempo (Día)</b>	<b>pH</b>	<b><math>a_w</math></b>	<b>°Brix</b>	<b>Vit. C (mg/100g)</b>	<b>% Ac. Titulable</b>
0	3.44 a	0.9925 a	9.80 ab	46.81 a	1.11 a
3	3.58 a	0.9931 a	10.00 b	47.47 a	1.05 a
7	3.59 a	0.9904 a	8.69 a	48.59 a	1.10 a
14	3.57 a	0.9915 a	10.06 b	47.37 a	1.08 a
21	3.50 a	0.9903 a	10.49 b	48.79 a	1.07 a
28	3.52 a	0.9906 a	10.31 b	49.34 a	1.09 a
D.E.	0.2912	0.0033	1.3705	7.430	0.2660

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba de diferencia significativa de Tukey.

## 5. Conclusiones

Las películas comestibles que presentaron mayor inhibición en el crecimiento de microorganismos en naranjas peladas fueron las que contenían SP en su formulación, demostrando la efectividad de este preservativo. En NS+SP y HPMC+SP los recuentos de bacterias aerobias fueron de 4.29 y 4.31  $\log_{10}$  CFU/g, respectivamente, y en hongos y levaduras de 3.37 y 3.47  $\log_{10}$  CFU/g, respectivamente.

Las películas comestibles de HPMC y HPMC+SP tuvieron mejor apariencia al final del tiempo de almacenamiento a  $4 \pm 0.5$  °C (28 días), en comparación con los demás tratamientos y el control. Las películas comestibles utilizadas no afectaron significativamente las características químicas y físicas de las naranjas peladas durante el tiempo de almacenamiento y sus valores estuvieron entre los rangos de calidad establecidos.

La película comestible HPMC+SP presentó mejores características, ya que las naranjas tratadas con este tratamiento mostraron buena apariencia durante el almacenamiento. En adición, los recuentos de bacterias aerobias y hongos y levaduras tendieron a ser bajos con respecto a los tratamientos de NS, HPMC y C.

Como ampliación a esta investigación se recomienda evaluar el comportamiento de la película HPMC+SP en naranjas peladas bajo otras condiciones de almacenamiento. También, se debe evaluar la adición de otros preservativos, y el efecto de estos en las características químicas y sensoriales de las frutas y reducir el tiempo de secado de la película mediante una corriente de aire estéril para disminuir el riesgo de contaminación posterior.

## Literatura Citada

- Agustí, M. (2003). Citricultura 2da ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. p 422.
- Amorós, M. (2003). Producción de agrios 3ª edición. Mundi-Prensa. Madrid. p 352.
- AOAC (1997). Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, MD, Estados Unidos. AOAC International.
- AOAC (1998). Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, MD, Estados Unidos. AOAC International.
- AOAC (2000). Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, MD, Estados Unidos. AOAC International.
- Baker, R. A. (2000). Peeling technology and minimally processed citrus products. Proceedings of the International Society of Citriculture 9th Congress 2000 vol. 2. Orlando, Florida: International Society of Citriculture. pp 1073-1076.
- Ball, G.F.M. (2005). Vitamina C. Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability. CRC Press. Boca Raton, Florida. pp 289-308.
- Baraona, M., y Sancho, E. (1998). Cítricos, fruticultura especial. Editorial Universidad Estatal a Distancia. España. p 97.
- Barreiro, J. A., y Sandoval, A. J. (2006). Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Equinoccio Universidad Simón Bolívar. Venezuela. p 365.
- Brul, S., y Coote, P. (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. International Journal of Food Microbiology 50, 1-17.
- Carmona, L., Zacarías, L., y Rodrigo, M.J., (2012). Stimulation of coloration and carotenoid biosynthesis during postharvest storage of 'Navelina' orange fruit at 12 y 2 °C. Postharvest Biology and Technology 74, 108-117.

- Cañamás, T. P., Viñas, I., Usall, J., Torres, R., Anguera, M., y Teixidó, N. (2008). Control of postharvest diseases on citrus fruit by preharvest applications of biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2 Part II. Effectiveness of different cell formulations. *Postharvest Biology and Technology* 49, 96-106.
- Codex Alimentarius (2010). Pesticide residues in food and feed: Pesticide details. Roma, Italia. FAO/WHO Food standards:  
<http://www.codexalimentarius.net/pestres/data/pesticides/details.html?id=110>. Accesado 09/30/013.
- Diab, T., Biliaderis, C.G., Gerasopoulos, D., y Sfakiotakis, E., (2001). Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 988-1000.
- Duarte, T.L., Cooke, M.S., y Jones, G.D.D., (2009). Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells. *Free Radical Biology and Medicine* 46, 78-87.
- FAO (2011). Reducir el desperdicio para alimentar al mundo. Roma, Italia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación:  
<http://www.fao.org/news/story/es/item/74327/icode/>. Accesado 07/01/2013.
- FAOSTAT (2013). Producción de naranja en el año 2011:  
[http://faostat3.fao.org/home/index\\_es.html?locale=es#DOWNLOAD](http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#DOWNLOAD). Accesado 05/18/2013.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., e Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology* XX 1-12.

