

Centro de Investigación en Alimentación  
y Desarrollo, A. C.

**Uso de Cubiertas Comestibles de Quitosano  
para Mantener la Calidad de Papaya  
Mínimamente Procesada**

**PRESENTADA POR**

**Imelda Noemí Monroy García**

TESIS APROBADA POR LA

**COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN  
VEGETAL**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

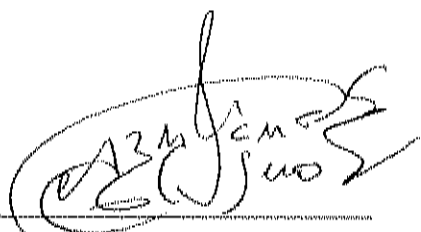
**HERMOSILLO, SONORA**

**SEPTIEMBRE DEL 2004**

---

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de la Ing. Imelda Noehmf Monroy García, la han encontrado satisfactoria y recomiendan ser aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



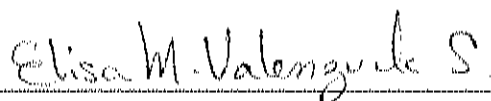
---

Dr. Gustavo González Aguilar



---

Dr. Francisco Goycolea Valencia



---

Dra. Elisa Valenzuela Soto



---

Dra. Martha Díaz Cinco

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin el permiso especial del autor, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD)

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión, del director o directora de la tesis.



---

Dr. Alfonso Gardea Béjar  
Director General

## AGRADECIMIENTOS

A Dios

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C.

Al Dr. Gustavo González Aguilar

A los miembros de mi comité de tesis: Dr. Francisco Goycoolea Valencia, Dra. Elisa Valenzuela Soto y Dra. Martha Díaz Cinco

A Mónica Villegas, Jorge Mercado, Reynaldo Cruz, Judith Fórtiz

A Fernando, Laura, Luis Enrique y Saúl

A Pame, Brenda y Karlita

Al Dr. Martín Tiznado

Y a todos los que ayudaron en la realización de este trabajo

Muchas Gracias!!!!

## DEDICATORIAS

A mis padres Imelda y Joel

A mi novio Juve

A mis hermanos y amigos

A la Linda

---

## CONTENIDO

	Página
LISTA DE CUADROS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	x
RESUMEN .....	1
1. INTRODUCCIÓN .....	2
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	4
2.1 Definición de Productos Mínimamente Procesados o cortados .....	4
2.2 Estado actual de la comercialización de frutos y vegetales cortados.....	5
2.3 Mercado actual de la Papaya en México.....	8
2.4 Pérdidas Postcosecha de Papaya.....	11
2.5 Factores que afectan la calidad de frutas y verduras cortadas .....	11
2.5.1 Materia Prima .....	12
2.5.2 Madurez .....	12
2.5.3 Especie y Variedad .....	13
2.5.4 Pelado y Cortado.....	14
2.5.5 Temperatura y Humedad Relativa.....	15
2.5.6 Contaminación Microbiológica.....	16
2.6 Cambios Físicoquímicos y Bioquímicos debidos al proceso .....	18
2.6.1 Sabor.....	18
2.6.2 Color.....	19
2.6.3 Firmeza .....	20
2.6.4 Valor nutricional.....	22
2.7 Métodos para reducir el deterioro.....	23
2.7.1 Atmósferas modificadas .....	24
2.7.2 Refrigeración.....	24

---

2.7.3 Aditivos.....	25
2.7.4 Cubiertas comestibles .....	26
2.8 Quitosano .....	27
2.8.1 Capacidad filmogénica .....	27
2.8.2 Capacidad antimicrobiana .....	29
2.8.2.1 Bacterias .....	30
2.8.2.2 Hongos.....	31
2.8.3 Inhibición de enzimas causantes del deterioro .....	34
3. HIPÓTESIS .....	35
4. OBJETIVOS .....	35
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	36
5.1 Material Vegetal .....	36
5.2 Depolimerización y caracterización del Quitosano .....	36
5.2.1 Depolimerización.....	36
5.2.2 Grado de acetilación .....	38
5.2.3 Peso molecular.....	38
5.3 Tratamientos .....	39
5.4 Evaluaciones subjetivas .....	40
5.4.1 Índice de deterioro.....	40
5.5 Evaluaciones Fisicoquímicas .....	41
5.5.1 Color.....	41
5.5.2 Firmeza.....	41
5.5.3 Pérdida de Peso .....	41
5.5.4 Sólidos solubles totales, acidez titulable y pH.....	41
5.6 Evaluaciones Bioquímicas.....	42
5.6.1 Etanol y Acetaldehído .....	42
5.6.2 Actividad enzimática.....	43
5.6.2.1 Obtención del extracto de poligalacturonasa .....	43
5.6.2.2 Ensayo de Actividad.....	43

5.6.2.3 Obtención del extracto de pectin metilesterasa .....	44
5.6.2.4 Ensayo de actividad .....	44
5.6.2.5 Obtención del extracto de $\beta$ -galactosidasa.....	44
5.6.2.6 Ensayo de Actividad.....	45
5.7 Evaluaciones Microbiológicas .....	45
5.8 Análisis Estadístico.....	46
6. RESULTADOS .....	47
7. CONCLUSIÓN .....	78
8. REFERENCIAS.....	79



---

## LISTA DE CUADROS

1. Principales países productores de papaya a nivel mundial.....	8
2. Principales países exportadores e importadores del mercado internacional de la papaya.....	9
3. Concentraciones mínimas inhibitorias (ppm) de quitosano y algunos derivados para diferentes bacterias.....	31
4. Viscosidad intrínseca y peso molecular de los quitosanos obtenidos a partir de cabeza de camarón.....	47
5. Cuenta total de mesófilos aerobios en papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5°C.....	73
6. Hongos y levaduras en papaya fresca cortada tratadas con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5°C.....	75

---

## LISTA DE FIGURAS

1. Distribución del mercado de frutas y vegetales por sectores de comercialización .....	6
2. Estructura molecular del quitosano.....	27
3. Diagrama de flujo de la obtención de quitosano de bajo, mediano y alto peso molecular.....	36
4. Espectros de IR para la determinación del grado de acetilación de los quitosanos.....	49
5. Índice de deterioro de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano y almacenados durante 15 días a 5°C.....	51
6. Cambios en el color ( $L^*$ y $b^*$ ) de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano y almacenadas durante 18 días a 5°C. ....	52
7. Cambios en la firmeza de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5°C.....	57
8. Pérdida de peso de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 18 días a 5°C. ....	60
9. Cambios en el contenido de sólidos solubles totales, acidez titulable y pH de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 18 días a 5°C.....	62
10. Producción de etanol y acetaldehído de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 18 días a 5°C. ....	65
11. Actividad de PG, PME y $\beta$ -galactosidasa de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 18 días a 5°C.....	69

---

## Resumen

En este estudio se evaluó el efecto de películas de quitosano en la calidad y vida de anaquel de frutos de papaya fresca cortada. Los cubos de papaya fueron tratados con soluciones de quitosano de bajo, mediano y alto peso molecular en concentraciones de 1 y 2% respectivamente. Los frutos fueron colocados en charolas de poliestireno y almacenados 18 días a 5°C. En los frutos se evaluaron parámetros fisicoquímicos, bioquímicos y microbiológicos. En general, los frutos tratados con quitosano mostraron índices de deterioro menores al control durante el almacenamiento. Las películas de quitosano de mediano peso molecular mantuvieron mas altos valores de  $L^*$  y  $b^*$ , así como mejor firmeza de los frutos. Los tratamientos con quitosano de mediano y alto peso molecular redujeron significativamente la actividad in vitro de poligalacturonasa y pectin metil esterasa. La aplicación de estas películas redujo la cuenta de total de bacterias, hongos y levaduras con respecto al control excepto cuando se utilizó quitosano de alto peso molecular. La actividad antimicrobiana fue mayor a la concentración de 2%. Estos resultados muestran que la aplicación de películas de quitosano, principalmente el de mediano peso molecular, mantiene la calidad e incrementa la vida de anaquel de papaya fresca cortada almacenada a 5°C.

---

## 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el consumidor demanda productos de alta calidad y de consumo inmediato, que contengan solo ingredientes naturales (Laurila y col., 1998). Es por eso que la tendencia hacia el consumo de vegetales frescos cortados ha aumentado significativamente en los últimos 15 años. El éxito de estos productos se debe a sus buenas características sensoriales y nutricias (Anónimo, 1999). Sin embargo, los daños causados durante el pelado y cortado dan origen a reacciones que provocan el deterioro de estos productos. Los principales problemas que ocasionan dichas reacciones son el oscurecimiento enzimático, desarrollo de microorganismos, cambios en la textura y susceptibilidad a la deshidratación (Agar, 1999). Por ello, es necesario el desarrollo de nuevas tecnologías de conservación que retrasen los procesos de deterioro y mantengan la calidad e inocuidad microbiológica, durante la comercialización de estos productos.

Dentro de estas tecnologías se encuentra el desarrollo de películas comestibles. Éstas actúan como una cubierta de materia comestible aplicada sobre los alimentos en forma de envoltura. El mecanismo por el cual estas películas conservan la calidad de frutas y vegetales es debido a que crean una barrera a los gases, produciendo una atmósfera modificada alrededor del producto. Esta atmósfera reduce la disponibilidad de O<sub>2</sub> e incrementa la concentración de CO<sub>2</sub> (Smith y col., 1987). De tal forma que se reduce la tasa de respiración y la pérdida de agua, aumentando así, la vida de anaquel (Kester y Fennema, 1986).

Entre los materiales que se usan para la elaboración de películas comestibles, se encuentra el quitosano. Este compuesto natural obtenido por desacetilación de la quitina, es un polisacárido catiónico formado de unidades de glucosamina con uniones  $\beta(1-4)$  (Hirano y Nagao, 1989). Se ha demostrado

que el quitosano reduce el crecimiento de un amplio rango de hongos y bacterias, además, induce mecanismos de defensa, tales como la producción de fitoalexinas y aumento en la actividad de quitinasas. Sin embargo, la actividad del quitosano depende de sus características físicas como el peso molecular y el grado de acetilación. Su uso podría ser una alternativa viable a los métodos de conservación, debido a sus características de biocompatibilidad y biofuncionalidad, aunado a sus propiedades de viscosidad. Además de ser completamente biodegradable y no tóxico (Shahidi y col., 1999).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de cubiertas comestibles de quitosano de diferente peso molecular sobre las características fisicoquímicas, bioquímicas y microbiológicas de papaya fresca cortada.

---

## 2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

### 2.1. Definiciones de Frutas y Vegetales Mínimamente Procesados o Cortados

La definición más amplia para estos productos es la dada por Wiley (1997). Él define a las frutas y vegetales mínimamente procesados como aquellos obtenidos mediante la aplicación de una o varias operaciones unitarias de preparación, tales como pelado, cortado, reducción de tamaño, lavado; y que son sometidas a una combinación de tratamientos parciales de conservación. Entre éstos tenemos: calentamiento mínimo, el empleo de agentes conservadores, la inmersión en agua clorinada, la aplicación de radiación, control del pH, el envasado en atmósferas modificadas y el uso de temperaturas de refrigeración.

La Asociación Internacional de Productos Cortados (IFPA) define como producto mínimamente procesado cualquier fruta o verdura fresca o la combinación de ellas, las cuales han sido alteradas físicamente de acuerdo a su forma original, pero que conservan sus características originales de frescura (Garret, 1999). Por otro lado, la FDA los define como aquellas frutas y verduras que han sido precortadas, lavadas, empacadas y mantenidas en refrigeración. Estos productos deben conservar su estado fresco, listos para consumir, sin congelar, ni haber sido sometidos a tratamientos térmicos o agregarles aditivos o conservadores (Anónimo, 1998).

Estos procesos tienen el propósito de mantener la frescura del producto, sin alterar sus propiedades sensoriales y nutricias, y por otra parte, tener una vida de anaquel suficiente para su comercialización y distribución en los mercados de consumo (Huxsoll y Bolin, 1989). Por lo general, los frutos cortados tienen una vida de anaquel entre 7 y 20 días, cuando son manejados a una temperatura y humedad relativa adecuada (Watada y Qi, 1999).

Otros términos usados para referirse a este tipo de productos son: precortados, ligeramente procesados, IV gama y parcialmente procesados (Cantwell y Suslow, 2002). Sin embargo, algunos autores engloban varias categorías de productos cuando se refieren a productos mínimamente procesados. En este documento se utilizará el término de frutos y vegetales frescos cortados para referir a los productos mínimamente procesados.

## 2.2. Estado Actual de la Comercialización de Frutos y Vegetales Cortados

En el estilo de vida moderno, mucha gente no quiere perder tiempo en la cocina, pelando, cortando o rebanando frutas y vegetales, pero a su vez, tampoco quieren consumir productos enlatados, sino productos con el sabor y textura de los productos frescos (Attila, 1999). Debido a esto, se ha incrementado la necesidad de eficientizar o reducir el tiempo para preparar los alimentos (Buck y col., 2003). Así, la industria de frutos y vegetales cortados ha tenido un rápido crecimiento en las pasadas dos décadas, contribuyendo con un 25% de las ventas del mercado de los alimentos (IFPA, 2000).

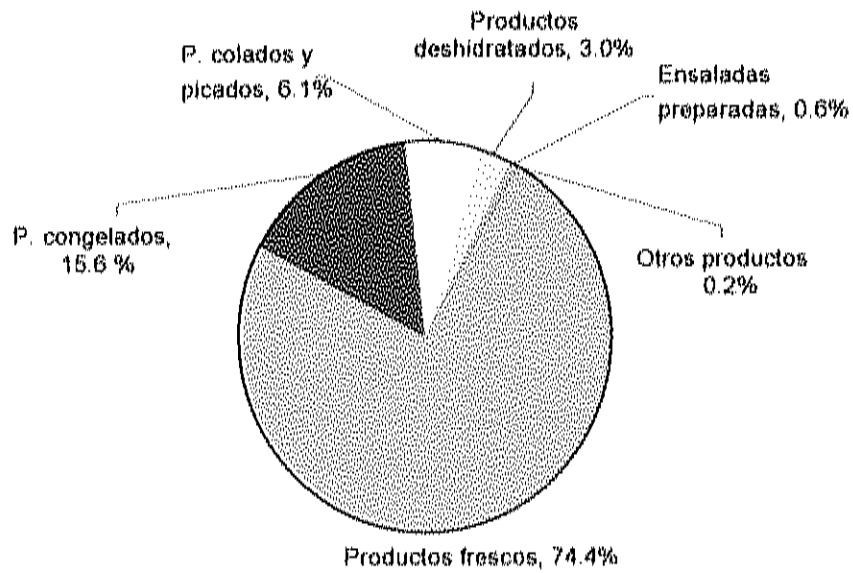
El incremento en la demanda de estos productos ha movilizó un sector muy importante de la industria de alimentos. Se han creado nuevas empresas en diferentes regiones, las cuales están continuamente en expansión para poder satisfacer a los consumidores y a diferentes tipos de autoservicios, supermercados, restaurantes, entre otros. Sin embargo, ha sido necesario establecer las condiciones óptimas de los procesos involucrados para la obtención de frutos y vegetales cortados, con el fin de obtener productos de buena calidad sensorial y una vida de anaquel suficiente para su comercialización. Además, de que mantengan la calidad nutrimental y sean microbiológicamente seguros para su consumo.

Los países desarrollados han logrado estos avances y han desarrollado tecnologías que les permiten la expansión comercial de este tipo de productos. A pesar de que los países de Latinoamérica son de los principales productores de frutos y vegetales frescos, es muy poca la presencia de estos productos en los supermercados. Sin embargo, se ha visto un gran interés en estos países por comercializar algunos productos frescos cortados, principalmente ensaladas o mezclas de vegetales (González-Aguilar, 2004a).

En México, el monto total destinado por las familias para la adquisición de frutas y vegetales a nivel nacional fue cercano a los 10 000 millones de pesos (Alvarez-Parrilla, 2004). En la **Figura 1** se muestra la distribución porcentual de las diferentes presentaciones de frutas y verduras disponibles en el mercado. Se puede observar que a nivel nacional, aproximadamente el 75% del consumo de frutas y vegetales se hace como productos frescos. En segundo lugar, se observa el consumo de frutas y verduras cortadas y congeladas, con aproximadamente el 16% del total destinado a este sector (INEGI, 2003).

Al analizar esta gráfica, se observa que el mercado de frutas y verduras cortadas y envasadas (identificados en la figura como ensaladas preparadas), es prácticamente inexistente en México. Así, en el 2003, la cuota del mercado destinada a este sector fue solamente del 0.6%, con ventas aproximadas de 80 millones de pesos. A pesar de representar un porcentaje pequeño del mercado total de frutas y verduras, este sector ha ido ganando importancia, debido al creciente ritmo de vida y a la incorporación de la mujer en el sector laboral. Esto ocasiona que cada vez se tenga menos tiempo para preparar la comida, por lo que el consumidor está dispuesto a pagar un poco más por la conveniencia que representa obtener alimentos listos para consumirse (Alvarez-Parilla, 2004).





**Figura 1.** Distribución del mercado de frutas y vegetales por sectores de comercialización (INEGI, 2003). Tamaño total del mercado por valor de 10 000 millones de pesos.

### 2.3. Mercado Actual de la Papaya

Debido al aumento en la demanda tanto en el mercado nacional como en el internacional, el cultivo de papaya se vislumbra con altas expectativas y una excelente rentabilidad para el productor mexicano, ya que presenta la gran ventaja de que se puede cultivar durante todo el año. Además, se debe considerar que si bien es un cultivo que requiere una inversión alta, su gran rentabilidad es atractiva para el empresario agrícola de nuestro país.

México ocupa el tercer lugar a nivel mundial de producción de papaya con 612,558 toneladas métricas y el quinto puesto en área cosechada con 19,694 hectáreas (**Cuadro 1**). Además es el principal exportador de esta fruta con 69,000 toneladas métricas (**Cuadro 2**). Los principales estados productores en orden de importancia son: Veracruz, Michoacán, Oaxaca y Guerrero (SAGAR, 1998).

Los principales mercados de consumo de papaya se encuentran en los Estados Unidos, el cual recibe la mayor parte de sus importaciones de México. El principal proveedor de Europa es Brasil, mientras que de Japón, los Estados Unidos, debido a la producción que tiene en el estado de Hawái (Safunkhe y Kadam, 1995).

En general, los mercados de papaya han mostrado un continuo y estable crecimiento y muchos importadores están optimistas con respecto al futuro de este producto. La clave del éxito para la papaya en el futuro, son los desarrollos en cuanto a variedades, avances en el manejo del cultivo, además del desarrollo de tecnologías para el transporte y manejo poscosecha (<http://www.semilladelceribe.com.mx/paginas/estadisticas.htm>).

**Cuadro 1.** Principales países productores de papaya a nivel mundial

---

País	Superficie (Hectáreas)	Producción (Toneladas métricas)	Rendimiento (Ton/ ha)
Brasil	35,000	1,700,000	48.6
Nigeria	90,000	751,000	8.3
México	19,694	612,558	29.2
Indonesia	23,551	489,948	20.8
India	40,000	644,000	11.2
Congo	13200	220,000	16.6
Perú	13,600	168,360	12.3
China	4,460	121,728	27.3
Tailandia	9,700	118,000	12.1
Venezuela	5,709	89,522	15.61
Ecuador	5,000	68,114	13.6
Filipinas	5,500	67,000	12.2
Colombia	2,300	64,000	27.8
Yemen	3,937	63,142	16.0
Malasia	5,300	53,000	10.0

---

Fuente: FAO 2000

**Cuadro 2.** Principales países exportadores e importadores del mercado internacional de la papaya.

---

Países	toneladas	Países	toneladas
Exportadores	métricas	Importadores	métricas
México	69000	Estados Unidos	84000
Malasia	54000	Singapur	27000
Brasil	23000	Hong Kong	23000
Estados Unidos	6,024	China	4,919
Jamaica	4,000	Japón	4,670
Belice	3,557	Reino Unido	3,606
Holanda	2,051	Canadá	3,291
Guatemala	1,467	Holanda	2,619
Costa Rica	1,000	Alemania	2,546
Ghana	1,000	Portugal	1,486
		Francia	1,269
		España	1,132

---

Fuente: Faostat Database FAO 2004

#### 2.4. Pérdidas Postcosecha de Papaya

En algunos países como EUA, específicamente en el estado de Hawai, se ha estimado que las pérdidas postcosecha de papaya ascienden en algunos casos hasta el 75% de la producción total (Paull y col., 1997). La mayoría de estas pérdidas ocurren durante la cosecha, empaque, transporte, almacenamiento y a nivel consumidor. Las pérdidas postcosecha se deben principalmente a enfermedades, desórdenes fisiológicos, daños mecánicos y madurez (Paull y col. 1997). Debido a estos problemas, aunado a las nuevas tendencias de los consumidores, es necesario buscar nuevas alternativas para la comercialización de este fruto, que garanticen la calidad del producto hasta las manos del consumidor. Por eso, el precortado de papaya sería una alternativa viable para diversificar e incrementar los volúmenes de papaya en el mercado con diferentes presentaciones.

#### 2.5. Factores que Afectan la Calidad en Frutos Cortados

Existen muchos factores que tienen influencia sobre la calidad de los productos cortados. Las condiciones de cultivo, las prácticas agrícolas, el cultivar, la madurez al momento de la cosecha, la inspección, el manejo postcosecha, el tiempo y condiciones de almacenamiento, son los principales factores que pueden afectar la calidad final del producto (Shewfelt, 1987). Otros factores que deben ser considerados son los equipos utilizados para realizar el corte, la higiene durante el proceso, así como el tamaño y área de los trozos de fruta (Kader, 2002).

A diferencia de la mayoría de las técnicas de procesado de alimentos que estabilizan los productos y aumentan la vida de anaquel, el proceso de pelado y cortado en frutas y verduras aumenta su perecibilidad, incrementando

la tasa de los procesos metabólicos que causan deterioro en los productos frescos (Vasconcelos, 2002).

### **2.5.1. Materia Prima**

Cada etapa del proceso de elaboración juega un papel importante en los mecanismos de alteración del producto. La obtención de frutos frescos cortados comienza por una buena selección de la materia prima (Martín y Rojas, 2004). Ésta debe ser de excelente calidad, ya que la calidad final, dependerá de la inicial utilizada (Watada y col., 1996). Los frutos deben recolectarse cuidadosamente, con óptimas condiciones de higiene y con el adecuado grado de madurez. Para asegurar la calidad que demanda el consumidor, debe usarse solo materia prima de alta calidad y seleccionar variedades que sean más resistentes para la preparación de productos cortados.

### **2.5.2. Madurez**

El estado de madurez del fruto en la cosecha, es un factor crítico en la calidad del producto final. Algunos frutos son cosechados en su madurez hortícola (verde-maduro) y mantienen una calidad aceptable por tiempo suficiente hasta su comercialización. Otros frutos, como los climatéricos, son cosechados en su madurez hortícola y maduran después de cosechados hasta obtener las características demandadas por el consumidor tales como: dulzura, jugosidad y textura (Shewfelt, 1987). La etapa de madurez del fruto es muy importante durante el proceso de cortado, ya que afecta la calidad y vida de anaquel. Por ejemplo, se ha observado que usar frutos sobremaduros, disminuye la vida de anaquel y la firmeza de pera y durazno (Gorny y col., 2000). Por otro lado, al utilizar frutos inmaduros, no se desarrollan las características de sabor y color deseadas (Gorny y col., 1998).

En un estudio realizado por Paull y Chen (1997), se encontró que papaya con 55-80% de piel amarilla es más recomendable para el procesamiento

mínimo. Los frutos con menos del 55% de piel amarilla presentan un mayor incremento en la respiración y producción de etileno, además de que la pulpa no está lo suficientemente blanda para ser consumida. Por lo contrario, los frutos con 100% de piel amarilla fueron demasiado blandos para su procesamiento. Debido a los diferentes patrones de maduración de los frutos, es importante seleccionar la madurez adecuada para cada producto y encontrar el punto exacto que garantice la calidad y una vida de anaquel suficiente (Brecht, 1995).

### **2.5.3. Especie y Variedad**

Las frutas y vegetales son muy diferentes fisiológicamente, y están formados por distintos tejidos y estructuras morfológicas (Brecht, 1995). Los productos hortofrutícolas se clasifican de acuerdo a su tasa y patrón de respiración, producción de etileno, sensibilidad al daño por frío y vida postcosecha (Kader, 1992). La producción de etileno varía entre especies, afectando no solo al fruto que lo produce, sino también a otros que estén expuestos a este gas como es el caso de las ensaladas mixtas (Brecht, 1995).

Las frutas y vegetales cortados son más perecederos que en su forma intacta. Por eso, es importante seleccionar las variedades que mantengan por más tiempo las características deseadas durante el almacenamiento. Esta selección incluye cultivares genéticamente modificados o mutantes con lenta maduración, mayor retención de firmeza o con mejoramiento de sabor y color (Romig, 1995).

La susceptibilidad de algunos productos al daño por frío, ha limitado el uso de bajas temperaturas para disminuir el deterioro de productos cortados. Para estos casos, es necesario seleccionar variedades menos sensibles al frío, que proporcionen mayor flexibilidad en el manejo de temperaturas, y que permitan extender la vida de anaquel (Brecht, 1995).

En la actualidad, se destinan pocos recursos para el desarrollo de variedades de frutas y verduras destinadas para un procesamiento mínimo. El disminuir la actividad de la polifenol oxidasa, puede reducir los procesos de oxidación y mantener buena apariencia de frutas y verduras cortadas (Roming, 1995). También, el reducir la actividad de las enzimas que degradan la pared celular, tales como poligalacturonasa, pectin metilesterasa,  $\beta$ -galactosidasa entre otras, ayudaría a mantener la firmeza y reducir la exudación de líquidos celulares, lo cual limitaría la disponibilidad de sustratos necesarios para el crecimiento microbiano (Kader y Mitcham, 2001).

#### **2.5.4. Pelado y Cortado**

Durante los procesos de pelado y cortado, ocurre la ruptura física de las células, permitiendo la liberación de enzimas y sustratos que se encuentran secuestradas en la vacuola. Estas enzimas se mezclan con otras enzimas y sustratos del citoplasma, provocando reacciones que aceleran el deterioro del producto. También se da un incremento significativo en la tasa de respiración, la producción de etileno y actividad de agua, lo cual favorece el crecimiento de microorganismos, ya que aumenta la disponibilidad de los azúcares y ácidos orgánicos. Estos cambios fisiológicos pueden acompañarse de pérdida de sabor, color, contenido de vitaminas y textura, disminuyendo en gran medida la vida de anaquel (Beaulieu y Gorny 2002).

El aumento en la producción de etileno ocasionado por el proceso de cortado de plátano (Abe y Watada, 1991) y kiwi (Agar y col., 1999), fue suficiente para acelerar su ablandamiento. De la misma forma, se observó que los niveles de actividad de ACC sintasa también aumentaron en tomate, calabaza y melón Cantaloupe, comparado con los frutos enteros (Abeles y col., 1992). Se ha reportado que un corte muy severo puede inducir un metabolismo anaeróbico en zanahorias, produciendo etanol y acetaldehído. Esto se atribuye



a la necesidad de producir las cantidades requeridas de ATP para la supervivencia de la célula (Kato-Noguchi y Watada, 1997).

Los efectos del pelado y cortado varían también entre frutos climatéricos y no climatéricos. La producción de etileno debido al corte es mayor en tejido preclimatérico y climatérico que cuando se utilizan frutas en estado postclimatérico. Sin embargo, no se observa ningún efecto en frutos no climatéricos (Toivonen y DeEll, 2002).

### **2.5.5. Temperatura y Humedad Relativa**

El almacenamiento a bajas temperaturas es la tecnología más importante que se utiliza para reducir el aumento en el metabolismo producido durante el procesamiento de frutas y verduras (Bretch, 1995). Las reacciones metabólicas se reducen de 2 a 3 veces por cada 10°C que se disminuyen en la temperatura de almacenamiento (King y Bolin, 1989). El incremento de la tasa de respiración y producción de etileno se ve minimizado cuando el proceso se lleva a cabo a bajas temperaturas. Se recomienda mantener temperaturas entre 2 y 5°C durante todo el proceso. Además, estas temperaturas se deben mantener durante el transporte y almacenamiento, para disminuir los procesos metabólicos y el deterioro del producto (Bretch, 1995). Debido al corto periodo de vida de los productos frescos cortados, el daño por frío no es un problema serio. En general, las frutas y vegetales cortados son menos sensibles al daño por frío que en su forma intacta. Algunos ejemplos son: piña, melón, sandía, nectarinas y mangos, los cuales desarrollan síntomas de daño por frío cuando se almacenan a temperaturas menores a 10°C, pero no así cuando se procesan (cubos, rodajas, etc.) (Beaulieu y Gorny, 2002).

La transpiración es el proceso de movimiento de agua de las células vegetales a la atmósfera circundante, siguiendo un gradiente de alta (espacio intracelular) a baja concentración (el aire circundante al producto) (Baldwin, 1994). Los frutos cortados son más susceptibles a la pérdida de agua debido a

la remoción de la piel que representa una barrera natural al vapor de agua, además, por efecto del corte se aumenta el área de exposición al medio ambiente (Ben-Yehoshua, 1987). Además, el daño mecánico ocasionado por el proceso de pelado y cortado, resulta en un aumento de la respiración y de reacciones metabólicas que aumentan la pérdida de agua (García y Barret, 2002).

La exposición del producto a humedades relativas por debajo del 85%, puede provocar la pérdida excesiva de agua, deshidratando y marchitando el tejido. Es necesario evitar la desecación de la superficie de algunos productos, para mantener una calidad visual aceptable. Por ejemplo, el desarrollo de manchas blancas en zanahorias peladas debido a la deshidratación, limitan su comercialización (Cantwell, 2002). Además, la deshidratación causa estrés, induciendo la producción de etileno, y como consecuencia afecta negativamente la calidad del producto (Yang, 1985). Por otro lado, humedades relativas cercanas al 100% dentro del envase, pueden favorecer la condensación de vapor de agua en la superficie interna de la película, dando un mal aspecto al producto. Además, esta alta humedad relativa crea un medio ideal para el crecimiento de microorganismos (Schilimme y Ronney, 1994). Por eso, se recomiendan procesos de centrifugación u otras operaciones que eliminen el exceso de agua de la superficie del producto y así reducir su deterioro (Cantwell, 2002).

#### **2.5.6. Contaminación Microbiológica**

Los frutos y vegetales frescos cortados son particularmente más susceptibles al ataque de microorganismos, debido a los daños que ocurren en el tejido durante el proceso. Las operaciones que se llevan a cabo como el pelado y cortado no solo brindan oportunidades para la contaminación, sino que además provocan daños a la estructura celular, favoreciendo la salida de nutrientes que son utilizados por los microorganismos (Heard, 2002).

A diferencia de otros tratamientos como el enlatado o congelamiento, los productos frescos cortados no son sometidos a ningún tratamiento térmico extremo. Estos productos son envasados en atmósferas modificadas y almacenados en refrigeración por un periodo de 10-15 días. Así, cuando son almacenados en humedades relativas altas, se puede crear un ambiente favorable por un tiempo suficiente para la proliferación de microorganismos que representan un problema de salud pública. (Ahvenainen, 1996)

Las frutas y vegetales se pueden contaminar cuando se encuentran en la planta, durante la cosecha, transporte y durante el procesamiento y empaquetado. La microflora de los productos frescos cortados es muy diversa, sin embargo, solo se evalúa un cierto grupo como coliformes totales y fecales, especies pectinolíticas, hongos y levaduras. Sin embargo, se debe poner atención en los microorganismos patógenos, debido a que la mayoría de estos productos son consumidos sin ningún tratamiento térmico (Nguyen-the y Carlin, 1994).

El tipo de microorganismos dependerá del tipo de producto que se procese, de la carga inicial, así como del origen de donde provenga (Brackett, 1994). Generalmente, los vegetales frescos tienen un alto contenido de agua y nutrientes, a un pH neutro, lo que permite que las bacterias sean las que se desarrollen en este medio (Brackett, 1987). Por otro lado, las frutas tienen un alto contenido de azúcares y un pH más ácido. Este pH bajo debido a la naturaleza de los ácidos orgánicos involucrados, inhiben el crecimiento de bacterias. Sin embargo, los hongos requieren de pH ácido, por lo que estos se desarrollan predominantemente en las frutas (Brackett, 1994) y no representan un daño para la salud humana (Gorny, 2001).

## 2.6 Cambios Físico-Químicos y Bioquímicos Debidos al Proceso

Cuando los frutos son cosechados, se remueven de su fuente de agua y nutrientes, éstos continúan respirando, utilizando sus reservas de azúcares y ácidos orgánicos, y por tanto agotan sus reservas energéticas y se deterioran más rápidamente. Los cambios que ocurren después de la cosecha son debidos principalmente al proceso de respiración, donde están involucradas una gran cantidad de reacciones metabólicas (Beaulieu y Gorny, 2002).

Cuando los frutos y vegetales son sometidos a un procesamiento mínimo se ocasiona un estrés, lo que conlleva a una aceleración de los procesos fisiológicos. Estos procesos provocan cambios que disminuyen la calidad, tales como pérdida de sabor, color, firmeza, y nutrientes, y por tanto, resultando en una vida de anaquel mas corta (Beaulieu y Gorny, 2002).

### **2.6.1. Sabor**

El sabor y aroma son atributos importantes para el consumidor, así que se deben considerar cuando se determina la vida útil de los productos cortados. El sabor de frutas y vegetales está determinado por el contenido de azúcares, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y volátiles (Kader, 2002).

La relación entre sólidos solubles (SS) y acidez titulable (AT) es utilizada como parámetro para determinar el sabor de algunos frutos. Se ha observado que ocurren pequeños cambios en pH, SS y AT en rodajas de manzanas de 12 cultivares, almacenadas a 2°C por 12 días (Kim y col., 1993). Sin embargo, en otros frutos como fresas cortadas, se observaron cambios en el contenido de SS durante el almacenamiento en diferentes atmósferas controladas por 7 días a 5°C (Wright y Kader, 1997). También, es de gran utilidad el uso de evaluaciones sensoriales con paneles entrenados o semientrenados para evaluar los cambios de sabor durante el almacenamiento. Por ejemplo, al evaluar sensorialmente frutos cortados de melón Honeydew, kiwi, papaya, piña

y melón Cantaloupe almacenados a 4°C, se encontró que estos fueron inaceptables después de 7, 4, 2, 7 y 4 días, respectivamente (O'Connor-Shaw y col., 1994).

### **2.6.2. Color**

El control de la decoloración y oscurecimiento de la superficie de frutas y vegetales es de suma importancia durante el procesamiento. Estos productos son vulnerables a la decoloración debido al daño causado a las células, los tejidos y a la falta de una cubierta de protección.

El oscurecimiento enzimático es considerado el principal factor que afecta al color de los frutos frescos cortados. Las reacciones que ocurren en el oscurecimiento enzimático en productos vegetales están catalizadas por las polifenoloxidasas que intervienen en la hidroxilación de monofenoles a o-difenoles: monofenol monooxigenasa, o tirosinasa; y en la oxidación de o-fenoles a o-diquinonas: catecolasa (Weeb, 1992), seguido de la formación de melaninas mediante una reacción no enzimática (Josling y Pointing, 1951). La intensidad del oscurecimiento está influenciada por la concentración de formas activas de la enzima y por el contenido de fenoles del tejido vegetal. Este contenido de fenoles depende de numerosos factores, como son la variedad, la madurez del fruto, o incluso los factores medioambientales (Cano y col., 2004).

En frutos climatéricos, el estado de madurez óptimo para realizar el procesamiento corresponde a un punto en el que el fruto está cercano a la madurez plena, pero sin alcanzarla. En algunos frutos, como el melón, la sandía y los frutos cítricos, los cambios enzimáticos de color de los tejidos están relacionados en primera instancia con la acción de las peroxidases (POD). La actividad de peroxidasa provoca también oxidaciones que afectan a aquellos constituyentes de los tejidos vegetales con capacidad de donar hidrógeno (Padiglia y col., 1995).

### **2.6.3. Firmeza**

La textura es un factor de calidad que diferencia alimentos frescos y procesados. Las células de frutas y vegetales frescas de alta calidad poseen una gran turgencia (Huxsoll y col., 1989). Debido a las características de los frutos cortados, la firmeza es considerado un atributo de calidad importante que puede ser afectado principalmente por las enzimas pectinolíticas y la pérdida de agua (Beaulieu y Gorni, 2002). Karakurt y Huber (2003) compararon la pérdida de firmeza de frutos enteros y cortados de papaya, encontrando que los frutos cortados pierden 36% de firmeza después de dos días de almacenamiento a 5°C. En contraste, los frutos enteros presentaron un ligero decremento en la firmeza después de 4 días de almacenamiento a las mismas condiciones. Estos autores concluyeron que la pérdida de firmeza se debe a que los frutos cortados presentaron mayor actividad de las enzimas pectinolíticas, en comparación con los frutos enteros.

Las pectinas están formadas por cadenas de unidades de ácido D-galacturónico con enlaces  $\alpha$ -1,4, las cuales están esterificadas en diferentes grados con metanol (Martín-Cabrejas y col., 1995). Uno de los principales cambios que ocurren durante el ablandamiento de las frutas y vegetales, es la progresiva solubilización y depolimerización de las sustancias pécticas (McNeil y col., 1984). Los iones de calcio y las enzimas pectinolíticas participan en el proceso de ablandamiento. Hay diferentes maneras en las cuales el calcio interviene en la pérdida de la firmeza. La pérdida de calcio de la lámina media reduce los enlaces iónicos entre las moléculas de pectina. Esta pérdida de la fuerza iónica, puede reducir la regulación de la actividad de las hidrolasas de la pared celular y la turgencia celular (Toivonen y DeEll, 2002).

El modo de asociación de las enzimas de la pared celular es muy variado: las hay solubles en el medio que embebe la pared, unidas mediante interacciones iónicas o incluso por uniones covalentes, algunas de ellas tan fuertemente que es imposible solubilizarlas por métodos no desnaturizantes

(Goldberg, 1985). Se ha postulado que la asociación iónica de las enzimas a la membrana celular se dá a través de las pectinas ácidas, y las asociadas covalentemente, mediante la parte glicídica de la molécula. Las enzimas mas fuertemente unidas podrían unirse mediante puentes isodilrosina, que podrían ser necesarios incluso para su actividad enzimática (Fry, 1986).

Las enzimas de la pared celular pueden catalizar la hidrólisis o la transglicosidación de los polisacáridos de la matriz, la interconexión de polímeros mediante enlaces covalentes o no covalentes, o facilitando la incorporación de nuevas proteínas estructurales de la pared celular (Lamikanra, 2002)

Se han descrito numerosas actividades enzimáticas asociadas a las paredes celulares de frutos, fundamentalmente aquellas relacionadas con el proceso de maduración, sin embargo solo se mencionarán aquellas involucradas en este estudio.

La  $\beta$ -galactosidasa actúa hidrolizando el enlace glicosídico a partir del extremo no reductor del ácido poligalacturónico, liberando moléculas de galactosa (Jan De Veau y col., 1993). Durante el desarrollo del fruto, en los estadios de división, aumenta el contenido de esta enzima, decreciendo inmediatamente después, e incrementando sus niveles de nuevo durante la maduración (Ahamed y Labavitch, 1980).

Por otra parte, las poligalacturonasas (PG) catalizan la hidrólisis de los enlaces  $\alpha$ -1,4 entre residuos galacturonosil. La exopoligalacturonasa actúa sobre los residuos terminales, mientras que la endo-poligalacturonasa hidroliza los enlaces en forma aleatoria (Laminkara, 2002). Las poligalacturonasas presentan una gran asociación temporal con la maduración de los frutos, por lo que a menudo, se les ha relacionado con su ablandamiento (Huber, 1983). Existen evidencias de que los frutos inmaduros, o en fase de crecimiento, presentan un bajo contenido en pectinas solubles, aumentando notablemente durante la maduración, al mismo tiempo que las pectinas de la pared celular

son degradadas por la acción de la poligalacturonasa (Ahamed y Labavitch, 1980).

La pectin metilesterasa (PME) es una enzima de gran importancia durante la maduración de los frutos. Esta enzima elimina los grupos metilo esterificados en C-6 de los residuos de ácido galacturónico de las pectinas. Esto hace que las pectinas aumenten su carga negativa, posibilitando la formación de nuevos puentes de calcio entre ellas (Fry, 1988). Otros autores apuntan a que el aumento de la carga puede forzar la separación de cadenas pécticas, aumentando la relajación de las capas de polisacáridos y la accesibilidad de las enzimas a sus sustratos (Carpita y col., 1979). Además, se ha demostrado que las poligalacturonasas son más activas contra pectinas demetilesterificadas, debido posiblemente a que necesitan dos grupos carboxilo adyacentes libres (Koch y Nevins, 1989). De esta forma la pectin metilesterasa puede jugar un papel importante en la accesibilidad a la degradación de las pectinas por las poligalacturonasas (Koch y Nevins, 1989).

Otro punto importante es que presenta un pH óptimo neutro, o incluso, algo básico, frente a los pHs óptimos ácidos de la mayoría de las enzimas de la pared. Por lo tanto, se supone que esta enzima actúa en primer lugar, generando un descenso del pH, que causará una disminución de su actividad y un aumento en el resto de las enzimas, entre ellas la poligalacturonasa (Rexobá-Benková y Markovic, 1976).

#### **2.6.4. Valor Nutricional**

Los compuestos responsables del potencial saludable en frutas y vegetales cortados están determinados por la especie vegetal de que se trate, de su estado fisiológico y del tipo de tejido (Cano y col., 2004). Sin embargo, hasta el momento el valor nutricional de cada producto vegetal no ha sido una característica condicionante de su utilización como materia prima en la elaboración de los productos precortados.



Por lo tanto, existe muy poca literatura sobre los cambios que pueden sufrir los constituyentes relacionados con el potencial nutritivo, tales como vitaminas, azúcares, aminoácidos u otros componentes. Se puede decir que en general, el contenido de vitamina C decrece en casi todos los tejidos vegetales procesados durante su almacenamiento (Cano y col., 2004).

Se ha descrito la influencia de las condiciones de envasado sobre el contenido de vitamina C en rodajas de kiwi (Agar y col., 1999). De este estudio se concluye que las atmósferas ricas en O<sub>2</sub> estimulan la oxidación del ácido ascórbico y/o inhiben la reducción del ácido dehidroascórbico. También el contenido de azúcares parece no verse afectado durante la conservación frigorífica de los trozos de: pera (Senesi y col, 1999), manzanas (Bett y col, 2002), kiwi (Agar y col., 1999) y melón (Laminkara y col, 2000). En este último trabajo sobre melón Cantaloupe describen que la pérdida en el contenido de aminoácidos de los trozos de este fruto, es dependiente de la temperatura de conservación empleada, siendo 4°C la temperatura más adecuada para la conservación y comercialización de este producto.

### 2.7. Métodos para Reducir el Deterioro

Considerando el tiempo requerido para el procesamiento, empaque, comercialización y distribución, se estima un periodo de 15 a 20 días a partir del inicio del proceso hasta la mesa del consumidor. Esto, aunado a la corta vida útil de los productos cortados, conlleva a la necesidad de buscar métodos efectivos y económicos para proteger estos productos y garantizar su seguridad durante este periodo. Actualmente se utilizan varias tecnologías para la conservación de frutos y vegetales cortados como el uso de atmósferas modificadas, aditivos, antioxidantes, cubiertas comestibles, entre otras (Watada y Qi, 1999).