- Franssen, L.R., y Krochta, J.M. (2003). Edible coatings containing natural antimicrobials for processed foods. In: Roller, S. (Ed.), Natural antimicrobials for the minimal processing of foods. CRC. Boca Raton. pp 250 - 262.
- Gama, J. J. T., y Sylos, C. M. (2005). Major carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice: identification and quantification by HPLC. Food Research International 38 (8–9), 899-903.
- García, M. A., Martino, M. N., y Zaritzky, N. E. (1998). Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria* × *Ananassa*) quality and stability. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46(9), 3758-3767.
- Gil, A. (2010). Tratado de nutrición 2da ed. Tomo II: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Editorial medica Panamericana. España. p 784.
- Gould, G. W. (2000). Induced tolerance of microorganisms to stress factors. In: Alzamora, S. M., Tapia, M. S., López-Malo, A. Minimally processed fruits and vegetables fundamental aspect and applications. Aspen publication. Gaithersburg, Maryland. pp 29-42.
- Gounga, M. E., Xu, S., y Wang, Z. (2007). Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. Journal of Food Engineering 83, 521-530.
- Han, J.H. (2007). Packaging for nonthermal processing of food. John Wiley & Sons. Iowa. p 248.
- Horst, D., y Carmen, S., (2008). Instruments to analyze food colors. Handbook of food analysis instruments. CRC Press. Boca Raton, Florida. p 544.
- Huallparimachi, M. (2009). Utilización de parámetros de calidad de jugo para determinar tiempo óptimo de cosecha en variedades de naranjas ‘Hamlin’ y ‘Rhode red Valencia’.

- Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. p 109.
- Ki Won, L., Hyong Joo, L., y Chang Yong, L. (2005). Vitamin C blocks carcinogenic tumor formation. *Nutrition and cancer prevention*. CRC Press. Boca Raton, Florida. p 640.
- Klimczak, I., Malecka, M., Szlachta, M., y Gliszczyńska-Swiglo, A. (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 313–322.
- Ladaniya, M. (2008). *Citrus fruit: biology, technology and evaluation*. Academic Press. Amsterdam. p 576.
- Little, E. L., Wadsworth, F. H., y Marrero, J. (2001). *Árboles comunes de Puerto Rico y las Islas Vírgenes*. Editorial de la Universidad de Puerto Rico. p 764.
- Lin, D., y Zhao, Y. (2007). Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 6, 60-75.
- Martín-Diana, A. B., Rico, D., Barat, J.M., y Barry-Ryan, C. 2009. Orange juices enriched with chitosan: optimisation for extending the shelf-life. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10, 590–600.
- Materano, W., Valera, A., Zambrano, J., Maffei, M., y Torres, C. (2007). Efecto de recubrimientos sobre la postcosecha y la evolución del color del zumo de la fruta del naranjo. *Agronomía Tropical* 57, 129-136.
- McHugh, T.H., Avana-Bustillos, R.J., y Du, W. (2009). Extension of shelf life and control of human pathogens in produce by antimicrobial edible films and coatings. In: fan, X.,

- Niemira, B.A., Doona, C.J., Feeherry, F.E., y Gravani, R.B (Eds). Microbial safety of fresh produce. Wiley. Iowa. pp 225 - 239.
- Montesinos-Herrero, C., del Río, M.Á., Pastor, C., Brunetti, O., y Palou, L. (2009). Evaluation of brief potassium sorbate dips to control postharvest penicillium decay on major citrus species and cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 52, 117-125.
- Mukhopadhyay, S. (2004). Citrus: Production, Postharvest, Disease and Pest Management. Enfiels (NH), USA. p 277.
- OMS. (2011). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. Fomento del consumo mundial de frutas y verduras:  
<http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/>. Accesado 05/20/2013.
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M. A., González L. A., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando, M. I., Pérez, I., Fiszman, S., y Martín-Belloso, O. (2010). Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: a review. *Postharvest Biology and Technology* 57, 139-148.
- Palacios, J. (1978). Citricultura moderna. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. p 409.
- Pao, S. (2000). Quality and safety of fresh and minimally processed citrus products Proceedings of the International Society of Citriculture 9th Congress 2000. International Society of Citriculture, Orlando, Florida. pp 1070-1072.
- Pastor, C., Sánchez-González, L., Chiralt, A., Cháfer, M., y González-Martínez, C. (2013). Physical and antioxidant properties of chitosan and methylcellulose based films containing resveratrol. *Food Hydrocolloids* 30, 272-280.
- Potter, N. N. y Hotchkiss, J. H. (1995). Food science fifth edition. Springer. New York. p 608.

- Rôble, C., Gormley, T. R., y Butler, F. (2009). Efficacy of Natureseal® AS1 browning inhibitor in fresh-cut fruit salads applications, with emphasis on apple wedges. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology ISAFRUIT Special Issue* 62–67.
- Rodríguez, F. A., Villegas Ochoa, M. A., Camarena Gómez, G. A., y Martínez Antúnez, B. R. (2001). Calidad de naranja ‘valencia’ durante el almacenamiento a baja temperatura. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura VII (2):* 259-274.
- Rojas-Graü, M. A., Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva-Fortuny, R. C., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., y Martín-Belloso, O. (2007). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology* 45(2), 254-264.
- Rupasinghe, H.P.V., Boulter-Bitzer, J., Ahn, T., y Odumeru, J.A. (2006). Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms in vitro and aerobic microbial growth in fresh-cut apples. *Food Research International* 39, 575-580.
- Salunkhe, D. K., y Kadam, S. S. (1995). *Handbook of fruit science and technology, production, composition, storage, and processing.* Marcel Dekker, Inc. New York. p 611.
- Sancho, J., Bota, E., y de Castro, J.J. (1999). *Introducción al análisis sensorial de los alimentos.* Universitat de Barcelona. Barcelona. p 336.
- Sebastian, P., Mark, L., Peter, E., Yaohui, W., Jian, S., Woo, K., y Rushad, D. (2001). *Vitamin C. Handbook of antioxidants* 2da ed. CRC Press. New York. p 732.
- Soerjomataram, I., Oomen, D., Lemmens, V., Oenema, A., Benetou, V., Trichopoulou, A., Coebergh, J. W., Barendregt, J., y De Vries, E. (2010). Increased consumption of fruit