### **2.7.1. Envasado en Atmósferas Modificadas**

El sistema de empaçado en atmósferas modificadas (MAP), consiste en almacenar un producto en una atmósfera distinta a la del aire (21% O<sub>2</sub>, 0.03% CO<sub>2</sub> y 78.9 N<sub>2</sub>), con el propósito de disminuir la respiración, el crecimiento microbiano y las reacciones enzimáticas (Kader, 1986).

El envasado de los productos cortados en bolsas de polietileno o bandejas de poliestireno, cubiertas con películas plásticas con apropiada permeabilidad a los distintos gases de interés, es la forma más común de comercializar estos productos (González-Aguilar y col., 2001). Sin embargo, la selección del material para crear la atmósfera modificada depende de los requerimientos específicos del producto (Kader y col., 1989).

Existen dos tipos de atmósferas modificadas. Una de ellas consiste en la modificación pasiva de la atmósfera creada naturalmente por el producto (Gorny, 1997). Por otro lado, el otro tipo llamado atmósferas controladas, consiste en retirar la atmósfera dentro del envase y remplazarla por un flujo de gases con la concentración deseada (Schlimme y Rooney, 1994).

Las atmósferas modificadas recomendadas para mantener la calidad y vida de anaquel de productos cortados están en un rango de concentraciones de 2 a 8% de O<sub>2</sub> y de 5 a 15% de CO<sub>2</sub> (Cantwell y Suslow, 2002). Sin embargo, con niveles de O<sub>2</sub> más bajos se puede inducir la respiración anaeróbica, con la subsecuente acumulación de metabolitos indeseables. En estas condiciones, la ruta glicolítica remplaza al ciclo de Krebs, el ácido pirúvico no es completamente oxidado y es descarboxilado para formar acetaldehído, CO<sub>2</sub> y por último etanol, desarrollándose olores y sabores desagradables (Kader, 1986).

### **2.7.2. Refrigeración**

El almacenamiento a bajas temperaturas puede extender la vida de anaquel de los productos cortados. A temperaturas de 4 a 15°C, se disminuye

la tasa de respiración, la producción de etileno, retarda la maduración y el crecimiento microbiano. Sin embargo, en algunos casos las bajas temperaturas pueden causar daño por frío principalmente en frutos tropicales y subtropicales (Baldwin y col, 1995). Cabe mencionar que en estudios recientes se ha observado que mango, papaya y piña cortados y almacenados a 5°C, no presentaron síntomas de daño por frío (González-Aguilar y col., 2001, González-Aguilar y col., 2004).

### **2.7.3. Aditivos**

Una de las tecnologías más utilizadas en la industria de frutas y vegetales cortados es la incorporación de aditivos con funciones específicas. Se ha observado que el uso de ácido benzoico, benzoato de sodio, ácido sórbico, sorbato de potasio, entre otros, es efectivo para retrasar el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias. Sin embargo, su efectividad es limitada debido a que el aditivo se difunde hacia el alimento y la concentración en la superficie disminuye permitiendo la contaminación por microorganismos (Baldwin y col., 1995).

Los antioxidantes son otro tipo de aditivos que son incorporados a los frutos para evitar principalmente el oscurecimiento enzimático causado por la reacción de la PPO en presencia de O<sub>2</sub> y sustratos fenólicos (Sapers y Millar, 1998). Los sulfitos se han utilizado durante mucho tiempo para prevenir el oscurecimiento y deterioro, sin embargo, su uso se ha visto limitado debido a que se han relacionado con problemas en la salud (FDA, 1989). Es por eso que se ha incrementado el interés por buscar nuevas alternativas para prevenir el oscurecimiento en frutas y vegetales (Howard y col., 1994). Actualmente, se ha encontrado que el uso de ciertos compuestos como el ácido cítrico, acetil cisteína, ácido isoascórbico, entre otros, solos o en combinación inhiben el oscurecimiento y mantienen la calidad de frutas y vegetales cortados (González-Aguilar y col., 2000).

La aplicación de cloruro de calcio es uno de los tratamientos mas estudiados para reducir la pérdida de firmeza en frutos cortados (Toivonen y DeEll, 2002). Los iones de calcio son capaces de formar uniones entre los grupos carboxil libres de las cadenas de pectina, manteniendo la firmeza de la pared celular (García y Barret, 2002). En un estudio se probó la inmersión de cubos de melón en cloruro de calcio combinados con tratamientos hidrotérmicos y se encontró que estos tratamientos fueron capaces de disminuir la pérdida de textura en comparación con el control (Luna-Guzmán, 1999). Otros trabajos han demostrado que el uso de sales de calcio en combinación con ácido ascórbico, reduce la pérdida de firmeza y deterioro de diferentes variedades de mango (Celis-Salas, 2003).

#### **2.7.4. Cubiertas Comestibles**

La aplicación de barreras físicas como recubrimientos en la superficie de las frutas puede regular la permeabilidad al O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y vapor de agua, retardando el proceso natural de maduración. Además de preservar contra el crecimiento de microorganismos (Mellenthin y col., 1982). Laurie y colaboradores (1986) señalan que otro de los beneficios potenciales de las cubiertas comestibles, es la reducción en la sensibilidad a las bajas temperaturas de almacenamiento.

Actualmente, las cubiertas son elaboradas con ceras, ácidos grasos, aceites, proteínas, carbohidratos, o alguna combinación de ellos (Baldwin, 1994). Estas, deben cumplir con algunos requisitos fundamentales como ser buenas barreras para evitar la pérdida de humedad, solutos, gases, y ser solubles en agua o lípidos. Además, de cumplir con buenas características de color, apariencia, características mecánicas, reológicas y no ser tóxicas, entre otras (Baldwin, 1995).

## 2.8. Quitosano

El desarrollo de las investigaciones sobre cubiertas a base de polisacáridos, se ha inclinado hacia la utilización del quitosano. Éste, es una molécula policatiónica lineal, formada por unidades de glucosamina con uniones  $\beta$  (1-4) (**Figura 2**). Es obtenida por desacetilación alcalina a partir de quitina, segundo polisacárido más abundante en la tierra después de la celulosa (Muzzarelli, 1977). El quitosano proviene de una fuente natural y renovable, ya que se obtiene a partir de desechos primarios de industrias procesadoras de crustáceos. Es biodegradable y no contaminante, biocompatible tanto en tejidos animales como vegetales, biológicamente funcional y no es tóxico (Li y col., 1992).

El quitosano es soluble en soluciones ácidas débiles en condiciones específicas. En estas soluciones, los grupos amino del quitosano están protonados ( $\text{NH}_3$ ). Estos grupos amino, gobiernan las propiedades funcionales del quitosano en sus distintas aplicaciones (Park y col., 1983). El grado de desacetilación representa la sustitución de los grupos cetoamidos por grupos amino. Uchida (1988) reportó que la actividad del quitosano era dependiente del total del número de grupos amino en la molécula, sin embargo no identificó el efecto del peso molecular.

### **2.8.1. Capacidad filmogénica**

Debido a sus propiedades viscoelásticas, el quitosano tiene la propiedad de formar películas semipermeables. El uso de estas películas ha sido estudiado por varios autores (Kester y Fennema, 1986; Chen y col., 1998). Ellos reportan que estas películas exhiben moderada permeabilidad al vapor de agua y son una buena barrera a la permeabilidad al oxígeno. Se ha reportado que el

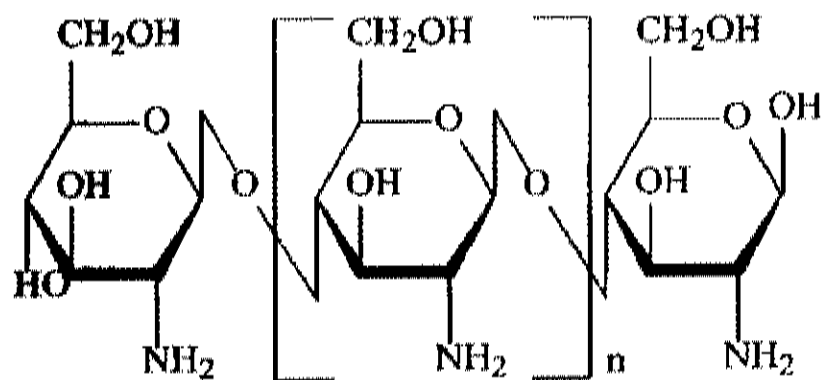


Figura 2. Estructura molecular del quitosano

uso de cubiertas de quitosano extienden la vida de anaquel y reducen el deterioro de duraznos, peras japonesas, kiwis, pepinos, chile bell, fresas y tomates (El Ghaouth y col., 1991a, El Ghaouth y col., 1991b). También se han aplicado en mango y plátano, los cuales mantuvieron una mejor calidad con respecto al control (Kittur y col., 2001). Estos beneficios se atribuyen al decremento en la tasa de respiración del fruto, debido a la reducción de la producción de etileno y CO<sub>2</sub>. Además, esta película puede actuar como barrera para impedir el flujo de nutrientes y consecuentemente disminuir la relación nutricional entre el patógeno y el hospedero.

### **2.8.2. Capacidad antimicrobiana**

El aumento de la demanda de alimentos libres de conservadores químicos ha impulsado la búsqueda de nuevos antimicrobianos de origen natural (Wang, 1992). Esto debido a los efectos negativos que se han desarrollado en la salud del humano provocados por los residuos de fungicidas químicos, además del desarrollo de tolerancia de los microorganismos patógenos hacia dichos químicos. Por eso, la actividad antimicrobiana del quitosano hacia diferentes grupos de microorganismos como bacterias, levaduras y hongos, ha recibido considerable atención en los últimos años (Hirano y Nagao, 1989).

La actividad antimicrobiana del quitosano se debe a su carácter policationico a pH menor de 6 (Chen y col., 1998). El mecanismo exacto de esta actividad no es bien conocido, pero se han propuesto diferentes modos de acción. Uno de ellos es que la interacción entre las moléculas de quitosano cargadas positivamente con la membrana celular del microorganismo, afectan la permeabilidad de ésta y permite la salida de proteínas y otros compuestos intracelulares (Chen y col., 1998; Young y col., 1982). Otros sugieren que la capacidad quelante del quitosano, une selectivamente trazas de metales inhibiendo la producción de toxinas y el crecimiento microbiológico (Fajardo y

col., 1995). El quitosano induce el desarrollo de procesos de defensa propios del fruto, como la producción de fitoalexinas, la activación de la quitinasa y  $\beta$ -glucanasa, enzimas que degradan la pared celular de hongos patógenos, así como la inactivación de otras enzimas responsables del deterioro de los frutos como la polifenol oxidasa (PPO) y la peroxidasa (El Ghaouth y col., 1991). Por último, se cree que la unión del quitosano con el DNA y la inhibición de la síntesis de RNAm y otras proteínas, ocurre cuando éste penetra al núcleo del microorganismo (Sudharshan y col., 1992).

#### 2.8.2.1. Bacterias.

La actividad antimicrobiana del quitosano contra algunas bacterias patógenas ha sido estudiada por varios autores. Wang (1992), observó que una concentración de quitosano de 1-1.5% es requerida para la inactivación de *Staphylococcus aureus* después de dos días de incubación a pH 5.5-5.6. Por otra parte, Chang y col. (1989) encontraron que concentraciones de 0.005% eran suficientes para inactivar a esta bacteria. Otros estudios han mostrado el efecto del quitosano en la inhibición de *E. coli*. Wang (1992) observó la inactivación completa después de un periodo de dos días de incubación con concentraciones de 0.5 o 1%, a pH 5.5. Sin embargo, Darmadji e Izumimoto (1994) reportaron que concentraciones mayores a 0.1% eran requeridas para la inhibición de *E. coli*. Por su parte, Simpson y col. (1997) encontraron que solo 0.0075% de quitosano era suficiente para dicha inhibición. Las variaciones que existen entre las distintas investigaciones, probablemente se deban a las diferencias del grado de acetilación y del peso molecular del quitosano utilizado.

El grado de desacetilación representa la sustitución de los grupos cetoamidos por grupos amino. Uchida (1988) reportó que la actividad del quitosano era dependiente del total del número de grupos amino en la molécula, sin embargo no identificó el efecto del peso molecular.



De acuerdo a los resultados obtenidos, es posible que el quitosano actúe en la superficie de las bacterias inhibiendo su crecimiento y desarrollo. A bajas concentraciones, los cationes del quitosano, probablemente se unen a la superficie de las bacterias cargadas electronegativamente, causando aglutinación. Mientras que a altas concentraciones, la gran cantidad de cargas positivas pueden crear una carga neta positiva en la superficie de las bacterias, manteniéndolas en suspensión (Shahidi y col., 1999). En el **Cuadro 3** se muestran las concentraciones mínimas de quitosano y algunos derivados utilizados para la inhibición de ciertas cepas bacterianas.

#### 2.8.2.2. Hongos

El uso de sustancias bioactivas como el quitosano para el control de enfermedades fúngicas poscosecha de frutas y hortalizas ha atraído mucha atención debido a los constantes problemas asociados con fungicidas químicos (El Ghaouth y col., 1992). El quitosano reduce el crecimiento *in vitro* de muchos hongos, a excepción de *Zygomycetes* (Allan y Hadwiger, 1979). Además, la formación de una película semipermeable, tiene doble función, la interferencia directa contra el crecimiento de hongos y la activación de varios procesos de defensa. Estos mecanismos incluyen la acumulación de quitinasas, síntesis de inhibidores de proteasas, lignificación e inducción de síntesis de callos (El Ghaouth y col., 1991).

**Cuadro 3.** Concentraciones mínimas inhibitorias (MIC, ppm) de quitosano y algunos derivados para diferentes bacterias

<b>Bacteria</b>	<b>DD69</b>	<b>SC1</b>	<b>SC2</b>	<b>SBC</b>
<b>Gram positivas</b>				
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	100	>2000	200
<i>Listeria monocytogenes</i>	100	100	>2000	100
<i>Bacillus cereus</i>	1000	500	NT	>2000
<b>Gram negativas</b>				
<i>Escherichia coli</i>	100	100	NT	100
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	100	100	>2000	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	200	200	>2000	2000
<i>Shigella dysenteriae</i>	200	100	>2000	100
<i>Vibrio cholerae</i>	200	>2000	>2000	2000
<i>Aeromonas hydrophila</i> YMI	500	200	>2000	200
<i>Aeromonas hydrophila</i> CRC	2000	200	>2000	200
13881				
<i>Salmonella typhimurium</i>	>2000	200	>2000	2000

DD69= quitosano con 69% de desacetilación; SC1 quitosano sulfonado con 63% S; SC2= quitosano sulfonado 13.03% S; SBC= sulfobenzoil quitosano; NT= no probado.

Fuente: Chen y col., 1998

El efecto antifúngico del quitosano en el crecimiento de patógenos en fresa fue estudiado por El Ghaouth y col. (1992). De acuerdo con este estudio, el quitosano reduce marcadamente el crecimiento *in vitro* de *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*. Estos autores remarcan la importancia del número de cargas positivas a lo largo de la cadena del polímero debido a que observaron una actividad antifúngica mas baja con N,O-carboxymetilquitosano, comparado solo con quitosano.

En un estudio *in vivo*, el Ghaouth y col. (1991) reportaron signos de infección en frutas cubiertas con quitosano a los 5 días de almacenamiento a 13 °C comparado con un día para el control. En fresas cubiertas con quitosano (15 mg/mL) almacenadas durante 14 días se redujo el deterioro causado por el mismo hongo mas del 60%. Además de que las frutas tratadas no presentaron ningún signo aparente de fitotoxicidad. Savage y Savage (1994), reportaron que manzanas tratadas con quitosano redujeron la contaminación por hongos por más de 12 semanas almacenadas en refrigeración. Posiblemente, este efecto se debe a la activación de la quitinasa, una enzima de defensa encontrada en tejidos vegetales, la cual degrada la pared celular de los hongos.

La inmersión de racimos de uva en soluciones de quitosano mostraron reducción de la infección por *Botrytis cinerea*, debido a la combinación de sus propiedades antifúngicas y la capacidad de estimular mecanismos de defensa (Romanazzi y col., 2002). En un estudio en vainas de chícharos, se observó una acumulación de la fitoalexina pisantina (Hadwiger y Beckman, 1980). También se ha estudiado el efecto sinergista que se desarrolla en la formación de compuestos fenólicos con la adición de quitosano en algunos granos, controlando el hongo *A. flavus*, y evitando así, la contaminación por aflatoxinas (Fajardo y col., 1995). Estos resultados sugieren que las películas de quitosano o sus derivados, pueden tener efectos positivos en la vida de anaquel de frutas y hortalizas.

### **2.8.3. Inhibición de enzimas causantes del deterioro de frutas y vegetales**

Los daños mecánicos que ocurren durante el manejo poscosecha, ocasionan reacciones enzimáticas que dan origen al oscurecimiento de frutas y vegetales (Ju y col., 1998). Los compuestos fenólicos, aunado con la actividad de la polifenol oxidasa, son los responsables de este fenómeno, el cual afecta el color, sabor y valor nutricional.

El efecto de la aplicación de una cubierta con quitosano en frutos de litchi, mantuvo el contenido de antocianinas, flavonoides, y fenoles totales. También se observó una disminución en la actividad de la PPO e inhibió parcialmente el incremento de la actividad de la peroxidasa (Zhang y Quantick, 1997). La aplicación de una cubierta de quitosano en frutos cortados de water chestnut disminuyó la actividad de PAL, PPO y POD, así como el contenido de fenoles totales (Pen y Yiang, 2003).

Cuando se evaluó el efecto de la aplicación de cubiertas de quitosano en tomate, sobre la actividad de las enzimas pectin metilesterasa, poligalacturonasa y pectato liasa (causantes de la degradación de la pared celular), se encontró que la actividad de estas enzimas fue 50% menor que la de los frutos control (Bashkara y col., 2002).

De acuerdo a los antecedentes bibliográficos, existen pocos estudios sobre la aplicación de cubiertas comestibles de quitosano en frutos cortados. Sin embargo, debido a sus propiedades y a los estudios que se han realizado, podría ser considerado como una alternativa para mantener la calidad de frutas y vegetales cortados.

### **2.8.3. Inhibición de enzimas causantes del deterioro de frutas y vegetales**

Los daños mecánicos que ocurren durante el manejo poscosecha, ocasionan reacciones enzimáticas que dan origen al oscurecimiento de frutas y vegetales (Ju y col., 1998). Los compuestos fenólicos, aunado con la actividad de la polifenol oxidasa, son los responsables de este fenómeno, el cual afecta el color, sabor y valor nutricional.

El efecto de la aplicación de una cubierta con quitosano en frutos de litchi, mantuvo el contenido de antocianinas, flavonoides, y fenoles totales. También se observó una disminución en la actividad de la PPO e inhibió parcialmente el incremento de la actividad de la peroxidasa (Zhang y Quantick, 1997). La aplicación de una cubierta de quitosano en frutos cortados de water chestnut disminuyó la actividad de PAL, PPO y POD, así como el contenido de fenoles totales (Pen y Yiang, 2003).

Cuando se evaluó el efecto de la aplicación de cubiertas de quitosano en tomate, sobre la actividad de las enzimas pectin metilesterasa, poligalacturonasa y pectato liasa (causantes de la degradación de la pared celular), se encontró que la actividad de estas enzimas fue 50% menor que la de los frutos control (Bashkara y col., 2002).

De acuerdo a los antecedentes bibliográficos, existen pocos estudios sobre la aplicación de cubiertas comestibles de quitosano en frutos cortados. Sin embargo, debido a sus propiedades y a los estudios que se han realizado, podría ser considerado como una alternativa para mantener la calidad de frutas y vegetales cortados.

---

### 3. HIPÓTESIS

Las cubiertas de quitosano ayudan a mantener la calidad microbiológica y disminuyen la actividad de enzimas causantes del deterioro, de papaya fresca cortada.

### 4. OBJETIVOS

#### Objetivo General

Evaluar el efecto de las cubiertas de quitosano sobre la calidad microbiológica y vida de anaquel de papaya fresca cortada procesada almacenada a 5° C.

#### Objetivos Particulares

- Determinar el grado de acetilación y peso molecular de los quitosanos obtenidos.
- Analizar el efecto de las cubiertas de quitosano sobre los cambios físico-químicos durante el almacenamiento a 5° C.
- Evaluar los cambios en la actividad de las enzimas PME, PG y b-galactosidasa durante el almacenamiento a 5° C.
- Analizar la calidad microbiológica del producto durante el almacenamiento a 5° C.

---

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Material Vegetal

Para este estudio se utilizaron frutos de papaya variedad "Maradol", los cuales se obtuvieron de una comercializadora de frutos de la localidad. Los frutos se seleccionaron de manera uniforme por madurez, tamaño, libres de infección y defectos físicos. Posteriormente, fueron lavados con una solución clorinada (200 ppm) durante 5 minutos y secados a temperatura ambiente. Después fueron pelados y cortados manualmente con cuchillo afilado en cubos de 2 x 2 cm aproximadamente.

### 5.2. Depolimerización y Caracterización del Quitosano

#### **5.2.1. Depolimerización del Quitosano**

El quitosano utilizado en este experimento fue proporcionado por el Laboratorio de Biopolímeros del CIAD. La **Figura 3** muestra el diagrama de los pasos que se llevaron a cabo para la depolimerización. El quitosano nativo se solubilizó en HCl 0.1 M. Posteriormente, se depolimerizó para obtener tres pesos moleculares distintos (bajo, mediano y alto) con nitrito de sodio. La depolimerización se llevó a cabo por 2 horas en agitación lenta a temperatura ambiente. Después, el quitosano fue precipitado con acetona a  $-40^{\circ}\text{C}$ . Por último se liofilizó el precipitado. De esta manera se obtuvo quitosano en forma de clorhidrato, el cual es soluble en agua.