- and vegetables and future cancer incidence in selected European countries. *European journal of cancer* 46, 2563-2580.
- Southon, S. (2000). Increased fruit and vegetable consumption within the EU: potential health benefits. *Food Research International* 33, 211-217.
- Steele, R. (2004). *Understanding and measuring the shelf life of food*. CRC Press. Boca Raton, Florida. p 448.
- Terry, L. (2010). *Health-promoting properties of fruits and vegetables*. CABI Publishing. Cambridge. p 400.
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology* 14, 71-78.
- Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C. P., y Cullen, P. J. (2008). Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology* 41(10), 1876-1883.
- Toivonen, P. M. A. (2008). Influence of harvest maturity on cut-edge browning of 'Granny Smith' fresh apple slices treated with anti-browning solution after cutting. *LWT - Food Science and Technology* 41(9), 1607-1609.
- Ulloa, J. A. (2007). *Frutas auto estabilizadas en el envase por la tecnología de obstáculos*, primera edición. Universidad Autónoma de Nayarit. México. pp 55.
- Usual, J., Smilanick, J., Palou, L., Denis, N., Teixidó, N., Torres, R., y Viñas, I. (2008). Preventive and curative activity of combined treatments of sodium carbonates and *Pantoea agglomerans* CPA-2 to control postharvest green mold of citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology* 50.
- Valencia-Chamorro, S. A., Palou, L., del Río, M. Á., y Pérez-Gago, M. B. (2008). Inhibition of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* by hydroxypropyl

methylcellulose–lipid edible composite films containing food additives with antifungal properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (23), 11270-11278.

Valencia-Chamorro, S. A., Pérez-Gago, M. B., del Río, M. Á. y Palou, L. (2009). Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)–lipid edible composite coatings on postharvest decay development and quality attributes of cold-stored ‘Valencia’ oranges. *Postharvest Biology and Technology* 54 (2), 72-79.

Wong, D. (2005). Fresh-Cut Fruit Coating: <http://www.ars.usda.gov/is/br/coating/>.  
Accesado 05/20/2013

Zajac, J. y Kucharski, H. (2009). *Handbook of vitamin C research: daily requirements, dietary sources and adverse effects*. Nova Biomedical Books. New York. p 415.

# Anexos

## Conteo de microorganismos en PCA

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
LOG10_PCA	120	0.55	0.39	18.00

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	76.48	32	2.39	3.35	<0.0001	
REP	35.04	3	11.68	16.39	<0.0001	
TRA	16.90	4	4.23	5.93	0.0003	
DIA	5.78	5	1.16	1.62	0.1625	
TRA*DIA		18.75	20	0.94	1.32	0.1915
Error	62.02	87	0.71			
Total	138.50	119				

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.68074

Error: 0.7128 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.		
3	4.29	24	0.17	A	
4	4.31	24	0.17	A	
1	4.75	24	0.17	A	B
5	4.78	24	0.17	A	B
2	5.31	24	0.17		B

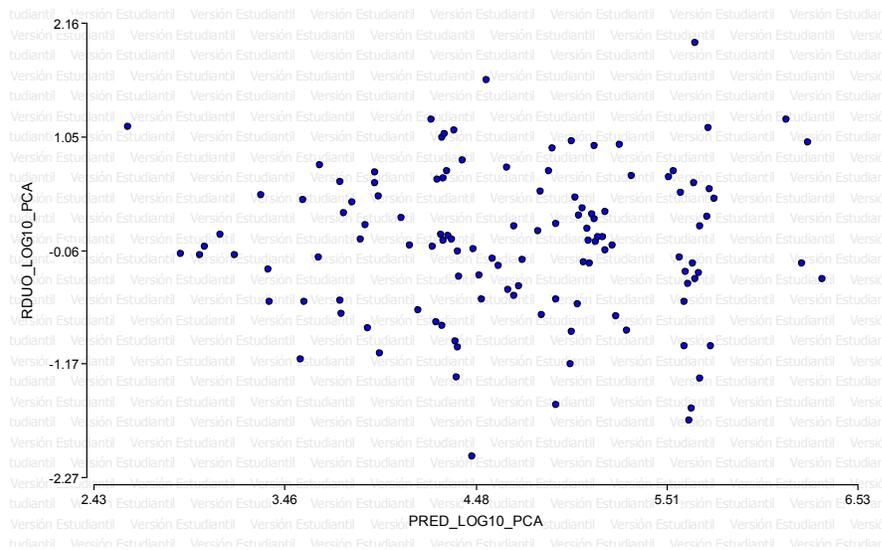
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.78027

Error: 0.7128 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.	
0	4.24	20	0.19	A
3	4.65	20	0.19	A
14	4.69	20	0.19	A
7	4.76	20	0.19	A
28	4.86	20	0.19	A
21	4.92	20	0.19	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



## Conteo de microorganismos en PDA

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
LOG10 PDA	120	0.58	0.43	18.64

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	68.81	32	2.15	3.83	<0.0001
REP	8.66	3	2.89	5.14	0.0025
TRA	39.82	4	9.96	17.72	<0.0001
DIA	5.49	5	1.10	1.95	0.0937
TRA*DIA	14.83	20	0.74	1.32	0.1886
Error	48.88	87	0.56		
Total	117.68	119			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.60434

Error: 0.5618 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.	
3	3.37	24	0.15	A
4	3.45	24	0.15	A
5	4.10	24	0.15	B
1	4.25	24	0.15	B
2	4.94	24	0.15	C

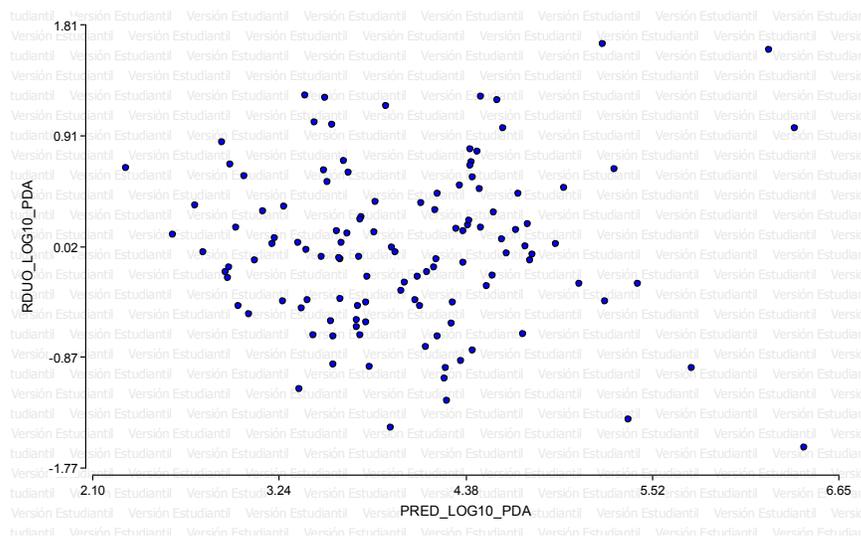
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.69269

Error: 0.5618 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.	
0	3.69	20	0.17	A
3	3.79	20	0.17	A
7	4.05	20	0.17	A
21	4.11	20	0.17	A
14	4.20	20	0.17	A
28	4.29	20	0.17	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



## % pérdida de peso

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% PER. PESO	100	0.93	0.90	15.01

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2156.69	27	79.88	33.06	<0.0001
Rep	47.14	3	15.71	6.50	0.0006
dia	2026.23	4	506.56	209.69	<0.0001
Tto	34.22	4	8.56	3.54	0.0108
dia*Tto	49.10	16	3.07	1.27	0.2400
Error	173.94	72	2.42		
Total	2330.63	99			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.37803

Error: 2.4158 gl: 72

dia	Medias	n	E.E.				
3	4.07	20	0.35	A			
7	6.87	20	0.35		B		
14	10.33	20	0.35			C	
21	14.33	20	0.35				D
28	16.17	20	0.35				E

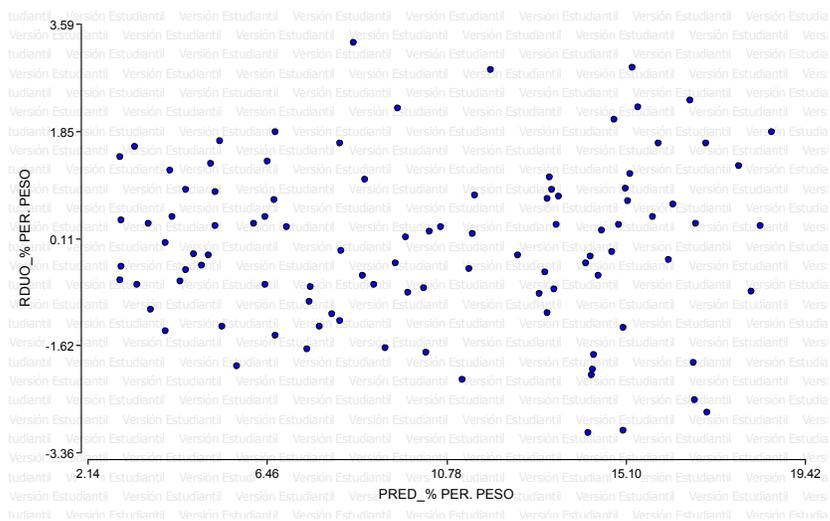
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.37803

Error: 2.4158 gl: 72

Tto	Medias	n	E.E.	
4	9.56	20	0.35	A
1	9.73	20	0.35	A
2	10.70	20	0.35	A
5	10.84	20	0.35	A
3	10.94	20	0.35	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



## pH.

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH	120	0.67	0.55	8.24

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15.07	32	0.47	5.56	<0.0001
REP	12.60	3	4.20	49.54	<0.0001
TRA	0.48	4	0.12	1.43	0.2322
DIA	0.33	5	0.07	0.78	0.5661
TRA*DIA	1.66	20	0.08	0.98	0.4921
Error	7.37	87	0.08		
Total	22.45	119			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.23475

Error: 0.0848 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.
5	3.47	24	0.06
4	3.47	24	0.06
1	3.52	24	0.06
3	3.58	24	0.06
2	3.63	24	0.06