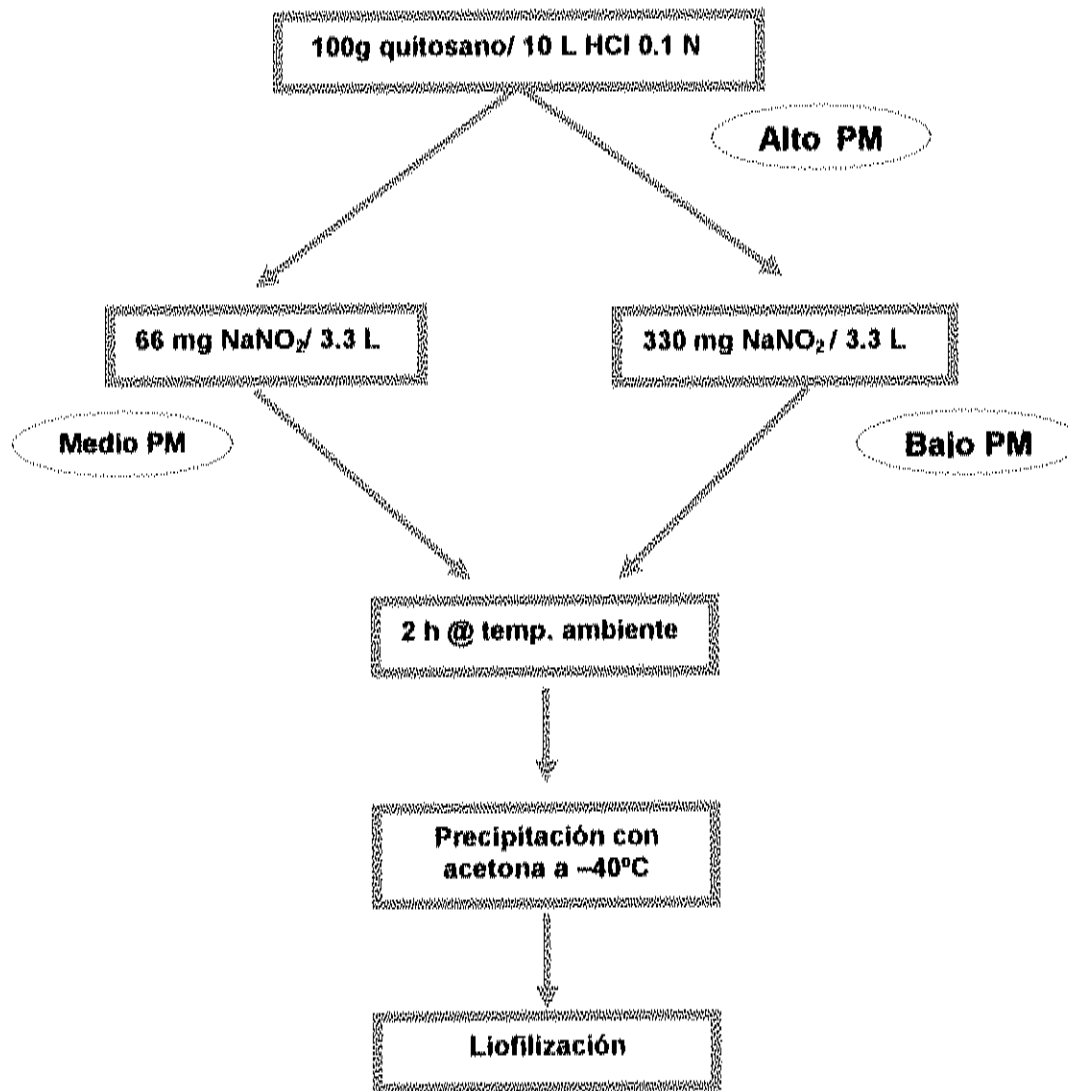


Figura 3. Diagrama de flujo de la obtención de quitosano de bajo, mediano y alto peso molecular.



### 5.2.2. Grado de Acetilación

Se determinó el grado de acetilación del quitosano (bajo, mediano y alto peso molecular) por espectroscopía de infrarrojo (Brugnerotto y col., 2001). Los cálculos se realizaron a partir de los espectros de absorbancia utilizando la siguiente ecuación:

$$GA (\%) = 31.92 \times (A_{1320}/A_{1420}) - 12.2$$

Los espectros de infrarrojo de los quitosanos se obtuvieron empleando pastillas formadas con mezcla de muestra-KBr, en proporción 1-100. La absorbancia de las bandas de interés de los espectros se determinó mediante el análisis digital de los espectros con el programa Microcal Origin 6.0 (Microcal Software Inc., Northampton, MA, USA).

### 5.2.3. Peso Molecular

El peso molecular de los quitosanos obtenidos se determinó por el método de viscosidad intrínseca (Sun, 1994). La viscosidad intrínseca ( $[\eta]$ ) se obtuvo a partir de la medición de la viscosidad relativa ( $[\eta]_{rel}$ ). Para cada muestra se preparó una serie de 4 soluciones diluidas en ácido acético 0.3 M con 0.2 M de acetato de sodio. A éstas, al igual que el solvente, se les determinó el tiempo de paso por un viscosímetro capilar Ubbelohde a 25°C en un baño de agua Koheler, modelo K-23400 (Instrument Company Inc., Bohemia, NY, USA). El valor de ( $[\eta]_{rel}$ ) se calculó con la siguiente ecuación:

$$([\eta]_{rel}) = t_x / t_s$$

Donde  $t_x$  y  $t_s$  corresponden al tiempo de paso de la solución y del solvente, respectivamente. Se procuró que la ( $[\eta]_{rel}$ ) se mantuviera en el intervalo de 1.2 a 2 con todos los tiempos de paso de más de 100 segundos.

El valor de viscosidad intrínseca ( $[\eta]$ ) se determinó con los valores de ( $[\eta_{rel}]$ ) mediante la extrapolación gráfica conjunta de las curvas obtenidas de las ecuaciones de Huggins, Kraemer y "punto crítico", a una concentración teórica de polímero igual a 0 (Morris, 1984).

Posteriormente, se calcularon los valores de peso molecular a partir de los valores de ( $[\eta]$ ), empleando la ecuación de Mark-Houwink. Las constantes utilizadas para K y  $\alpha$  fueron 0.069 mL/g y 0.77 respectivamente (Rinaudo y col., 1993).

$$\eta = K \cdot Mv^{\alpha} \quad \text{ecuación de Mark-Houwink}$$

donde:

$\eta$  = viscosidad intrínseca

Mv = peso molecular

K y  $\alpha$  = constantes empíricas

### 5.3. Tratamientos

Para los tratamientos se prepararon soluciones de quitosano de los tres pesos moleculares a concentraciones del 1 y 2% p/v con agua destilada estéril. El pH fue ajustado a 5.6 con NaOH 1 N. Los cubos de papaya se sumergieron en las distintas soluciones por 2 minutos. Se secaron con toallas de papel para eliminar el exceso de líquido y se envasaron en charolas de poliestireno de 500 cm<sup>3</sup> (6 cubos en cada charola). Una vez envasados se almacenaron por 15 días a 5°C. Se utilizaron 30 charolas por tratamiento. Para el control se utilizó agua destilada a pH 5.6.

Se evaluaron los parámetros de calidad con intervalos de 3 días. Se evaluó subjetivamente el índice de deterioro. Los parámetros fisicoquímicos

evaluados fueron: color ( $L^*$ ,  $b^*$ ), textura, pH, sólidos solubles totales, acidez titulable y pérdida de peso. Estas mediciones se realizaron a temperatura ambiente (25°C). Dentro de las evaluaciones bioquímicas se midió la producción de etanol y acetaldehído, la actividad de pectin metil esterasa (PME), poligalacturonasa (PG) y  $\beta$ -galactosidasa. También se evaluó cada 7 días, la calidad microbiológica, midiéndose la cuenta total, hongos, levaduras y coliformes totales y fecales.

#### 5.4. Evaluación Subjetiva

##### **5.4.1. Índice de Deterioro**

El índice de deterioro de los cubos de papaya se evaluó subjetivamente de acuerdo a una escala descrita por Mercado-Silva y col. (1998). Esta escala va de 1-5, donde 1= ningún deterioro, 2= ligero (mayor de 5% de superficie afectada), 3= moderado (5-20% de la superficie afectada), 4= severo (20-50% de superficie afectada), y 5= extremadamente severo (mayor del 50% de la superficie afectada).

Los resultados se expresaron en base a la siguiente fórmula como índices de deterioro.

$$I = \frac{1n+2n+3n+4n+5n}{N}$$

Donde:

n es el número de cubos que se encontraron en cada uno de los rangos establecidos en la escala hedónica, para un tiempo de análisis dado.

N es el número total de cubos examinados.

## 5.5. Evaluaciones Físicoquímicas

### **5.5.1. Color**

Los parámetros de color ( $L^*$  y  $b^*$ ) se midieron en la superficie del cubo de papaya, utilizando un colorímetro portátil Minolta CR-300 (Sapers y Douglas, 1987). Se realizaron 30 repeticiones para cada tratamiento. El valor  $L^*$  representa colores negros u opacos (0) y colores blancos o de máxima brillantez (100). El valor de  $b^*$  se usó para determinar la tonalidad del color amarillo.

### **5.5.2. Firmeza**

Para la determinación de la firmeza del producto se utilizó un analizador de textura Chatillon. Se midió la fuerza necesaria a la penetración (N) de una esfera de 5 mm de diámetro sobre una distancia de 10 mm en el centro del cubo de papaya (Gorny y col., 1998).

### **5.5.3. Pérdida de Peso**

Se efectuó un seguimiento del peso de los cubos de 3 charolas durante el almacenamiento, en una balanza digital OHAUS modelo NOB 110 (El-Ghaouth y col., 1991a).

### **5.5.4. Acidez Titulable, pH y Sólidos Solubles Totales**

Se utilizó un extracto que se obtuvo homogenizando 10 g de muestra con 50 mL de agua destilada previamente neutralizada, filtrando a través de una tela de organza.

La acidez titulable y el pH se determinaron por triplicado, a partir de 50 mL del extracto, la cual fue valorada con una solución de NaOH 0.1 N en un titulador automático Mettler modelo DL21, hasta alcanzar un pH de 8.2, que

indica la neutralización ácido-base. Los resultados de la acidez titulable se expresaron como % de ácido cítrico presente en la muestra, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ A.T.} = (\text{mL NaOH gastado})(N \text{ de NaOH})(0.064)(100) / \text{mL de jugo titulado}$$

Donde

0.064 es el miliequivalente del ácido cítrico.

El pH se expresó como los iones de hidrógeno presentes en la muestra.

Los sólidos solubles se midieron colocando una gota de jugo en un refractómetro digital Atago modelo PR-101 previamente calibrado con agua destilada. Los resultados se expresaron en °Brix. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento (AOAC, 1990).

## 5.6. Evaluaciones Bioquímicas

### **5.6.1. Etanol y Acetaldehído**

Para la determinación de etanol y acetaldehído se siguió la técnica descrita por Davis y Chace (1969). Se tomaron 5 g de tejido y se colocaron en viales de vidrio ámbar con capacidad de 20 mL, provistos de una septa de teflón. Se calentaron a 70°C en un baño de temperatura controlada digital Serie 180 Presicion Scientific por 15 min. Posteriormente se tomó 1 mL del espacio de cabeza con una jeringa hipodérmica y se inyectó a un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 CX, provisto de una columna Cromosorb 101 80/100 de 2 m de longitud. Las temperaturas usadas fueron 110°C para el inyector, 100°C en la columna y 180°C para el detector de ionización de flama, se utilizó nitrógeno como gas acarreador y las muestras se analizaron por triplicado. Se calculó el área bajo la curva de los cromatogramas por integración en el paquete Varian Star 3.1. Las concentraciones se obtuvieron con una curva estándar de etanol y acetaldehído respectivamente.

## **5.6.2. Ensayos de Actividad Enzimática**

### 5.6.2.1. Obtención del extracto para poligalacturonasa.

Se homogenizó 50 g de pulpa de papaya parcialmente descongelada en 150 mL de bisulfito de sodio al 1% pH 6.0, en licuadora por 1 min. la mezcla resultante se filtró a través de 6 capas de tela de organza. El residuo se resuspendió en 150 mL de bisulfito de sodio al 1% pH 6 y se mantuvo en agitación lenta durante 30 min a 4°C. Posteriormente, se filtró la pasta en tela de organza, y el filtrado se centrifugó a 10000 rpm durante 30 min. Se tomaron alícuotas del sobrenadante y se almacenaron a -40°C hasta su análisis (Gross, 1982). Todo el proceso de extracción proteica se llevó a cabo en cámara fría a 4°C para conservar la actividad enzimática.

### 5.6.2.2. Ensayo de actividad.

La actividad de poligalacturonasa se determinó de acuerdo a la técnica de Gross (1982). Se tomaron 50  $\mu$ L del extracto de la enzima y se le agregó acetato de sodio 37.5 mM pH 4.4 y ácido poligalacturónico al 0.2% previamente lavado con etanol al 80%, hasta alcanzar un volumen de 200  $\mu$ L. Posteriormente, las muestras se incubaron durante 2 horas en agitación continua. Para detener la reacción, se agregó un 1 mL de buffer de borato 100 mM pH 9 frío, 0.2 mL de cianoacetamida al 1%, se colocaron en un baño de agua hirviendo por 10 min y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. La absorbancia se leyó a 276 nm en un espectrofotómetro Jenway 6305. Los resultados se expresaron como nmoles de grupos reductores producidos por mg de proteína por hora. Con la finalidad de determinar la formación de estos grupos reductores, la absorbancia obtenida con el extracto se interpoló en una curva patrón que incluirá concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 nmoles de ácido galacturónico monohidratado. La concentración de proteínas para las 3 enzimas se determinó por el método de Bradford (1976).

Se empleó albúmina de suero bovino (BSA; Sigma Chemical Co.) como estándar, se utilizó una longitud de onda de 595 nm.

#### 5.6.2.3. Obtención del extracto para pectin metil esterasa (PME).

Se homogenizaron 40 g de pulpa parcialmente descongelada en 40 mL de NaCl 2 M. Posteriormente, la pasta se incubó 2 horas en agitación lenta (mezclador de alícuotas) a una temperatura de 4°C. Se centrifugó a 10000 rpm por 30 min. Se tomaron alícuotas del sobrenadante y se almacenaron a -40°C hasta su análisis (Gaffe y col., 1994).

#### 5.6.2.4. Ensayo de actividad.

Se tomaron 0.5 mL del extracto y se le añadió 40 mL de solución de sustrato, la cual contiene 0.5% de pectina (Sigma) y 0.15 M de NaCl. Se ajustó el pH a 7.5 con NaOH 0.1 N. El punto final de la titulación se ajustó a pH 7 con 0.025 N de NaOH. Se tomó el tiempo en el cual la enzima produjo H<sup>+</sup> por 3 ciclos. Se midió el volumen de NaOH gastado. La actividad se expresó como  $\mu\text{moles de H}^+ / \text{min mg de proteína}$  (Gaffe y col., 1994).

#### 5.6.2.5. Obtención del extracto de $\beta$ -galactosidasa.

Se homogenizaron 20 g de pulpa, 2 g de PVPP y 40 mL de buffer de fosfato 0.2 M, pH 7.2 durante 30 s en licuadora. La mezcla se filtró a través de tela de organza. Posteriormente, se centrifugó a 10,000 rpm a una temperatura de 4°C durante 30 min. Se recolectó el sobrenadante y se almacenó a -40°C hasta su análisis.

#### 5.6.2.6. Ensayo de actividad.

La actividad de  $\beta$ -galactosidasa se determinó según la técnica descrita por Karakurt y Huber (2003), midiendo la liberación de p-nitrofenol a partir de una solución de p-nitrofenol-glicósido incubado con el extracto enzimático. La mezcla de reacción contenía 25  $\mu$ L de buffer citrato-fosfato pH 4.3, 25  $\mu$ L p-nitrofenil-galactopiranosido 20 mM, 10  $\mu$ L de albúmina de suero al 1% y 40  $\mu$ L del extracto enzimático. La reacción se incubó durante 30 min a 37°C, y se detuvo agregando 1 mL de buffer de glicina 0.25 M pH 10. Se midió la absorbancia a 400 nm en un espectrofotómetro Jenway 6305. Se utilizó un coeficiente de extinción molar de  $1.75 \times 10^4$ . La actividad se expresó como la enzima que cataliza la liberación de 1  $\mu$ mol de p-nitrofenol/min mg de proteína, bajo las condiciones de ensayo.

### 5.7 Evaluaciones Microbiológicas

La cuenta microbiológica se realizó los días 0, 7 y 14, durante el almacenamiento. Se pesaron 10 g de muestra y se diluyó en 90 mL de buffer de fosfatos, y se homogenizó por un minuto. Posteriormente, se hicieron diluciones decimales. Se realizaron conteos microbiológicos de cuenta total (NOM-092-SSA1-1994), hongos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994), usando el método de vertido en placa usando 1 mL de la muestra homogenizada de cada dilución. La cuenta de coliformes totales se realizó usando el método del número más probable (NOM-112-SSA1-1994).



### 5.8 Análisis Estadístico

El experimento se ajustó a un diseño completo al azar bloqueando los días de muestreo para eliminar su efecto.

Se realizó un análisis de varianza con un nivel de significancia de 0.05 en el paquete estadístico NCSS 2000. Posteriormente, se hizo una comparación de medias mediante la prueba de Fisher LSD ( $\alpha=0.05$ ), para observar diferencias significativas (Montgomery, 1991).

---

## 6. RESULTADOS

### Caracterización del Quitosano

El peso molecular es una característica fisicoquímica del quitosano muy importante, ya que está directamente relacionado con la actividad antimicrobiana, además de afectar las propiedades viscoelásticas del polímero.

El **Cuadro 4** muestra los valores de los pesos moleculares de los quitosanos obtenidos a partir de cabezas de camarón fresco. En el presente estudio se analizó el efecto del peso molecular en los diferentes parámetros de calidad evaluados en papaya fresca cortada.

Se puede observar que la viscosidad intrínseca aumentó como era de esperarse con el peso molecular del quitosano obtenido. Estos datos concuerdan con los obtenidos previamente en otras muestras de quitosano (Kume y Takehisa, 1982). El peso molecular obtenido para el quitosano de bajo, mediano y alto, fue de  $2.2$ ,  $3.5$  y  $5.6 \times 10^3$ , respectivamente.

Se ha reportado que quitosanos de bajo peso molecular poseen mayor actividad antimicrobiana que los de alto peso molecular (Uchida, 1988). Matsushashi y Kume (1997), estudiaron la capacidad antimicrobiana de quitosano de bajo peso molecular obtenido por irradiación. La radiación causa cambios en las propiedades fisicoquímicas del quitosano, y es considerado un método útil para producir productos de bajo peso molecular a partir de carbohidratos (Matsushashi y Kume, 1997). Estos autores encontraron que la fracción con un intervalo de peso molecular de  $1 \times 10^5 - 3 \times 10^5$  era capaz de inhibir completamente el crecimiento *in vitro* de *E. coli*.

**Cuadro 4.** Viscosidad intrínseca y peso molecular de los quitosanos obtenidos a partir de cabeza de camarón.

Quitosano	$[\eta]$	PM
Bajo	0.26177	$2.2 \times 10^3$
Mediano	0.36768	$3.5 \times 10^3$
Alto	0.52744	$5.6 \times 10^3$

Cada medición de  $\eta$  es la media de tres repeticiones

En otro estudio, se probaron 6 quitosanos y oligómeros de quitosano de diferente peso molecular en bacterias aisladas de tofu. Se encontró que la inhibición de estas bacterias dependía del peso molecular de quitosano utilizado y del tipo de bacteria, además que los oligómeros de quitosano presentaron menos capacidad de inhibición que el quitosano (No y col., 2002). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en este estudio, donde el quitosano de bajo peso molecular tuvo menos efecto que el de mediano, y este a su vez, tuvo mayor efecto que el de alto peso molecular.

#### Grado de acetilación (GA)

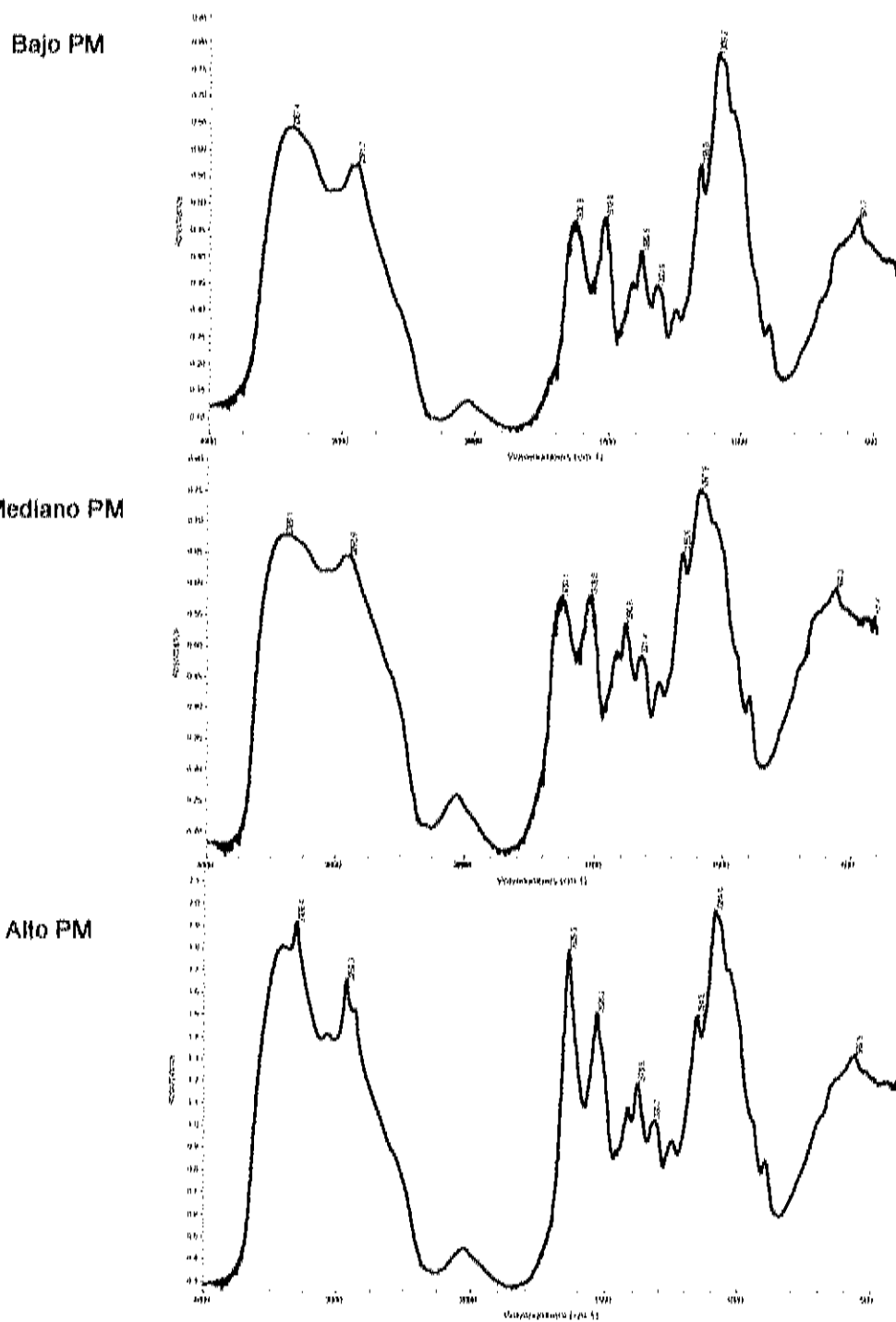
Se ha reportado que el grado de acetilación es una de las características químicas más importantes del quitosano, ya que puede tener influencia en la actividad y de esta manera es posible seleccionar la aplicación más apropiada (Li y col. 1992). En si, el grado de acetilación determina el contenido de grupos amino en el polisacárido.

El grado de acetilación de los quitosanos utilizados en este estudio varió en un rango de 34 a 44% y no parece haber sido afectado por la reacción de depolimerización. Por lo que es de esperar que las diferencias encontradas entre los tratamientos se deban al peso molecular y no al GA (**Figura 4**) del quitosano.

#### Evaluación subjetiva

##### Índice de deterioro

Los procesos a los que son sometidos los frutos cortados causan heridas y estrés en sus tejidos y aceleran las reacciones metabólicas relacionadas con los cambios indeseables en sabor, color, textura y calidad sensorial (Abe y Watada, 1991). Estos cambios pueden favorecer el deterioro del producto y



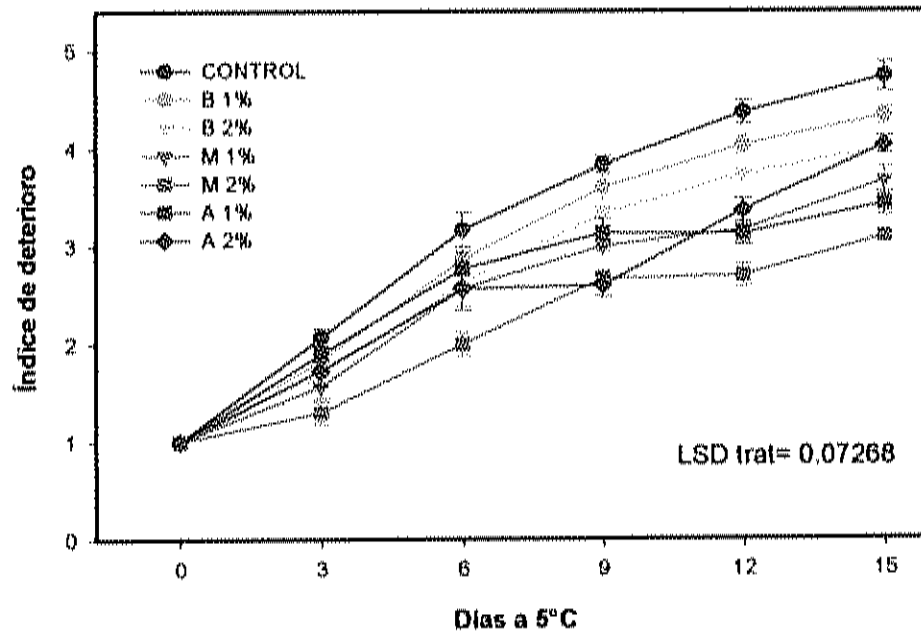
**Figura 4.** Espectros de IR para la determinación del grado de acetilación de los quitosanos de bajo, mediano y alto peso molecular.

limitar significativamente su vida de anaquel. Por lo que es necesario, el uso de tecnologías coadyuvantes a la refrigeración con el fin de disminuir al mínimo estas reacciones indeseables.

Recientemente, se ha evaluado la aplicación de cubiertas comestibles, con el propósito de controlar las reacciones de deterioro y aumentar la vida de anaquel (Baldwin y col., 1995). Específicamente, las cubiertas comestibles reducen la pérdida de agua, restringen la entrada al oxígeno, disminuye la respiración, retarda la producción de etileno, además, pueden ser vehículo de ciertos aditivos capaces de controlar el oscurecimiento y crecimiento microbiano (Baldwin y col. 1995).

Para el caso de papaya cortada, el principal problema es la apariencia cristalina y blanda, que demerita en gran medida la calidad de este producto. O'Connor-Shaw y col. (1994), utilizaron un panel entrenado para la evaluación sensorial de cubos de papaya almacenados a 4°C. Estos autores reportaron que después de 3 días de almacenamiento, la mayoría de los panelistas asignaron a los cubos valores muy bajos debido a la apariencia muy blanda, considerándolos inaceptables para el consumo.

En el presente estudio, se encontró que el índice de deterioro fue aumentando con el tiempo de almacenamiento a 5°C (**Figura 5**). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre el control y todos los tratamientos. Se puede observar que los tratamientos de mediano peso molecular (M) fueron los que presentaron menores índices de deterioro, esto se puede deber a que posiblemente, el quitosano de bajo peso molecular (B) no fue capaz formar una buena película y restringir el paso del oxígeno, debido a su baja viscosidad. Por otro lado, se observó que los frutos cubiertos con quitosano de alto peso molecular (A) presentaban una mayor deshidratación en la superficie del producto. Los mejores resultados se obtuvieron con cubiertas de quitosano de mediano y alto peso molecular con la concentración de 2%.



**Figura 5.** Índice de deterioro de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano y almacenados durante 15 días a 5 °C. Barras verticales representan el error estándar de la media ( $p < 0.05$ ) ( $n=10$ )

Estos frutos tardaron más tiempo en deteriorarse y por tanto presentaron una mayor vida de anaquel (hasta 16 días a 5°C).

Recientemente, se reportó que la aplicación de cubiertas de quitosano redujo considerablemente el deterioro de water chesnut, durante 15 días a 4°C. Este resultado lo atribuyeron a la disminución en la actividad de PPO, PAL y POD, y al contenido de fenoles totales observada en los frutos tratados con quitosano (Pen y Jiang, 2003). También encontraron que al aumentar la concentración de quitosano el índice de deterioro disminuía significativamente. En otros productos como chile bell y pepinos almacenados a 13 y 20°C, respectivamente, se pudo observar que la aplicación de cubiertas de quitosano fue muy efectiva para inhibir el deterioro (El-Ghaouth y col., 1991). El posible modo de acción de las películas de quitosano sobre la inhibición del deterioro, se puede relacionar a la disminución en la pérdida de vapor de agua, que como consecuencia disminuye el estrés hídrico del producto.

### Evaluaciones fisicoquímicas

#### Color (L\* y b\*)

El color es uno de los principales atributos de calidad que el consumidor toma en cuenta, al momento de decidir la compra de un producto fresco. La pérdida de color disminuye, en general, considerablemente la calidad del producto. Por eso es necesario el desarrollo de tecnologías que garanticen un buen color del producto durante el período de almacenamiento.

Los parámetros L\*, a\* y b\* son comúnmente utilizados para describir objetivamente los cambios de color en los frutos. El valor L\* indica la luminosidad de la muestra, donde 100 representa un color blanco y 0 significa color negro. El valor positivo y negativo de a\* representa una coloración roja y verde respectivamente. Mientras que el valor positivo y negativo de b\* nos indica una coloración amarilla y azul, respectivamente.



En este estudio se evaluaron los parámetros de  $L^*$  y  $b^*$  (Figura 6), que son los que comúnmente se utilizan para describir los cambios de color en papaya. El valor de  $L^*$  disminuyó significativamente al tercer día de almacenamiento en todos los tratamientos evaluados. La menor pérdida se observó en los frutos tratados con el quitosano de mediano peso molecular al 1% (M1), y fueron diferentes al control. Al final del almacenamiento, el control y el tratamiento B1 presentaron la mayor pérdida del valor  $L^*$ . Los tratamientos que mantuvieron más altos los valores fueron el M1 y M2.

El valor  $b^*$  se utiliza para estimar los cambios en la intensidad del color amarillo durante el almacenamiento. De igual manera, el valor  $b^*$  tuvo una reducción significativa después del tercer día de almacenamiento. Los frutos control tuvieron los valores más bajos de  $b^*$  (alrededor de 15), lo cual nos indica que los tratamientos fueron capaces de mantener mejores valores de  $b^*$  durante el almacenamiento. De la misma forma, los mismos tratamientos que presentaron los mayores valores de  $L$ , también lo fueron para mantener los valores de  $b^*$  durante todo el período de almacenamiento a 5°C.

El oscurecimiento enzimático es sin duda el principal problema que afecta el color de ciertos productos procesados en fresco (Cano y col., 2004). Tradicionalmente se empleaban los sulfitos para controlar este problema de calidad. Sin embargo, su uso se ha visto limitado debido a que estos compuestos se han relacionado con problemas en la salud de ciertos consumidores (Taylor, 1993). Debido a esto se están desarrollando investigaciones donde se prueban diferentes antioxidantes naturales solos o en combinación (González-Aguilar y col., 2000, González-Aguilar y col., 2004b).

Zhang y Quantick (1997), evaluaron el efecto de las cubiertas de quitosano en la inhibición del oscurecimiento en la piel de frutos de litchi. Estos autores encontraron que estas cubiertas eran capaces de disminuir el oscurecimiento, y este efecto lo atribuyeron a la disminución en el contenido de

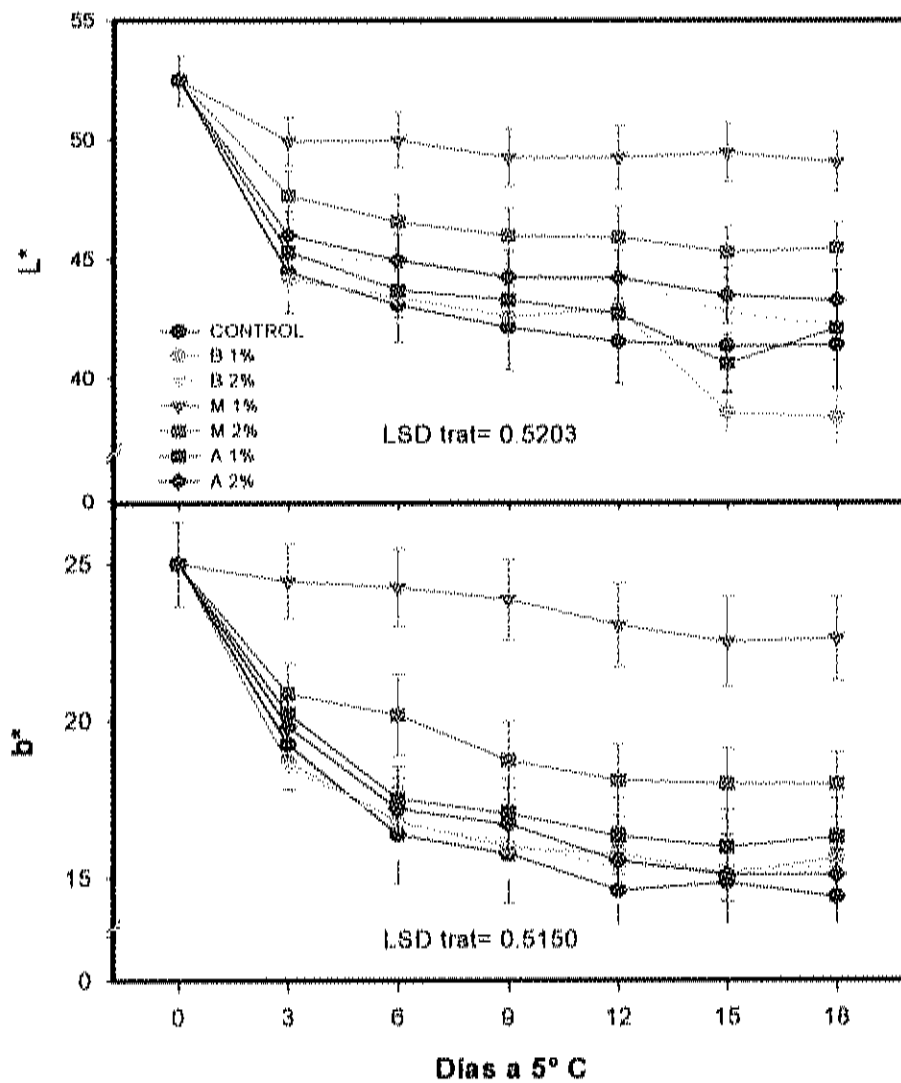


Figura 6. Cambios en el color ( $L^*$  y  $b^*$ ) de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano y almacenadas durante 18 días a  $5^{\circ}\text{C}$ .

fenoles, a la actividad de la polifenol oxidasa y a la inhibición parcial de la actividad de la enzima peroxidasa. Todos estos parámetros han sido relacionados directamente con los procesos de oscurecimiento de la piel y pulpa de diferentes productos vegetales (Whitaker y Lee, 1995)

En otro estudio, se evaluó el color subjetivamente de tomates cubiertos con quitosano (El-Ghaouth y col., 1992). Estos autores observaron que después de 22 días de almacenamiento, los frutos control maduraron más rápido que los frutos cubiertos con quitosano, de acuerdo a la intensidad de color rojo que presentaron los frutos control. El retraso en el cambio de color observado en los frutos tratados con quitosano, puede deberse a la atmósfera modificada interna creada en el fruto, con altos niveles de CO<sub>2</sub> y bajos de O<sub>2</sub>, que retrasaron el proceso de maduración.

En un estudio realizado previamente por Ruíz-Cruz y col. (2002), se probó el efecto de diferentes antioxidantes solos o en combinación (ácido isoascórbico, acetil cisteína y ácido ascórbico), en la inhibición del oscurecimiento enzimático en rodajas de piña fresca. Encontraron que la fruta tratada con antioxidantes mantenía el color de fruta fresca con respecto al control, durante el almacenamiento a 10°C. Por otra parte, el tratamiento con una combinación de 4-hexilresorcinol con ácido ascórbico, mejoraron el control del oscurecimiento en rebanadas de manzana (Luo y Barbosa-Canovas, 1995). Otro estudio en manzanas "Red Delicious" almacenadas a 5°C, muestra que la combinación de 4-hexilresorsinol, ácido isoascórbico, cloruro de calcio y acetil cisteína, mantiene el valor de L\* en un 30% comparado con el control. (Buta y col., 1999)

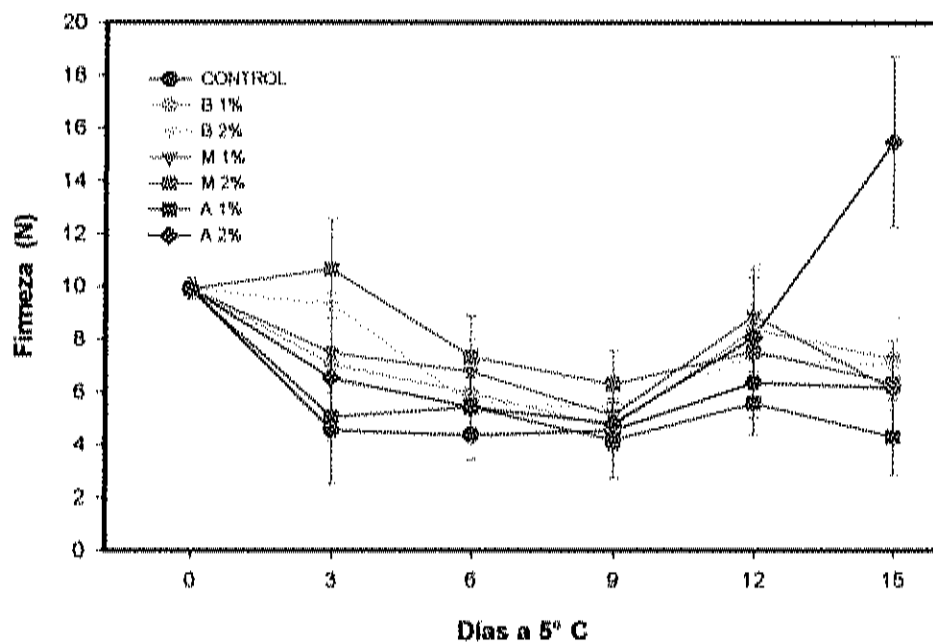
Otra forma de disminuir el oscurecimiento, se logra con la combinación del uso de antioxidantes con métodos físicos, tales como: tratamientos térmicos, envasado en atmósferas modificadas y controladas, películas comestibles, radiación gamma y pulsos eléctricos (Cano y col., 2004). Por ejemplo, en manzanas y papas cortadas, se observó que la acción del ácido

ascórbico para controlar el oscurecimiento, fue mejor cuando se incorporaba a una película comestible (Baldwin y col., 1995a). De la misma manera, una cubierta comestible a base de carboximetilcelulosa no fue capaz de prevenir el oscurecimiento de manzanas y papas cortadas. Sin embargo, cuando esta cubierta se combinó con aditivos (antioxidante, acidulantes y conservadores químicos), el control del oscurecimiento fue mejor que la inmersión en soluciones con los mismos aditivos (Baldwin y col. 1996).

### Firmeza

Uno de los principales problemas que se presentan en los frutos cortados es la pérdida de firmeza. Para el caso de papaya, la firmeza es la principal causa de pérdida de calidad, ya que adquiere una apariencia cristalina y blanda antes de contaminarse microbiológicamente. Las enzimas pectinolíticas y proteolíticas que se liberan como consecuencia de la ruptura celular provocada en el troceado del producto, pueden difundirse en el interior del tejido y ponerse en contacto con los sustratos, reaccionar y provocar el ablandamiento (Varoquaux y col. 1990).

La firmeza inicial de los frutos utilizados en el presente estudio, tenían una firmeza promedio de 10-11 N. En la **Figura 7** se puede observar que en general, la firmeza disminuyó siguiendo un patrón similar durante el periodo de almacenamiento en todos los tratamientos, pero con diferencias en la magnitud de los cambios. Se observaron diferencias significativas en los tratamientos con quitosano de mediano peso molecular, ya que fueron capaces de evitar en mayor proporción la pérdida de firmeza comparada con los frutos control (sin tratar). Para el tercer día de almacenamiento, los tratamientos M2 y B2 mantuvieron la firmeza inicial mientras que el control perdió drásticamente la firmeza mostrando valores de 4 N. Se puede observar un ligero incremento para el día 12, pero este se atribuye a que se forma una capa rígida en la



**Figura 7.** Cambios en la firmeza de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ( $p < 0.05$ ) ( $n = 10$ )

superficie del cubo, y consecuentemente se presentó mas fuerza a la penetración. Las cubiertas de quitosano de alto y bajo peso molecular tuvieron mayor efecto en la reducción de pérdida de firmeza que el control pero menor efecto que las de mediano peso molecular.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por El-Ghaouth y col. (1992). Estos autores encontraron que tomates cubiertos con quitosano fueron mas firmes que los frutos control, después de estar almacenados 28 días a 20°C. Sin embargo, no observaron diferencias significativas con respecto a las concentraciones usadas (1 y 2%). En otro estudio hecho por estos mismos autores (1991) compararon las cubiertas de quitosano con un fungicida comercial en la calidad de fresas, y encontraron que las fresas tratadas con quitosano fueron más firmes que las tratadas con fungicida y que las fresas control (sin tratamiento). Estos autores sugieren que estos resultados obtenidos, se deben a la reducción de los procesos metabólicos y en consecuencia se dá un retraso en la maduración del fruto.

Otro método comúnmente utilizado para prevenir la pérdida de firmeza en una gran variedad de frutas y hortalizas enteras y cortadas, es el empleo de calcio y sus sales. El modo de acción de las sales de calcio, es que los iones calcio interactúan con las cadenas de pectina para formar puentes entre dichas cadenas poliméricas, lo que produce un aumento en la fuerza mecánica, y da lugar a un retraso en la aparición del ablandamiento (Cano y col., 2004). Se ha encontrado que la inmersión de zanahorias cortadas en soluciones de  $\text{CaCl}_2$  (0.5 y 1%) incrementó el contenido de calcio en el tejido, el cual se correlacionó con una menor pérdida de firmeza (Izumi y Watada, 1994). En otro estudio, Soliva-Fortuny (2002), encontró que la inmersión de trozos de pera en soluciones de cloruro cálcico de 0.1 a 1% daba como resultado una disminución en la pérdida de la firmeza de esos frutos. En otras especies vegetales como melón cortado, se recomienda utilizar una concentración de 2.5%, para prevenir la pérdida de firmeza (Luna-Guzmán y col., 1999). En rodajas de kiwi no se

observaron diferencias significativas en la firmeza del fruto, cuando se utilizaron concentraciones entre 1 ó 2% de sales de calcio.