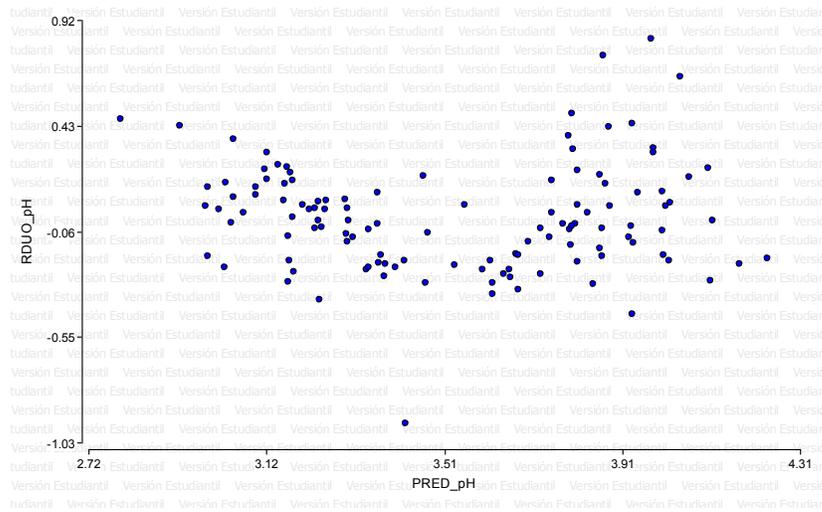
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.26907

Error: 0.0848 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.
0	3.44	20	0.07
21	3.50	20	0.07
28	3.52	20	0.07
14	3.57	20	0.07
3	3.58	20	0.07
7	3.59	20	0.07

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



## TEXTURA

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Textura	120	0.75	0.66	22.05

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	460.33	32	14.39	8.14	<0.0001
REP	406.76	3	135.59	76.76	<0.0001
TRA	5.48	4	1.37	0.78	0.5441
DIA	17.83	5	3.57	2.02	0.0838
TRA*DIA	30.26	20	1.51	0.86	0.6398
Error	153.67	87	1.77		
Total	614.00	119			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.07157

Error: 1.7663 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.
5	5.70	24	0.27 A
3	5.96	24	0.27 A
1	6.03	24	0.27 A
4	6.08	24	0.27 A
2	6.37	24	0.27 A

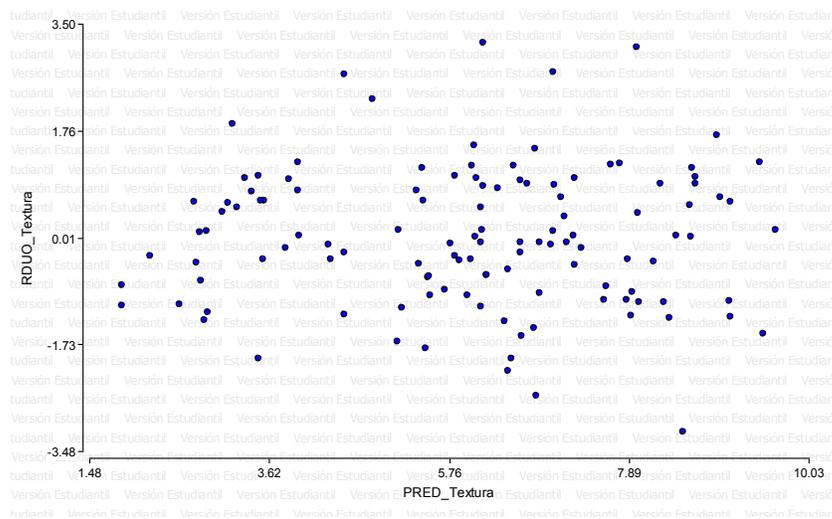
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.22823

Error: 1.7663 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.
21	5.40	20	0.30 A
28	5.66	20	0.30 A
0	6.09	20	0.30 A
7	6.14	20	0.30 A
14	6.43	20	0.30 A
3	6.46	20	0.30 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



## °Brix

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
°Brix	120	0.34	0.10	13.85

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	85.85	32	2.68	1.43	0.0985	
REP	23.49	3	7.83	4.17	0.0083	
TRA	3.52	4	0.88	0.47	0.7586	
DIA	40.52	5	8.10	4.31	0.0015	
TRA*DIA		18.32	20	0.92	0.49	0.9649
Error	163.41	87	1.88			
Total	249.26	119				

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.10502

Error: 1.8783 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.
5	9.64	24	0.28
3	9.79	24	0.28
2	9.88	24	0.28
4	10.06	24	0.28
1	10.10	24	0.28

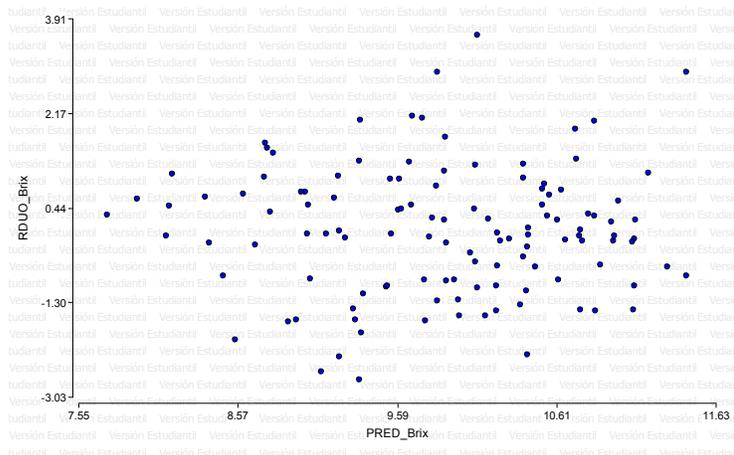
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.26657