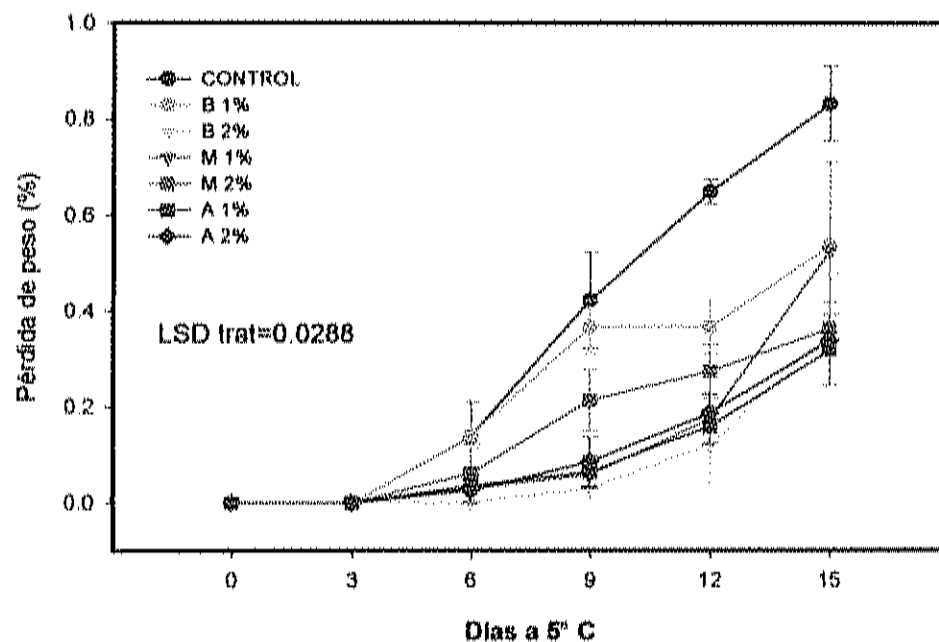
Estudios mas recientes han investigado la influencia de las condiciones de envasado en la retención de la firmeza de frutos cortados. Soliva-Fortuny y col. (2002) reportaron que la composición de la atmósfera en el envasado de manzana "Golden Delicious" y de pera "Conferencia" precortadas, tiene una influencia muy importante en la retención de la firmeza de los productos. Los estudios microestructurales llevados a cabo, evidencian la formación de una gran cantidad de exudado en la superficie de las células después de un almacenamiento prolongado, hecho que está relacionado con la pérdida de firmeza de los tejidos. La severidad de este ablandamiento podría ser disminuida mediante la realización de un envasado en condiciones con bajas concentraciones de oxígeno.

#### Pérdida de peso

Los frutos pierden peso debido a los procesos de transpiración y a los cambios en la humedad relativa del medio ambiente. En frutos cortados esta pérdida de peso es mayor que en los frutos enteros, debido a que se remueve la piel, barrera natural que se encarga de controlar el intercambio gaseoso y la pérdida de humedad.

La **Figura 8** muestra el porcentaje de la pérdida de peso de cubos de papaya durante el almacenamiento a 5°C. Se puede observar que la pérdida de peso incrementó con el tiempo de almacenamiento. Todos los frutos tratados con quitosano fueron significativamente diferentes al control. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos evaluados. Esto se puede atribuir a que se utilizaron bandejas de poliestireno en todos los tratamientos, incluyendo el control, la cual evitó considerablemente la pérdida de agua hacia el medio. Sin embargo, se puede apreciar claramente

en la gráfica, que los frutos control perdieron más peso que los frutos tratados con quitosano.



**Figura 8.** Pérdida de peso de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ )



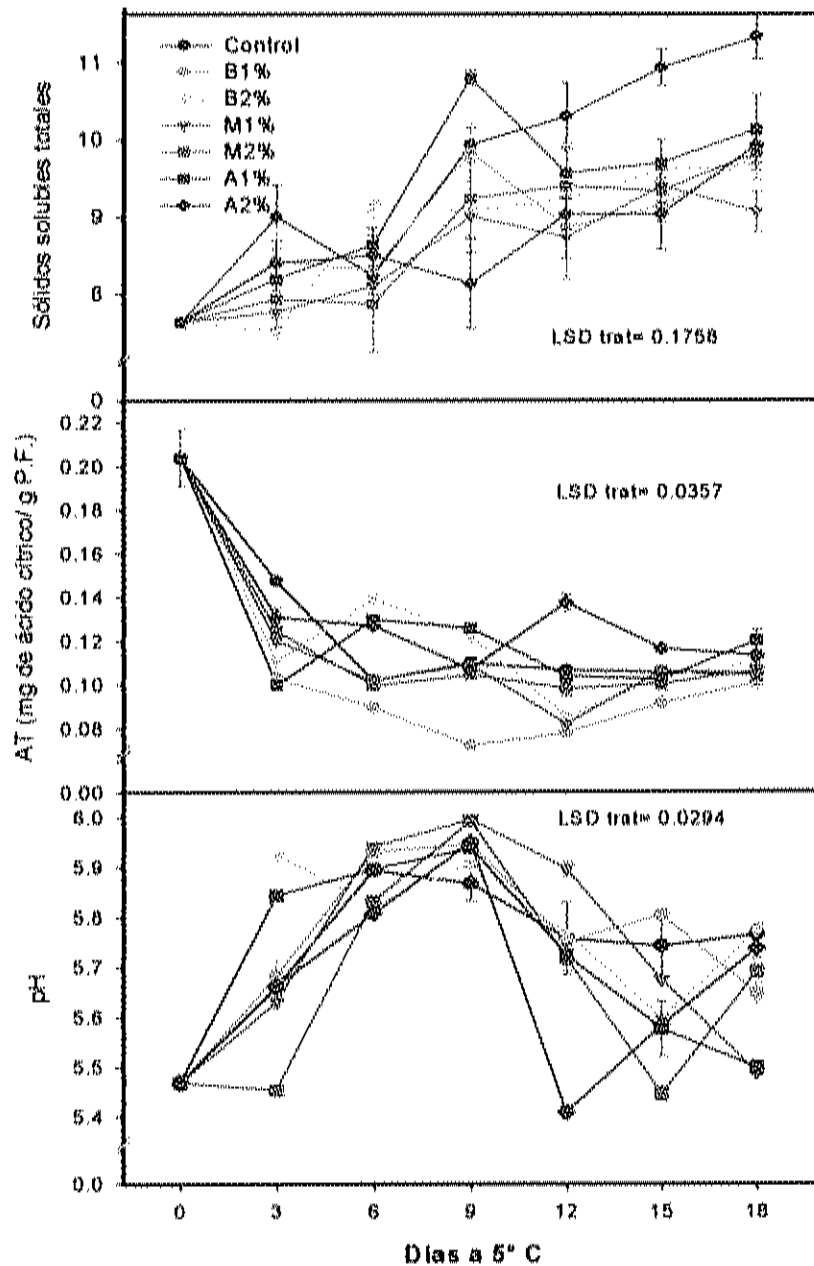
Al parecer, los tratamientos de quitosano utilizados formaron una barrera en la superficie del fruto que evitó considerablemente junto con el envase, la pérdida de peso del fruto. También se puede observar que las cubiertas de 2% de quitosano fueron más efectivas en la pérdida de peso que las de 1%. Esto se debe a que al aumentar la concentración, aumenta la viscosidad de la solución y al aplicarla a los frutos se obtiene una menor permeabilidad de vapor de agua. Previamente, se observó que el uso de bandejas de poliestireno pueden utilizarse satisfactoriamente para el envasado de frutos y vegetales cortados, obteniéndose los resultados antes mencionados (González-Aguilar y col., 2000; Buta y col., 1999; Wang y Buta 2004)

Estos resultados se asemejan a los obtenidos por El-Ghaouth y col. (1991), donde ellos evaluaron la pérdida de peso en chile bell y pepinos cubiertos con quitosano, encontrando que los frutos cubiertos perdieron menos peso que aquellos que no tenían ningún tratamiento. También encontraron que la concentración de quitosano era proporcional en la reducción de pérdida de peso. Ellos concluyen que estos resultados se deben a la barrera que se forma alrededor del fruto, la cual impide que se pierda vapor de agua.

Por otra parte, se evaluó la pérdida de peso durante el almacenamiento de cubos de manzana en diferentes atmósferas controladas (4 a 12% CO<sub>2</sub> + 2% de O<sub>2</sub>) (Nunes y Bernardo, 2000). Se encontró que los frutos almacenados en una atmósfera de aire, perdieron más peso comparado con los frutos almacenados en atmósferas controladas.

Sólidos solubles totales (SST), Acidez titulable (AT) y pH

La **Figura 9** muestra los cambios de SST, AT y pH de los cubos de papaya durante el almacenamiento a 5°C. Se puede observar que los frutos tenían un contenido inicial de SST de 7 y este valor fue aumentando ligeramente durante el almacenamiento como consecuencia de la maduración y



**Figura 9.** Cambios en el contenido de sólidos solubles totales, acidez titulable y pH totales de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ( $p < 0.05$ ) ( $n=3$ )

senescencia del producto. Sin embargo se puede observar que el control tiene los más altos niveles de SST a partir del día 12 donde alcanza valores de 10 y es significativamente diferente a todos los tratamientos a excepción del A1. Con estos resultados se puede asumir que las cubiertas de quitosano fueron capaces de retardar la maduración y senescencia de los cubos de papaya.

La acidez titulable disminuye durante la maduración de los frutos, ya que los ácidos orgánicos son utilizados como fuente de energía para la actividad celular. Se puede observar que la AT disminuyó drásticamente para el tercer día de almacenamiento y continuó disminuyendo lentamente hasta el final del experimento. Sin embargo, los tratamientos no tuvieron efecto sobre este parámetro ya que no se observaron diferencias significativas con respecto al control a excepción del tratamiento B1.

El-Ghaouth y col. (1991) encontraron que fresas cubiertas con quitosano mantenían mayores valores de acidez titulable que fresas tratadas con un fungicida comercial y el control. Por otra parte, Cantwell y Portela (1997) observaron una disminución en el contenido de SST de melón cortado envasado en una atmósfera de aire a 5°C. Agar y col. (1999), también observaron una disminución en el contenido de SST en rodajas de kiwi. Estos autores correlacionaron la disminución de SST con el decremento del contenido de azúcares. Laminkara y col. (2000), encontraron una disminución del 17% en el contenido de SST y un incremento de la AT al segundo día de almacenamiento a 20°C de rodajas de melón. Sin embargo, el cambio en la AT lo atribuyeron a la contaminación por bacterias ácido lácticas.

El pH de los cubos osciló entre 5.5 y 6 durante el periodo de almacenamiento en todos los tratamientos y no se encontraron diferencias significativas con respecto al control. Las cubiertas de quitosano no afectaron el pH de los cubos de papaya, porque las soluciones fueron ajustadas a un pH de 5.6, debido a que se ha reportado que a este pH, los grupos amino del

quitosano ( $pK= 6.2$ ) están cargados positivamente y muestran su mayor actividad biológica (El-Ghaouth y col., 1992).

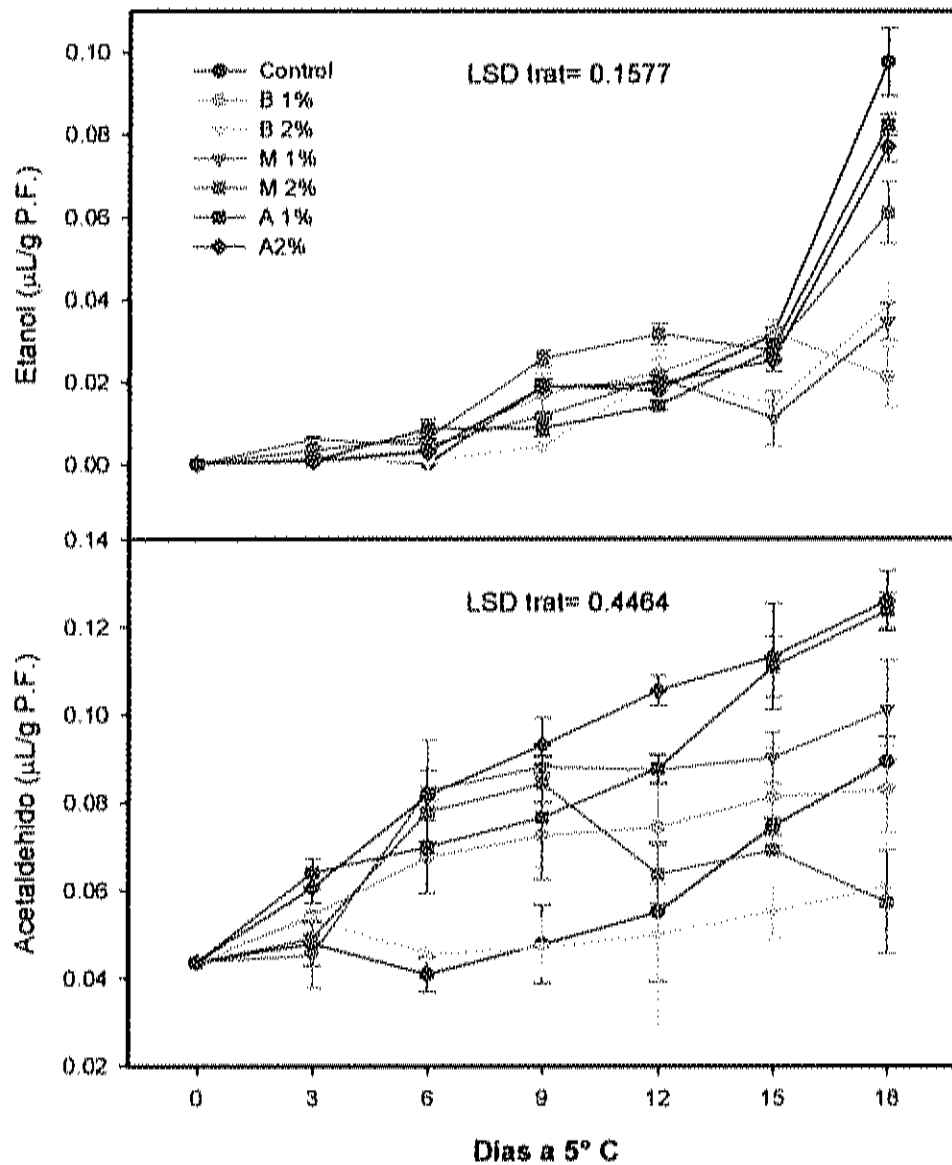
### Evaluaciones bioquímicas

#### Etanol y Acetaldehído

El etanol y acetaldehído son los principales productos de fermentación de frutos y su acumulación se asocia con olores y sabores desagradables (Ke y col., 1991). Los procesos de pelado y cortado favorecen la difusión y pérdida de estos compuestos. Sin embargo, el uso de cubiertas comestibles con muy baja permeabilidad a gases o atmósferas modificadas con niveles muy bajos de  $O_2$ , pueden dar como resultado procesos de anaerobiosis que conllevan a la formación de etanol y acetaldehído (Baldwin y col., 1995).

En la **Figura 10** se puede observar un aumento en la producción de etanol durante el almacenamiento. Estos niveles son muy bajos como para detectar sabores y olores de fermentación. Sin embargo, las cubiertas de quitosano no tuvieron efecto en la producción de etanol, ya que no se encontraron diferencias significativas con respecto al control en la mayoría de los tratamientos a excepción de los tratamientos M2 y B1. Por lo que el aumento de etanol se puede deber a la atmósfera que se creó dentro del envase como consecuencia de la respiración del fruto, más que por la atmósfera creada por efecto de las películas aplicadas.

La producción de acetaldehído también aumentó durante el almacenamiento. En la figura se puede observar que para el día 15 los frutos cubiertos con quitosano de alto peso molecular, mostraron un mayor contenido de acetaldehído con respecto a los demás tratamientos y al control. Esto se puede deber a que conforme aumenta el peso molecular del quitosano se



**Figura 10.** Producción de etanol y acetaldehído en papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 18 días a 5°C. Barras verticales representan el error estándar de la media ( $p < 0.05$ ) ( $n = 3$ )

disminuye la permeabilidad de los gases y como consecuencia se llevaron a cabo procesos de fermentación.

Se ha reportado que el uso de cubiertas comestibles aumenta la concentración de volátiles, debido a que se forma una barrera semipermeable que los mantiene "atrapados" dentro del fruto (Nisperos-Carriedo y col., 1990). Sin embargo, esto depende del material y la concentración de los productos usados para la formulación de dichas cubiertas. Baldwin y col. (1999) evaluaron el efecto de dos cubiertas comestibles, una elaborada a base de polisacáridos y la otra a base de cera carnauba, sobre el contenido de volátiles en mango. Ellos encontraron que ambas cubiertas retardaron los procesos de deterioro del fruto. Sin embargo, la cubierta de polisacáridos contenía más etanol y acetaldehído que la de carnauba y el control. Esto lo atribuyeron a la baja permeabilidad de la cubierta ya que también se encontraron niveles más altos de otros volátiles que no están involucrados en el proceso de anaerobiosis.

González-Aguilar y col. (2004), encontraron que las concentraciones de etanol y acetaldehído aumentaron durante el almacenamiento de rodajas de piña fresca a 10°C tratadas con antioxidantes y envasadas en atmósferas modificadas. Ellos reportan que este aumento es debido a los tratamientos y a los procesos de senescencia del fruto, ya que los niveles de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> encontrados en la atmósfera del empaque no fueron suficientes para provocar procesos de anaerobiosis.

En otro estudio se evaluó la producción de etanol y acetaldehído en cilindros de jicama almacenada en diferentes atmósferas controladas a 5 y 10°C (Aquino-Bolaños y col., 2000). Se encontró que los frutos almacenados en atmósferas controladas presentaban niveles más altos de etanol y acetaldehído que los frutos almacenados en aire. Sin embargo, estos niveles no fueron suficientes para desarrollar aromas y sabores desagradables.

### Actividad enzimática

Se ha visto que el quitosano es capaz de inactivar o inhibir algunas enzimas causantes del deterioro de frutas y vegetales, principalmente aquellas involucradas en el oscurecimiento, como la PPO y POD (Zhank y Quantick, 1997, Jiang y Li, 2001). Se evaluó la actividad de PPO y POD en litchis cubiertas con quitosano, y se observó una disminución en la actividad de estas enzimas, comparado con los frutos sin tratar (Zhank y Quantick, 1997, Jiang y Li, 2001). Li y Jiang (2001), evaluaron la actividad de PPO en frutos de longan cubiertos con quitosano y almacenados a 2°C. Estos autores concluyen que esta disminución se debe a la reducción en la tasa de respiración.

En otro estudio con uva de mesa se evaluó el efecto del quitosano sobre la actividad de fenil amonio liasa (PAL), se observó que la actividad de esta enzima fue dos veces mayor en los frutos tratados. Esta enzima esta involucrada en la síntesis de fenoles (Rommanazzi y col., 2003)

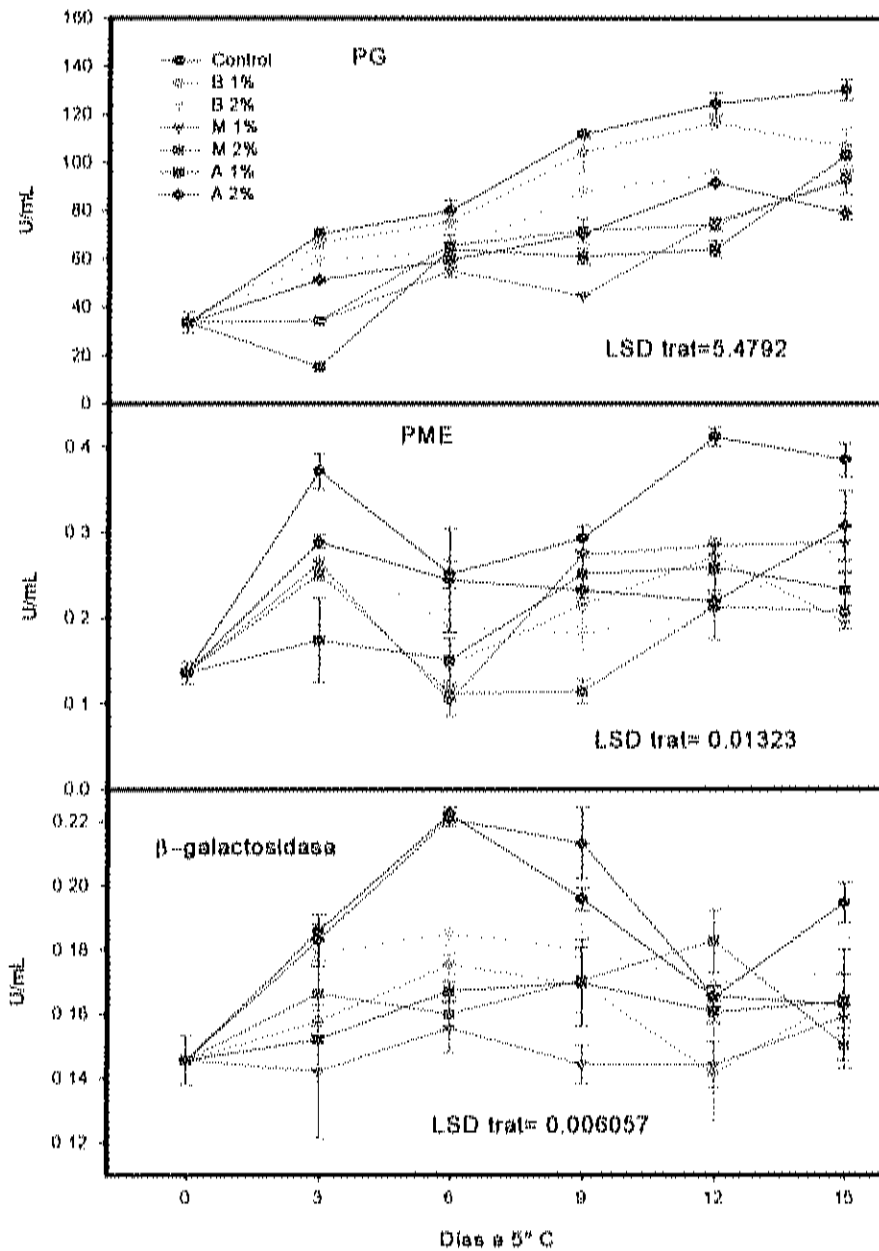
Uno de los principales problemas de los frutos cortados es el rápido oscurecimiento que ocurre en la superficie, disminuyendo la aceptabilidad y la decisión de compra del consumidor. Sin embargo, en papaya el oscurecimiento enzimático no representa un problema serio, ya que el color característico del fruto (rosado-naranja) difícilmente tiene cambios de color muy drásticos, después del pelado y cortado. Sin embargo, la principal causa de deterioro de papaya fresca cortada, es la rápida pérdida de firmeza causada por las enzimas que degradan la pared celular.