Error: 1.8783 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.
7	8.69	20	0.31
0	9.80	20	0.31
3	10.00	20	0.31
14	10.06	20	0.31
28	10.31	20	0.31
21	10.49	20	0.31

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



$a_w$

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
$a_w$	120	0.40	0.17	0.34

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6.5E-04	32	2.0E-05	1.78	0.0187
REP	2.5E-04	3	8.3E-05	7.24	0.0002
TRA	3.3E-05	4	8.2E-06	0.71	0.5842
DIA	1.5E-04	5	2.9E-05	2.53	0.0346
TRA*DIA	2.3E-04	20	1.1E-05	0.98	0.4918
Error	1.0E-03	87	1.1E-05		
Total	1.6E-03	119			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00273

Error: 0.0000 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.
2	0.99	24	6.9E-04 A
1	0.99	24	6.9E-04 A
4	0.99	24	6.9E-04 A
3	0.99	24	6.9E-04 A
5	0.99	24	6.9E-04 A

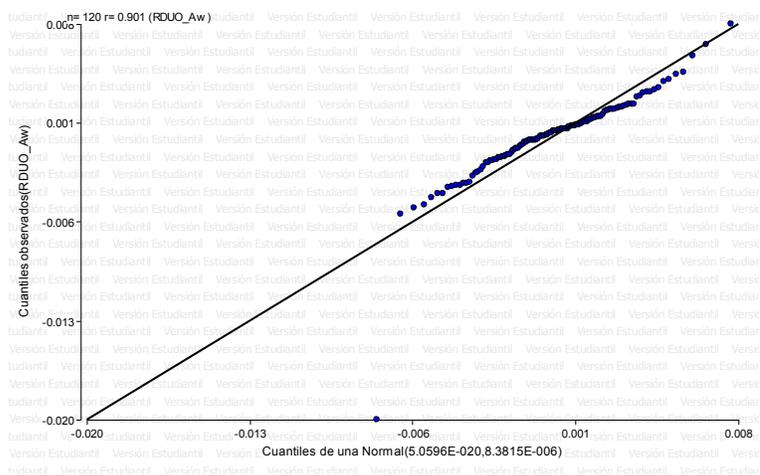
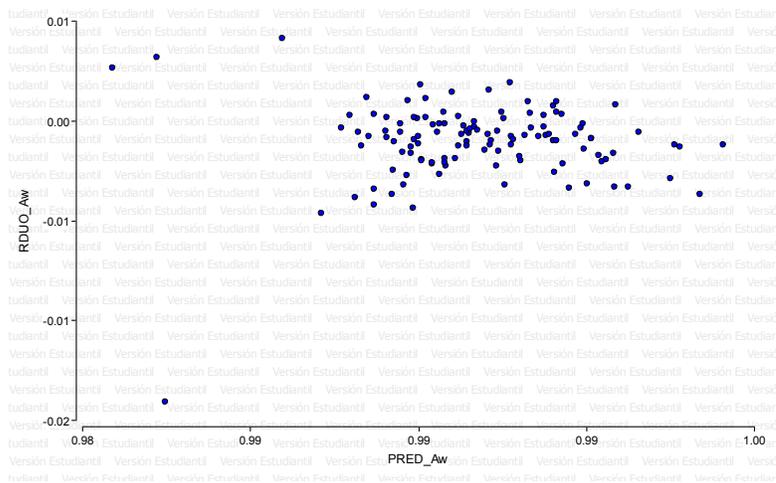
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.00313

Error: 0.0000 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.
21	0.99	20	7.6E-04 A
7	0.99	20	7.6E-04 A
28	0.99	20	7.6E-04 A
14	0.99	20	7.6E-04 A
0	0.99	20	7.6E-04 A
3	0.99	20	7.6E-04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



### Shapiro-Wilks (modificado)

Variablen	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO_Aw	120	0.00	2.9E-03	0.86

### Vitamina C

#### Análisis de la varianza

VariableN	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	
Vit. C	120	0.69	0.57	15.46

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10595.67	32	331.11	6.00	<0.0001
REP	7867.58	3	2622.53	47.50	<0.0001
TRA	1162.76	4	290.69	5.27	0.0008
DIA	96.72	5	19.34	0.35	0.8807
TRA*DIA	1468.61	20	73.43	1.33	0.1825
Error	4803.19	87	55.21		
Total	15398.86	119			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=5.99097

Error: 55.2091 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.	
3	43.78	24	1.52	A
2	45.11	24	1.52	A B
5	48.85	24	1.52	A B C
4	51.08	24	1.52	B C
1	51.49	24	1.52	C

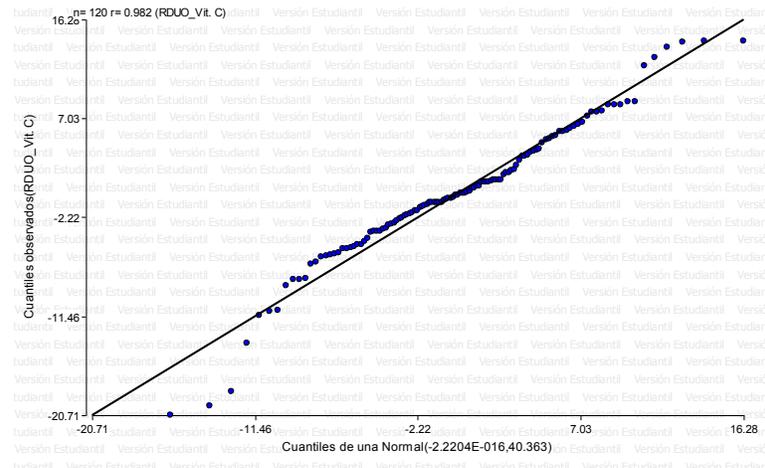
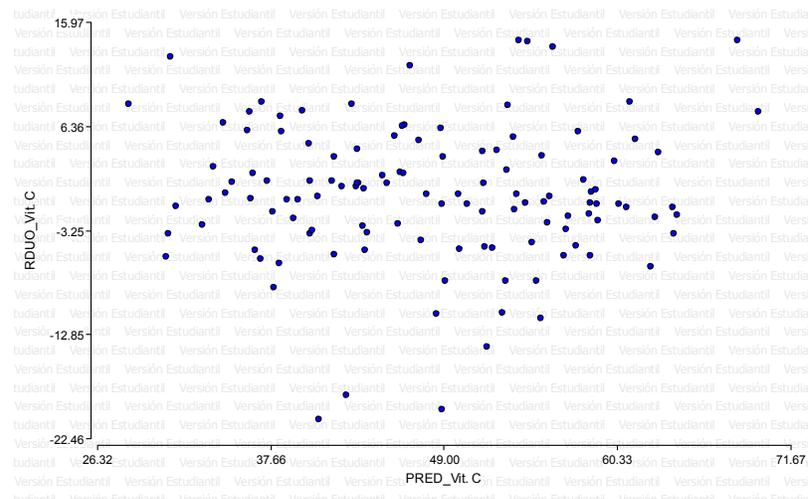
Medias con una letra común no son significativamente diferentes( $p \leq 0.05$ )

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=6.86682**

Error: 55.2091 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.	
0	46.81	20	1.66	A
14	47.37	20	1.66	A
3	47.47	20	1.66	A
7	48.59	20	1.66	A
21	48.79	20	1.66	A
28	49.34	20	1.66	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes( $p \leq 0.05$ )



## Acidez titulable

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Acidez	120	0.69	0.58	24.58

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	13.69	32	0.43	6.04	<0.0001	
REP	11.52	3	3.84	54.25	<0.0001	
TRA	0.66	4	0.16	2.33	0.0623	
DIA	0.05	5	0.01	0.14	0.9831	
TRA*DIA		1.46	20	0.07	1.03	0.4363
Error	6.16	87	0.07			
Total	19.85	119				

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.21451

Error: 0.0708 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.	
2	0.97	24	0.05	A
3	1.03	24	0.05	A
1	1.12	24	0.05	A
4	1.12	24	0.05	A
5	1.18	24	0.05	A

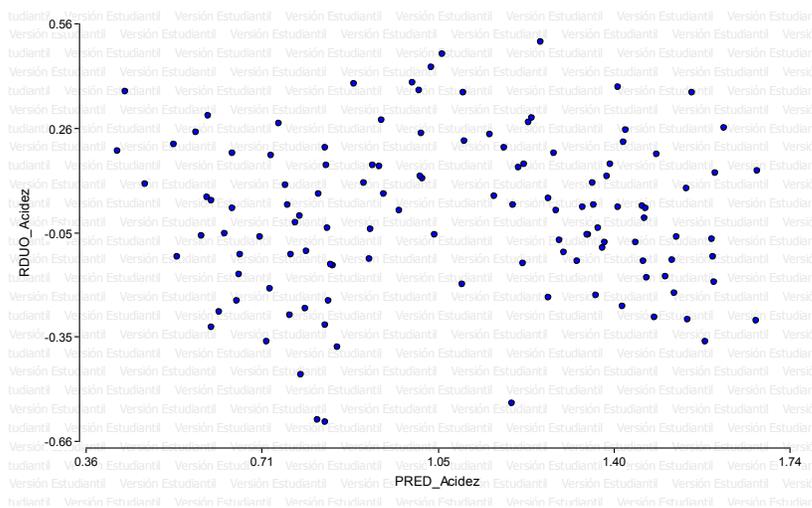
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.24587

Error: 0.0708 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.	
3	1.05	20	0.06	A
21	1.07	20	0.06	A
14	1.08	20	0.06	A
28	1.09	20	0.06	A
7	1.10	20	0.06	A
0	1.11	20	0.06	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



## Parámetro de color L

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
L	120	0.63	0.50	3.66

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	734.24	32	22.94	4.68	<0.0001	
REP	646.17	3	215.39	43.92	<0.0001	
TRA	10.37	4	2.59	0.53	0.7151	
DIA	33.07	5	6.61	1.35	0.2517	
TRA*DIA		44.62	20	2.23	0.45	0.9760
Error	426.70	87	4.90			
Total	1160.93	119				

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.78563

Error: 4.9045 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.	
2	60.12	24	0.45	A
1	60.46	24	0.45	A
4	60.49	24	0.45	A
3	60.50	24	0.45	A
5	61.04	24	0.45	A