En estudios previos se ha reportado que las principales enzimas responsables del ablandamiento de frutos de papaya son: la poligalacturonasa (PG), pectilmetilesterasa (PME) y  $\beta$ -galactosidasa (Karakurt y Huber, 2003; Lazan, 2004). Se ha reportado que la enzima poligalacturonasa es responsable del ablandamiento de la mayoría de los frutos, ya que es capaz de degradar las cadenas de ácido poligalacturónico, componente importante de la pared celular.

En este estudio, esta enzima mostró una actividad inicial de 33 U/mL, incrementándose paulatinamente durante el periodo de almacenamiento en todos los tratamientos evaluados, pero con diferencias en magnitud (**Figura 11**). Los cubos control mostraron el mayor incremento en la actividad de la enzima durante todo el periodo de almacenamiento. Este aumento fue similar al observado en los cubos tratados con B1, pero con diferencias estadísticas en los tratamientos M1, M2 y A1. Después de 15 días, la actividad de PG de los frutos sin tratamiento se incrementó hasta alcanzar valores de 130 U/mL de actividad, mientras que los cubos de papaya tratados con quitosano fue entre 75-90 U/mL para los mejores tratamientos. Estos tratamientos mostraron un 30% de reducción en la actividad de la enzima PG. No se encontraron diferencias significativas en la actividad de la enzima PG, entre los tratamientos de quitosano de alto y mediano PM utilizado. Esta reducción en la actividad de PG, coincide con la reducción en la pérdida de firmeza presentada en los frutos bajo estos mismos tratamientos, durante el almacenamiento a 5°C.

En un estudio realizado por Karakurt y Huber (2003) evaluaron las actividad de la PME, PG,  $\beta$ -galactosidasa, lipoxigenasa y ACC sintasa, en frutos enteros y cortados de papaya y la relacionaron con la pérdida de firmeza. Se encontró que la firmeza disminuyó en un 36% al segundo día de almacenamiento, y continuó disminuyendo durante el almacenamiento a 5°C. En contraste, los frutos enteros almacenados a las mismas condiciones, solo mostraron un pequeño decremento en la firmeza hasta el cuarto día de almacenamiento. En este estudio, la actividad de PG aumentó durante el almacenamiento, sin embargo, los frutos cortados tuvieron mayor actividad que los frutos enteros. Esto lo atribuyen a un aumento en la producción de etileno debido al corte, ya que se ha demostrado que el etileno activa la síntesis de PG en tomate (Sitrit y Bennett, 1998). Debido a esto, es posible que la disminución de la actividad de PG de los cubos de papaya tratados con quitosano se deba a un decremento en la tasa de respiración.





**Figura 11.** Actividad de PG, PME y β-galactosidasa de papaya fresca cortada tratada con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5 °C. Barras verticales representan el error estándar de la media ( $p < 0.05$ ) ( $n = 4$ )

La PME es otra enzima que participa en la pérdida de firmeza. En la **figura 11**, se puede observar que la actividad de esta enzima en los frutos control, aumentó después del tercer día, y fue significativamente mayor que los cubos de papaya tratados con quitosano, independientemente del PM y la concentración aplicada. Los tratamientos presentaron un menor aumento en la actividad en el mismo período, para posteriormente disminuir en los tratamientos de M1 y M2, y terminar con un aumento ligero. Estos tratamientos no siguieron un comportamiento definido, a diferencia de los tratamientos de bajo y alto PM que después de incrementar su actividad al tercer día, se mantuvieron sin cambios apreciables hasta el final del almacenamiento a 5°C. En los frutos control, la actividad aumentó 50 % en el día 12, lo que sugiere que las cubiertas de quitosano disminuyeron la actividad de esta enzima. De la misma forma, se pudo observar que la reducción de la actividad de esta enzima, estuvo en el orden del 20-35 % comparada con los frutos control, muy similar a la observada para la enzima PG.

Karakurt y Huber (2003) compararon la actividad de PME de papaya entera y cortada. Estos autores no encontraron diferencias, lo que sugiere que esta enzima no se ve afectada por el corte. Sin embargo los valores reportados fueron muy similares a los encontrados en el presente estudio. Sin embargo, Paull y Jung (1983) observaron una disminución en la actividad de PME en los primeros cuatro días de almacenamiento de papaya Sunrise a 22°C, para después incrementarse hasta el día 8.

Por otra parte, la actividad de  $\beta$ -galactosidasa se mantuvo casi constante durante todo el almacenamiento, excepto el control y el tratamiento A2 los cuales mostraron un incremento del 23% de actividad en el día 6 y posteriormente disminuyeron hasta alcanzar los mismos valores que los demás tratamientos (Figura 9). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en los tratamientos M1, M2, B1 y A1, siendo los dos primeros los que mostraron valores menores de actividad enzimática.

O'Connor-Shaw y col. (1994), evaluaron la vida de anaquel de cubos de papaya almacenada a 4°C. Ellos encontraron que la vida de anaquel de este producto estaba limitada a 2 días, ya que se observó una apariencia desagradable debida al ablandamiento de los tejidos. Ellos concluyen que estos cambios indeseables en la textura fueron causados por las poligalacturonasas y  $\beta$ -galactosidasa, las cuales solubilizaban las pectinas de la pared celular.

Estos datos se asemejan a los obtenidos por Bashkara y col. (2002), donde ellos evaluaron la actividad de PG, PME y pectato liasa (PE) en tomates cubiertos con quitosano, y encontraron una disminución del 50% en su actividad. Estos autores atribuyeron estos resultados a la disminución de la madurez que exhibían los frutos tratados.

Karakurt y Huber (2003), encontraron un aumento en la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa en papaya cortada, sin embargo, en frutos enteros la actividad permaneció constante. Estos datos no concuerdan con los obtenidos en el presente estudio, ya que no se observó un aumento significativo durante el período de almacenamiento.

Se puede pensar que el quitosano actúa indirectamente en la disminución de la actividad de estas enzimas, ya que el quitosano disminuye la respiración, y el desarrollo de microorganismos, lo que provoca un retraso en los procesos metabólicos de senescencia del fruto.

#### Evaluaciones microbiológicas

La actividad antimicrobiana del quitosano fue documentada por Muzarelli y col. (1990). En este estudio se encontró que las membranas de los microorganismos sufrían alteraciones. Estos resultados fueron confirmados una década mas tarde por Helander y col. (2001). Estos autores observaron por microscopía electrónica que el quitosano se une a la parte exterior de la membrana de los microorganismos, ocasionando la pérdida de su función de

barrera. De esta manera concluyen que el quitosano se puede considerar como un aditivo útil en la preservación de alimentos.

#### Cuenta total

Se puede observar en el **cuadro 5** que el quitosano fue capaz de reducir al menos 1 ciclo logarítmico la cuenta total de microorganismos, aún con la película de alto peso molecular (PM) al 1%. Sin embargo, esta misma película al 2% redujo 2 ciclos logarítmicos para el día 14 con respecto al control. También se puede observar que los tratamientos con quitosano de mediano PM (1 y 2%) y el de bajo PM al 2% fueron capaces de inhibir por completo el crecimiento de bacterias para el día 14 de almacenamiento. Esto concuerda con la actividad antimicrobiana reportada por Wang (1992). Este autor encontró que películas de 1 – 1.5% de quitosano eran suficientes para inactivar *in vitro* a *S. aureus*. En otro estudio, Sudharshan y col.(1992) estudiaron el efecto antimicrobiano de varios quitosanos solubles en agua en diferentes cultivos de bacterias. Estos autores encontraron que estos quitosanos tenían efecto bactericida *in vitro* tanto en bacterias gram (+) como gram (-) y redujeron de 1 a 5 ciclos logarítmicos en una hora.

Es importante mencionar que se evaluó el crecimiento de coliformes fecales y totales, pero no se encontró la presencia de ellos en ningún tratamiento durante todo el experimento. Sin embargo, está documentado que el quitosano es capaz de inhibir completamente el crecimiento de *E. coli* a concentraciones de 0.0075% (Simpson y col. 1997).

**Tabla 5.** Cuenta total de mesófilos aerobios en papaya MMP tratadas con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5°C.

Tratamientos	Inicial (Log UFC/mL)	7 días (Log UFC/mL)	14 días (Log UFC/mL)
Control	2.8	3.2	4.5
Bajo PM 1%	2.8	2.3	2
Bajo PM 2%	2.8	1.2	0
Mediano PM 1%	2.8	2.4	0
Mediano PM 2%	2.8	0.8	0
Alto PM 1%	2.8	5.3	3.3
Alto PM 2%	2.8	4.3	1.2

Los valores mostrados representan la media de 3 repeticiones. LSD trat= 0.32237

### Hongos y levaduras

Los cubos de papaya cubiertos con quitosano de bajo y mediano peso molecular fueron los tratamientos que controlaron el crecimiento de hongos y levaduras. La cuenta inicial fue de 1.3 Log UFC. Sin embargo, para el día 14 de almacenamiento el tratamiento B2 y M2 tuvieron 2 y 4 Log UFC menos que el control, respectivamente. Sin embargo, en general en todos los tratamientos se tuvo una cuenta aceptable durante el tiempo de almacenamiento (**Tabla 6**). Esto concuerda con los resultados obtenidos por O'Connor-Shaw y col. (1994), donde ellos encontraron que el producto se deterioraba a consecuencia de los procesos metabólicos y no al desarrollo de microorganismos.

Hirano y Nagao (1989) estudiaron el efecto del quitosano de alto y bajo peso molecular, en el desarrollo *in Vitro* de varios fitopatógenos. Se encontró que el quitosano era efectivo en la inhibición de todos los microorganismos estudiados (*Rhizopus nigricans*, *Valsa mali*, *Rhizoctonia solani*, *Phomopsis fukushi*, *Fusarium oxisporum* f. sp. *Melonis*, *Fusarium oxisporum* F. sp. *Lycopersici* y *Alternaria alternata*)

En un estudio hecho por El-Ghaouth y col. (1992), encontraron que cubiertas con concentraciones de 2% de quitosano controlaban mejor la infección por *Botritis cinerea* en tomates, comparado con las cubiertas de 1% de quitosano. Estos mismos autores (1991) observaron que fresas cubiertas con soluciones de 1.5% de quitosano presentaban 60% menos deterioro por *Botritis cinerea* que el control a los 14 días de almacenamiento. Por otra parte, Romanazzi y col. (2002), reportan la reducción de este mismo hongo en uvas cubiertas con quitosano. Estos autores atribuyen esos resultados a la combinación de sus propiedades antifúngicas y la capacidad de estimular mecanismos de defensa como la activación de quitinasa y la síntesis de fitoalexinas. Cuero y col. (1997) observaron que N-carboximetilquitosano redujo

**Tabla 6.** Hongos y levaduras en papaya MMP tratadas con cubiertas de quitosano, almacenadas durante 15 días a 5°C.

Tratamientos	Inicial (Log UFC/mL)	7 días (Log UFC/mL)	14 días (Log UFC/mL)
Control	1.3	3.1	5.5
Bajo PM 1%	1.3	2.3	4.3
Bajo PM 2%	1.3	1.2	2.8
Mediano PM 1%	1.3	2.3	4.3
Mediano PM 2%	1.3	0.8	1.6
Alto PM 1%	1.3	4.1	3.8
Alto PM 2%	1.3	3.3	3.8

Los valores mostrados representan la media de 3 repeticiones. LSD trat= 0.2244

la producción *in vitro* de aflatoxinas producidas por *A. flavus* y *A. parasiticus* por más del 90% además se redujo el crecimiento fúngico a menos de la mitad.

Dentro de los mecanismos de defensa inducidos por el quitosano se encuentra la activación de la quitinasa, enzima que degrada la pared de los hongos, (Hirano y Nagao, 1989) la acumulación de fitoalexinas (Hadwiguer y Beckman, 1980) y la activación de la fenil amonioliasa, enzima involucrada en la síntesis de fenoles (Romanazzi, 2002).

Por otro lado, Rattanapanone y col. (2001) evaluaron el crecimiento de hongos y levaduras en cubos de mango envasados en atmósferas controladas a 5 y 10°C. Estos autores encontraron que la cuenta total de microorganismos, aumentó durante el almacenamiento y que la temperatura fue el factor que más afectó el desarrollo de los mismos.



---

## 7. CONCLUSIONES

Los datos presentados en este trabajo indican que las cubiertas de quitosano en papaya fresca cortada afecta significativamente el índice de deterioro, el color, la firmeza, la actividad enzimática y el crecimiento de microorganismos. Sin embargo, el mejor tratamiento que mantuvo la calidad de papaya fresca cortada fue el quitosano de mediano peso molecular, el cual fue capaz de mantener un color más atractivo en el fruto, mantuvo la firmeza y redujo la carga microbiana. El mantenimiento de la firmeza de los frutos en los que se usó este tratamiento podría ser atribuido a la disminución de la actividad de las enzimas pectinolíticas y la reducción de microorganismos.

Se concluye que el uso de cubiertas de quitosano podría ser una alternativa viable para mantener la calidad y aumentar la vida de anaquel de papaya, aumentando las posibilidades de comercialización de este fruto.

---

## 8. REFERENCIAS

- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. 14<sup>th</sup> edition. Williams S., Ed. Publicado por The Association of Official Analytical Chemist. Washington D.C. p. 1141.
- Abe, K. y Watada, A.E. 1991. Ethylene absorbent to maintain quality of lightly processed fruits and vegetables. *J. Food Sci.* 56: 1493-1496.
- Abeles, F.B., Morgan, P.W. y Salveit, M.E. 1992. Ethylene in plant biology. 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, San Diego, pp. 414.
- Agar, I.T., Massantini, R., Hess-Pierce, B. y Kader, A.A. 1999. Postharvest CO<sub>2</sub> and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut Kiwifruit slices. *J. Food Sci.* 64:433-440.
- Ahamed, A.E. y Labavitch, J.M. Cell wall metabolism in ripening fruit. I. Cell wall changes in ripening "Bartlett" pears. *Plant Physiol.* 65: 1009-1013.
- Ahvenainen, R. 1996. New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends Food Sci. Technol.* 7: 179-187.
- Alique, F. y Alzamora, J. 2000. Aplicación del frío a los alimentos. Mundi Prensa. Madrid, España.
- Allan, C.R. y Hadwiger, L.A. 1979. The fungicidal effect of chitosan on fungi of cell wall composition. *Exp. Mycol.* 3:285-287.
- Alvarez-Parrilla, E. 2004. Tendencias en el consumo de frutos y vegetales cortados en México. En: González-Aguilar, G.A., Cuamea-Navarro, F. (Eds.). Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados en Iberoamérica. p.p. 71-78. Memorias del III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. San José, Costa Rica.
- Anónimo. 1998. Agricultural Marketing Service. Quality through verification program for the fresh-cut produce industry. *The Federal Register.* 63 (172 (September 4, 1998). 47220-47224.

- Anónimo. 1999. Fresh-cut produce industry overview. Produce Marketing Association. 1-6.
- Aquino-Bolaños, E.N., Cantwell, M.I., Peiser, G. y Mercado-Silva, E. 2000. Changes in the quality of fresh-cut jicama in relation to storage temperatures and controlled atmospheres. *J. Food Sci.* 65: 1238-1243.
- Attila, E.P. 1999. Edible coatings on food, or how to keep fruits and vegetables fresh after light processing. November 17. Meeting. Ferrum College, Ferrum, VA.
- Baldwin, E.A. 1994. Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present and future. In: *Edible coating and films improve food quality*. Basel, Switzerland; Technomic Publishing Co. Pp. 25-63.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. y Baker, R.A. 1995a. Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. *HortSci.* 30: 35-37.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. y Baker, R.A. 1995b. Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 35: 509-524.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O., Chen, X. y Hagenmaier, R.D. 1996. Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. *Post. Biol. Technol.* 9: 151-163.
- Beaulieu, J.C y Gorny, J.R. 2002. Fresh-cut fruits. In: K.C. Gross, C.Y. Wang and M. Salveit (eds). *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agricultural Handbook Number 66.
- Ben-Yehoshua, S. 1987. Transpiration, water stress, and gas exchange. In: *postharvest physiology of vegetables*, ed., J. Weichmann, Marcel Dekker, Inc., New York, pp 113-170.
- Bett, K.L., Ingram, D.A., Grimm, C.C., Lloyd, S.W., Spainer, A.M., Miller, J.M., Gross, K.C., Baldwin, E.A. y Vinyard, B.T. 2001. Flavor of fresh-cut "Gala" apples in modified atmosphere packaging as affected by storage time. *J Food Qual.* 24: 141-156.

- Bhaskara-Reddy, M.V., Belkacemi, K., Corcuff, R., Casataigne, F. y Arul, J. 2000. Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 20:39-51.
- Bhaskara-Reddy, M.V., Arul, J., Angers, P. y Castaigne F. 2002. Mechanisms of antifungal action of chitosan in post-harvest tomato *Alternaria* interaction inhibiting the progress of blackmold. In press
- Brackett, R.E. 1987. Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Qual.* 10:195-206.
- Brackett, R.E. 1994. Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed fresh fruits and vegetables. En *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*. Ed, R.C. Riley, Chapman & Hall. Pp 269-312.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Brecht, J.K. 1995. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortSci.* 30: 18-21.
- Brugnerotto, J., Lizardi, J., Goycoolea, F.M., Argüelles-Monal, W., Desbrieres, J. y Rinaudo, M. 2001. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polimer* 42: 3569-3580.
- Buck, J.W., Walcott, R.R. y Beuchat, L.R. 2003. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2003-0121-01-RV.
- Bunch, K. 1984. Food consumption, prices and expenditures. En: *Quality of minimally processed fruits and vegetables*. 1987. *J Food Quality.* 10: 143-156.
- Cano, M.P., Plaza, L. y De Ancos, B. 2004. Factores que intervienen en la pérdida de calidad organoléptica y nutricional de productos de la IV

- gama. En: M. Gloria Lobo y M. González (Ed). Productos hortofrutícolas mínimamente procesados. España.
- Cantwell, M. 2002 Introduction and information sources. In: Fresh-cut products: maintaining quality and safety. University California Davis.
- Cantwell, M. y T. Suslow. 2002. Postharvest handling systems: Minimally processed fruits and vegetables. Chpt. 32. In: Kader, A.K. (ed.). Postharvest Technology of Horticultural Crops, 3rd ed., Univ. California Special Publ. 3311, pp. 445-463.
- Carpita, N.C., Sabulase, D., Montezinos, D. y Delmer, D.P. 1979. Determinations of the pore size of cell walls in living plants cells. Science. 205: 1146-1147.
- Celis-Salas, J.A. 2003. Uso de cubiertas comestibles y antioxidantes para extender la vida útil de mando precortado. Tesis de maestría. CIAD, A.C.
- Chang, D.S., Cho, H.R., Goo, H.Y. y Choe, W.K. 1989. A development of food preservation with the waste of crab processing. Bull. Korean Fish Soc. 22:70-78.
- Chen, C., Liao, W. y Tsai, G. 1998. Antibacterial effects of N-Sulfonated and N-Sulfobenzoyl chitosan and application to oyster preservation. J. Food Prot. 61:1124-1128.
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F. y Deschaps, A. 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. J. Food Sci. 67: 1162-1168.
- Darmadji, P. e Izumimoto, M. 1994. Effect of chitosan in meat preservation. Meat Sci. 38:243-254.
- Davis, P.L. y Chace, W.R. 1969. Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. HortSci. 4:117-119.

- El Ghaouth, A., Arul, J. y Ponnampalam, R. 1991a. Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *J Food Proc. Preserv.* 15: 359-368.
- El-Ghaouth, A., Arul, J., Ponnampalam, R. y Boulet, M. 1991b. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberry. *J Food Sci.* 56:1618-1631.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Asselin, A. y Benhamou, N. 1992a. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: Induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. *Mycol. Res.* 96:769-779.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Asselin, A. y Benhamou, N. 1992b. Antifungal activity of chitosan on two post-harvest pathogens of strawberry fruits. *Phytopathol.* 82:398-402.
- El-Ghaouth, A., Ponnampalam, R., Castaigne, F. y Arul, J. 1992c. Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes. *HortSci.* 27:1016-1018.
- El-Ghaouth, A., Arul, J., Wilson, C. y Benhamou, N. 1994. Ultrastructural and cytochemical aspects of the effect of chitosan on decay of bell pepper fruit. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 44: 417-432.
- El-Ghaouth, A., Smilanick, J.L. y Wilson, C.L. 2000. Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycochitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. *Post. Biol. Technol.* 19: 103-110.
- Fajardo, J., Waniska, R., Cuero, R. y Petti, R. 1995. Phenolic compounds in peanuts seeds: enhanced elicitation by chitosan and effects on growth and aflatoxin B<sub>1</sub> production by *Aspergillus flavus*. *Food Biotechnol.* 9:59-78.
- FAO. 2000. <http://apps.fao.org>
- FAOSTAT. 2004. Statistical databases. Organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación. <http://apps.fao.org>

FDA Bacteriological Analytical Manual

[www.foodinfont.com/publication/fdaBAM.htm](http://www.foodinfont.com/publication/fdaBAM.htm)

FDA. 1989. Chemical preservatives. Code of Federal Regulation, title 21 part 182. Washington DC: US GPO.

Fry, S.C. 1986. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37: 165-186.

Fry, S.C. 1988. The growing plant cell wall: chemical and metabolic analysis. Longman Scientific & Technical, Essex.

Gaffe, J., Tieman, D.M. y Handa, A.K. 1994. Pectin methylesterase isoforms in tomato *Lycopersicon esculentum* tissue. Effects of expression of a pectin methylesterase antisense gene. *Plant Physiol.* 112: 864.

García, E. y Barret D.M. 2002. Preservative treatments for fresh-cut fruits and vegetables. En: O. Laminkara (ed). *Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology and market*. Boca Raton, Fla.; London. CRC Press. p.p. 125-186.

Garret, E.H. 1999. Fresh-cut produce. In: *Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods*. Second edition. Aspen Publishers. Maryland. pp. 125-134.

Goldberg, R. 1985. Cell wall isolation, general growth aspects. En: *Modern methods of plant analysis* (H.F. Linskens y J.F. Jackou, eds.), vol I. pp. 1-30. Springer-Verlag, Berlín.

González-Aguilar, G.A., Ayala-Zavala, F., Ruíz-Cruz, S., Cruz Valenzuela, R. y Cuamea Navarro, F. 2004a. Estado Actual del mercado de frutos y vegetales cortados. En: González-Aguilar, G.A., Cuamea-Navarro, F. (Eds.). *Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados en Iberoamérica*. p.p. 7-16. Memorias del III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. San José, Costa Rica.

González-Aguilar, G.A., Ruíz-Cruz, S., Cruz-Valenzuela, R., Rodríguez-Félix, A., Wang, C.Y. 2004b. Physiological and quality changes of fresh-cut

- pineapple treated with antibrowning agents. *Lebensm. Wiss. Technol.* 37: 369-376.
- González-Aguilar, G.A., Wang, C.Y. y Buta, J.G. 2000. Maintaining quality of fresh-cut mangoes using antibrowning agents and modified atmosphere packaging. *J. Agri. Food Chem.* 48: 4204-4208.
- González-Aguilar, G.A., Wang, C.Y., Buta, J.G. y Krizek, D.T. 2001. Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain postharvest quality of ripe "Tommy Atkins" mangoes. *Int. J. Food Sci. Technol.* 36: 767-773.
- Gorny, J.R. 1997. Modified atmosphere packaging and the fresh-cut revolution. *Perishables Handling News.* 90: 4-5.
- Gorny, J.R. 1998. A summary of CA and MA requirements and recommendations for fresh-cut (minimally processed) fruits and vegetables. 5: Fresh-cut Fruits and Vegetables and MAP: 30-66. *Postharvest Hortic. Series No. 19. CA '97. Proceedings. Seventh International. Controlled Atmosphere Research Conference.* Ed. Gorny, J.R.
- Gorny, J.R. 2001. Food Safety Guidelines for the fresh-cut produce industry. 4<sup>th</sup> ed. International Fresh-cut produce association, Arlington, VA. p.p.216.
- Gorny, J.R., Cifuentes, R.A., Hess-Pierce, B. y Kader, A.A. 2000. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by cultivar, ripeness stage, fruit size, and storage regime. *J Food Sci.* 65: 541-544.
- Gorny, J.R. 1998. Effects of fruit ripeness and storage temperature on the deterioration rate of fresh-cut peach and nectarine slices. *HortSci.* 33: 110-113.
- Gross, K.C. 1982. A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide. *HortSci.* 17: 933-934.
- Hadwiger, L.A. y Beckman, J.M. 1980. Chitosan as a component of pea *Fusarium solani* interactions. *Plant Physiol.* 66:205-211.



- Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J. y Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 71: 235-244.
- Hirano, S. y Nagao, N. 1989. Effect of chitosan, pectic acid, lysosyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agric. Biol. Chem.* 53: 3065-3066.
- Howard, L.R., Yoo, K.S., Pike, L.M. y Miller, G.H. 1994. Quality changes in diced onions stored in film packages. *J. Food Sci.* 59: 110-112, 117.
- Huber, D. 1983. The role of cell wall hydrolyses in fruit softening. *Hort. Rev.* 5: 169-219.
- Huxsoll, C.C. y Bolin, H.R. 1989. Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 43: 124-128.
- Huxsoll, C.C., Bolin, H.R. y King, A.D. 1989. Physicochemical changes and treatments for lightly processed fruits and vegetables. En: *Quality factors of fruits and vegetables-chemistry and technology*. Washington D.C. p.p. 203-215.
- <http://www.semilladelcaribe.com.mx/paginas/estadisticas.htm>
- Ian De Veau, E.J., Gross, K.C., Huber, D.J. y Watada, A.E. 1993. Degradation and solubilization of pectin by  $\beta$ -galactosidases purified from avocado mesocarp. *Physiol. Plant.* 87: 279-285.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2003. Encuesta Nacional de ingresos y gastos de los hogares 2002. [http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/encuestas/enigh/enigh\\_2002/enigh.html](http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/encuestas/enigh/enigh_2002/enigh.html).
- International Fresh-cut Produce Association (IFPA). 2000. Fresh-cut produce: get the facts. Fact sheet published by the association on their web site [www.fresh-cuts.org](http://www.fresh-cuts.org). Alexandria, VA.
- Izumi, H. y Watada, A.E. 1994. Calcium treatments affect storage quality of shredded carrots. *J. Food Sci.* 59: 106-109.

- Helander, I.M., Nurmiäho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J. y Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 71: 235-244.
- Hirano, S. y Nagao, N. 1989. Effect of chitosan, pectic acid, lysosyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agric. Biol. Chem.* 53: 3065-3066.
- Howard, L.R., Yoo, K.S., Pike, L.M. y Miller, G.H. 1994. Quality changes in diced onions stored in film packages. *J. Food Sci.* 59: 110-112, 117.
- Huber, D. 1983. The role of cell wall hydrolyses in fruit softening. *Hort. Rev.* 5: 169-219.
- Huxsoll, C.C. y Bolin, H.R. 1989. Processing and distribution alternatives for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 43: 124-128.
- Huxsoll, C.C., Bolin, H.R. y King, A.D. 1989. Physicochemical changes and treatments for lightly processed fruits and vegetables. En: *Quality factors of fruits and vegetables-chemistry and technology.* Washington D.C. p.p. 203-215.
- <http://www.semilladelcaribe.com.mx/paginas/estadisticas.htm>
- Ian De Veau, E.J., Gross, K.C., Huber, D.J. y Watada, A.E. 1993. Degradation and solubilization of pectin by  $\beta$ -galactosidases purified from avocado mesocarp. *Physiol. Plant.* 87: 279-285.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2003. Encuesta Nacional de ingresos y gastos de los hogares 2002. [http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/encuestas/enigh/enigh\\_2002/enigh.html](http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/encuestas/enigh/enigh_2002/enigh.html).
- International Fresh-cut Produce Association (IFPA). 2000. Fresh-cut produce: get the facts. Fact sheet published by the association on their web site [www.fresh-cuts.org](http://www.fresh-cuts.org). Alexandria, VA.
- Izumi, H. y Watada, A.E. 1994. Calcium treatments affect storage quality of shredded carrots. *J. Food Sci.* 59: 106-109.

- Jiang, Y. y Li, Y. 2001. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chem.* 73: 139-143.
- Joslin, M.A. y Pointing, J.D. 1951. Enzyme-catalyzed oxidative browning of fruits products. *Adv. Food Res.* 3: 1-7.
- Ju, Z.G. y Zhu, G.L. 1988. Research on tissue browning of fruits during storage. *Plant Physiol. Commun.* 4: 46-48.
- Kader, A. A. 1986. Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technol.* 40:99-104.
- Kader, A.A. 1992. *Postharvest Technology of horticultural crops*, second edition. Publ. 3311, Univ. Calif., Div. Agr. Nat. Resources, Oakland, CA, 296 pp.
- Kader, A.A. 2002. Quality parameters of fresh-cut fruits and vegetable products. En: O. Laminkara (ed). *Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology and market*. Boca Raton, Fla.; London. CRC Press. p.p. 11-19.
- Kader, A.A. y Mitcham, B. 2001. Standardization of quality. In: *Fresh-cut products: maintaining quality and safety*. University California Davis.
- Kader, A.A., Zagory, D. y Kerbel, E.L. 1989. Modified atmosphere packaging of fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 28: 1-30.
- Karakurt, Y. y Huber, D.J. 2003. Activities of several membrane and cell-wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya. *Postharvest Biol. Technol.* 28: 219-229.
- Kato-Noguchi, H. y Watada, A.E. 1997. Effects of low-oxygen atmosphere on ethanolic fermentation in fresh-cut carrots. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122: 107-111.
- Ke, D., Rodriguez-Sinobas, L. y Kader, A.A. 1991. Physiology and prediction of fruit tolerance to low-oxygen atmospheres. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116: 253-260.

- Kester, J.J. y Fennema, O. R. 1986. Edible Films and coatings: a review. *Food Technol.* 12: 47-59.
- Kim, D.M., Smith, N.L., y Lee, C.Y. 1993. Quality of minimally processed apple slices from selected cultivars. *J. Food Sci.* 58: 1115-1117, 1124.
- King, A.D. Jr. y Bolin, H.R. 1989. Physiological and microbiological storage stability of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.* 43: 132-135, 139.
- Klein, B.P. 1987. Nutritional consequences of minimal processing. *J Food Qual.* 10: 179-193.
- Knorr, D. 1984. Use of chitinous polymers in food. *Food Technol.* 85-97.
- Koch, J.L. y Nevins, D.J. 1989. Tomato fruit cell wall. I. Use of purified tomato poligalacturonase and pectinmethylesterase to identified development changes in pectins. *Plant Physiol.* 91: 816-822.
- Laminkara, O. 2002. Enzymatic effects on flavor and texture of fresh-cut fruits and vegetables. En: O. Laminkara (ed). *Fresh-cut fruits and vegetables: science, technology and market.* Boca Raton, Fla.; London. CRC Press. p.p. 125-186
- Laminkara, O., Chen, J.C., Banks, D. y Hunter P.A. 2000. Biochemical and microbial changes during the storage of minimally processed cantaloupe. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5955-5961.
- Laurila, E., Kervinen, R. y Ahvainen, R. 1998. The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetable and fruits. *Postharvest News Infor.* 9:53-65.
- Li, Q., Dunn, E.T., Grandmaison, E.W., Goosen, M.F.A. 1992. Applications and properties of chitosan. *J Bioact Compat. Polym.* 7: 370-397.
- Luna-Guzmán, I., Cantwell, M., Barret, D.M. 1999. Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl<sub>2</sub> dips and heat treatments n firmness and metabolic activity. *Post. Biol. Technol.* 17: 201-213.

- Luo, Y. y Barbosa-Canovas, G.V. 1995. Inhibition of apple slice browning by 4-hexylresorcinol. En: C.Y. Lee y J.R. Whitaker (Eds). Enzymatic browning and its prevention. ACS Symp. Ser. 600, Washington D.C. p.p. 240-250.
- McNeil, M., Darvill, A.G., Fry, S., Albersheim, P. 1984. Structure and function of the primary cell wall of plants. *Ann. Rev. Biochem.* 53: 625-663.
- Makino, Y., Hirata, T. 1997. Modified atmosphere packaging of fresh produce with a biodegradable laminate of chitosan-cellulose and polycaprolactone. *Post. Biol. Technol.* 10: 247-254.
- Martín, B.O. y Rojas, G.M. 2004. Factores que afectan la calidad de frutas mínimamente procesadas. Simposium "Estado actual del mercado de frutos y vegetales cortados en iberoamérica". III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. San José, Costa Rica, Abril 2004.
- Martín-Cabrejas, M.A., Esteban, R.M., López-Andreu, F.J. Waldron, K, Selvendran, R.R. 1995. Dietary fiber content of pear and kiwi pomaces. *J. Agric. Food Chem.* 43: 662-666.
- Matsushashi, S., Kume, T. 1997. Enhancement of antimicrobial activity of chitosan by irradiation. *J. Sci. Food Agric.* 73: 237-241.
- Mercado-Silva, E., Rubatzki, V., Heredia-Zepeda, A. y Cantwell, M.I. 1998. Variation in chilling susceptibility of jicama roots. *Acta Hort.* 467: 357-362.
- Montgomery, D.C. 1991. Diseño y análisis de experimentos. 3<sup>ra</sup> Ed. Grupo Editorial Iberoamérica. México, D.F.
- Morris, E.R. 1984. Rheology of hydrocolloids. En: Phillips, G.O., Wedlock, D.J. y Williams, P.A. (eds.). Gums and stabilizers for the food industry 2: Applications of hydrocolloids. Pergamon Press. p.p. 57-77.
- Muzzarelli, C., Muzzarelli, R. 2003. Chitin related food science today (and two centuries ago). *AGROFood*. September/October. 39-42.
- Nguyen-The, C., Carlin, F. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 34: 371-401.

- No, H.K., Park, N.Y., Lee, S.H. y Meyers, S.P. 2002. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int. J. Food Microbiol.* 74: 65-72.
- No, H.K., Park, N.Y., Lee, S.H., Hwang, H.J. y Meyers, S.P. 2002. Antibacterial activities of chitosan and chitosan oligomers with different molecular weights on spoilage bacteria isolated from tofu. *J. Food Sci.* 67: 1511-1514.
- O'Connor-Shaw, R.E., Roberts, R., Ford, A.L. and Nottingham, S.M. 1994. Shelf life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. *J Food Sci.* 59:1202-1215.
- Padiglia, A., Cruciana, E., Pazzaglia, G., Medda, R. y Floris, G. 1995. Purification and characterization of *Opuntia* peroxidase. *Phytochem.* 38: 295-297.
- Park, H. J., Chinnan, M.S., Shewfelt, R.L. 1994. Edible coating effects on storage life and quality of tomatoes. *J Food Sci.* 59: 568-570.
- Paull, R. E., Jung C.N. 1983. Postharvest variation in cell wall-degrading enzymes of papaya (*Carica papaya* L.) during fruit ripening. *Plant Physiol.* 72: 382-385.
- Paull, R.E., Chen, W. 1997. Minimal processing of papaya (*Carica papaya* L.) and the physiology of halved fruit. *Post. Biol. Technol.* 12:93-99.
- Paull, R. E., Nishijima, W., Reyes, M., Cavaletto, C. 1997. Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). *Post. Biol. Technol.* 11: 165-179.
- Pen, L.T. y Jiang, Y.M. 2003. Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut chinese water chestnut. *Swiss Soc. Food Sci Tenchol.* 36: 359-354.
- Ranwala, A.P., Suematsu, C. y Masuda, H. 1992. The role of  $\beta$ -Galactosidases in the modification of cell wall components during muskmelon fruit ripening. *Plant Physiol.* 100: 1318-1325.

- Rattanapanone, N., Lee, Y., Wu, T. y Watada, A.E. 2001. Quality and microbial changes of fresh-cut mango cubes held in controlled atmosphere. *HortSci.* 36: 1091-1095.
- Rexová-Benková, L. y Markovic, O. 1976. Pectic Enzymes. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 33: 323.
- Rinaudo, M., Mlay, M. y Dung, P.L. 1993. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on Caín expansion. *Int. J. Biol. Macromol.* 15: 281-285.
- Robert, E. y Jung, C.N. 1983. Postharvest variation in cell wall-degrading enzymes of papaya (*Carica papaya* L.) during fruit ripening. *Plant Physiol.* 72:382-385.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Venere, Di, Y Salerno, M. 2002. Effects of pre and postharvest treatments to control storage grey mold of tables grapes. *J Food Sci.* 67:1862-1867.
- Romanazzi, G., Nigro, F. e Ippolito, A. 2003. Short Hypobaric treatments potentiate the effect of chitosan in reducing storage decay of sweet cherries. *Post. Biol. Technol.* 29:73-80.
- Roming, W.R. 1995. Selection of cultivars for lightly processed fruits and vegetables. *HortSci.* 30: 38-40.
- Ruiz-Cruz, S. 2002. Uso de agentes antioxidantes y envasado en atmósferas modificadas para mantener la calidad de rodajas de piña fresca. Tesis de maestría. CIAD, A.C.
- Sapers, G.M. y Douglas, F.W. Jr. 1987. Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. *J. Food Sci.* 52: 1258-1261, 1285.
- Sapers, G.M. y Miller, R.L. 1998. Browning inhibition in fresh-cut pears. *J. Food Sci.* 63: 342-246.
- Savage, P.J. y Savage, G.P. 1994. The effect of coating apples on the quality of stored apples. *Proc. Nut. Soc. New Zea.* 19:129-133.

- Schlimme, D.V. y Rooney, M.L. 1994. Packaging of minimally processed fruits and vegetables. En: R.C. Wiley (Ed). Minimally processed fruits and vegetables. New York, USA; Chapman&Hall. p.p. 135-182.
- Shahidi, F., Kamil, J., Arachchi, V. y Jeon, Y.J. 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Food Sci Technol.* 10:37-51.
- Senesi, E., Galvis, A. y Fumagalli, G. 1999. Quality indexes and internal atmospheres of packaged fresh-cut pears (Abate fetel and Kaiser varieties. *Ital. J Food Sci.* 2: 111-120.
- Shewfelt, R.L. 1987. Quality of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Qual.* 10: 143-156.
- Simpson, B.K., Gagne, N., Ashie, I.N.A. and Noroozi, E. 1997. Utilization of chitosan for preservation of raw shrimp (*Pandalus borealis*). *Food Biotechnol.* 11:25-44.
- Sitrit, Y. y Bennett, A.B. 1998. Regulation of tomato fruit poligalacturonase mRNA accumulation by ethylene: a re-examination. *Plant Physiol.* 25: 237-244
- Smith, S., Geeson, J. and Stow, J. 1987. Production of modified atmospheres in deciduous fruits by the use of films and coatings. *HortSci.* 22:772-776.
- Sudharshan, N.R., Hoover, D.G. and Knorr, D. 1992. Antibacterial Action of Chitosan. *Food Biotechnol.* 6:257-272.
- Sun, S.F., 1994. *Physical Chemistry of Macromolecules: Basic Principles and Issues.* John Wiley and sons. NY.
- Taylor, S.L. 1993. Why sulfite alternatives. *Food Technol.* 47: 14.
- Tharanathan, R. N., Kittur, F.S. 2003. Chitin- The undisputed biomolecule of great potencial. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 43: 61-87.
- Toivonen, M.A., DeEll, J.R. 2001. Physiology of fresh-cut fruits and vegetables. En: O. Laminkara (ed). *Fresh-cut fruits and vegetables: science,*



- technology and market. Boca Raton, Fla.; London. CRC Press. pp. 91-118.
- Uchida, Y. 1988. Anti-microbial characteristics of chitin and chitosan. *Food Chem.* 2: 22-29.
- Varoquax, P., Lecendre, I., Varoquax, M., y Souty, M. 1990. Changes in firmness of kiwifruit after slicing. (Perte de fermeté du fiwi après découpe). *Sci. Aliment.* 10: 127-139.
- Vasconcellos, J.A. 2002. Regulatory and safety aspects of refrigerated minimally processed fruits and vegetables: A review. In: S.M. Alzamora, M.S. Tapia, A. López-Malo (eds). *Minimally processed fruits and vegetables: Fundamental aspects and applications*. Aspen Publishers, Gaithersburg, Md. pp. 319-343.
- Wang, G. 1992. Inhibition and inactivation of five species of foodborne pathogens by chitosan. *J. Food Prot.* 55:916-919.
- Watada, A.E. y Qi, L. 1999. Quality of fresh-cut produce. *Post. Biol. Technol.* 15: 201-205.
- Watada, A.E., Ko, N.P., Minott, D.A. 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Post. Biol. Technol.* 15: 201-205.
- Whitaker, J.R. y Lee, C.Y. 1995. Recent advances in chemistry of enzymatic browning. En: Lee, C.Y.; Whitaker, J.R. (eds) *Enzymatic browning and its prevention*. Washington, DC, USA; ACS Symposium Series 600, pp. 2-7.
- Wiley, R.C. 1997. *Frutas y Hortalizas Mínimamente Procesadas y Refrigeradas*. Acribia. España. Cap. 2: 15-60.
- Wright, K.P. y Kader, A.A. 1997. Effect of slicing and controlled atmosphere storage on the ascorbate content and quality of strawberries and persimmons. *Post. Biol. Technol.* 10: 39-48.
- Young, D.H., Köhle, H., Kauss, H. 1982. Effect of chitosan on membrane permeability of suspension cultured *Glycine max* and *Phaseolus vulgaris* Cells. *Plant Physiol.* 70: 1449-1454

Zhang, D. and Quantick, C. 1997. Effect of chitosan coating on enzymatic browning and decay during post-harvest storage of litchi (*Litchi chinensis sonn.*) fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 12:195-202