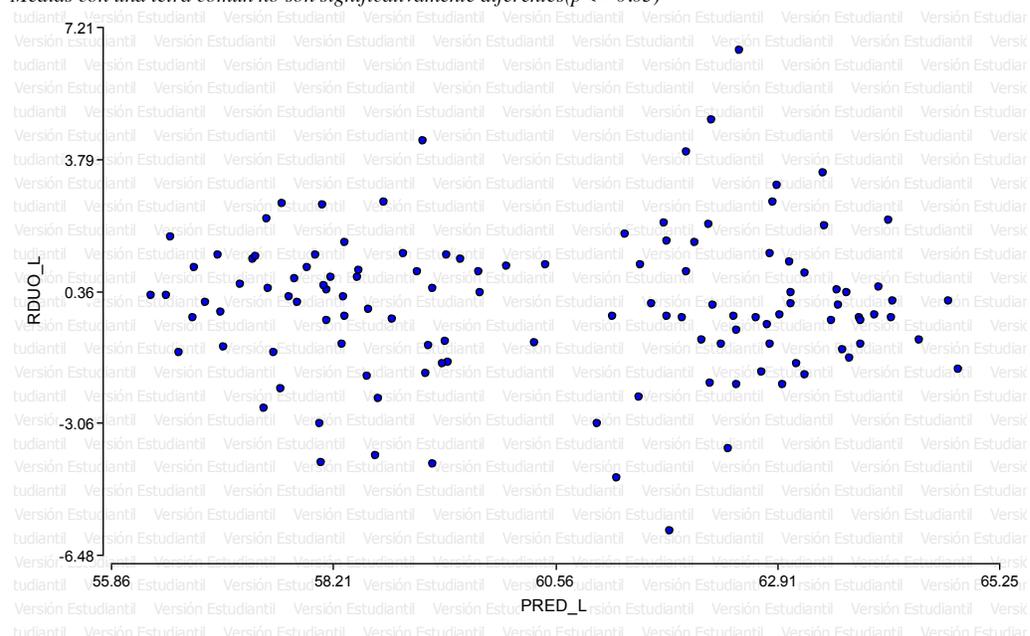
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.04668

Error: 4.9045 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.	
21	59.66	20	0.50	A
0	60.10	20	0.50	A
7	60.47	20	0.50	A
28	60.67	20	0.50	A
14	61.03	20	0.50	A
3	61.20	20	0.50	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



## Chroma

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Chroma	120	0.75	0.66	10.16

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4344.70	32	135.77	8.25	<0.0001
REP	3469.80	3	1156.60	70.25	<0.0001
TRA	3.58	4	0.89	0.05	0.9944
DIA	793.86	5	158.77	9.64	<0.0001
TRA*DIA	77.46	20	3.87	0.24	0.9997
Error	1432.32	87	16.46		
Total	5777.02	119			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=3.27154

Error: 16.4635 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.	
4	39.72	24	0.83	A
1	39.80	24	0.83	A
5	39.92	24	0.83	A
3	39.98	24	0.83	A
2	40.22	24	0.83	A

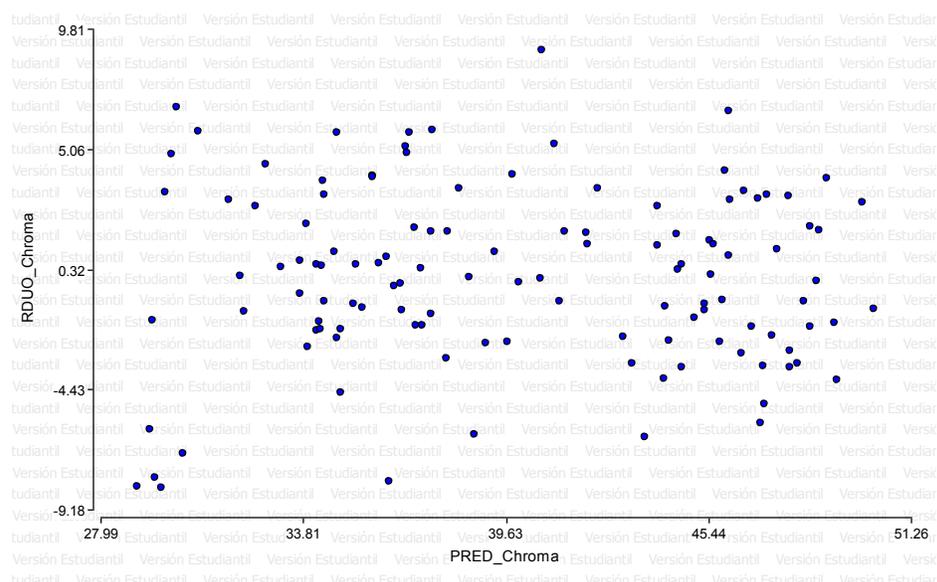
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=3.74982

Error: 16.4635 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.			
21	35.20	20	0.91	A		
14	38.75	20	0.91	A	B	
7	39.93	20	0.91		B	C
28	40.36	20	0.91		B	C
3	42.01	20	0.91		B	C
0	43.31	20	0.91			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )



## °Hue

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
hue	120	0.89	0.85	2.36

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

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	2393.99	32	74.81	21.86	<0.0001	
REP	2296.21	3	765.40	223.61	<0.0001	
TRA	32.76	4	8.19	2.39	0.0567	
DIA	26.66	5	5.33	1.56	0.1805	
TRA*DIA		38.37	20	1.92	0.56	0.9291
Error	297.79	87	3.42			
Total	2691.79	119				

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.49173

Error: 3.4229 gl: 87

TRA	Medias	n	E.E.	
2	77.69	24	0.38	A
1	78.05	24	0.38	A
3	78.24	24	0.38	A
5	78.92	24	0.38	A
4	79.06	24	0.38	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=1.70981

Error: 3.4229 gl: 87

DIA	Medias	n	E.E.	
21	77.71	20	0.41	A
0	77.89	20	0.41	A
3	78.32	20	0.41	A
28	78.59	20	0.41	A
14	78.91	20	0.41	A
7	78.94	20	0.41	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ )

