

3. REVISION BIBLIOGRÁFICA

3.1 Fresa: *Fragaria ananassa*

La Fresa (*Fragaria ananassa*) es nativa de las regiones templadas en el mundo y es cultivada en grandes cantidades. La planta de fresa es termo y fotoperiódica, es decir, que su crecimiento depende de las condiciones de luz y temperatura. La zona apta para producción de fruta se ubica entre los 1,300 y 2,000 msnm. El factor determinante para producir esta fruta es la temperatura óptima, que en promedio es de 14°C, pero se adapta bien entre los 10 y 20°C (SAGARPA, 2008).

La recolección es manual, debido a que la fruta es altamente perecedera. Se debe cuidar la fruta desde antes de su formación y desarrollo, para que llegue en buenas condiciones a la cosecha. A partir del momento de la cosecha, se presentan otros procesos de gran importancia, el de seleccionar la fruta, empacarla, transportarla y almacenarla adecuadamente. Una fresa cosechada en plena maduración y mantenida a temperatura ambiente, se deteriora en un 80% en sólo 8 horas. La selección de la fruta se hace de acuerdo con el mercado al que se dirige, lo mismo que su empacado. Estas labores se inician en el momento de la cosecha, cuando se separan las frutas de acuerdo con la calidad y se empacan en el mismo lugar (SAGARPA, 2008).

La fresa es una fruta que se emplea para consumo humano en fresco y congelada. Las fresas se deben lavar antes de quitarles el rabillo; ya maduras se consumen al natural, se emplean en pastelería, así como en confitería. También se elaboran mermeladas y jaleas. Pierden sus atributos de textura cuando se congelan, aunque conservadas de esta manera tienen una gran variedad de usos (SAGARPA, 2008).

En México, la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural reportó que durante el ciclo agrícola 2007, más del 70 por ciento de la producción nacional de fresa, equivalente a 125 mil 856 toneladas, se destinó a la exportación con un valor cercano a los dos mil 100 millones de pesos, siendo el mercado estadounidense el principal destino de estas exportaciones (SAGARPA, 2008).

Los estados de la República Mexicana que sobresalen en la producción de fresa — en 2007 se cosecharon 177 mil 500 toneladas en una extensión de seis mil 148 hectáreas —

son Baja California, Guanajuato, Estado de México y Michoacán. En el proceso de cultivo, cosecha e industrialización se ocupan anualmente más de tres millones 749 mil jornales, con ingresos para los trabajadores agrícolas del orden de 450 millones de pesos. A pesar de que Puebla no ha sido productor de esta fruta, el estado cuenta con regiones que tienen las condiciones climáticas adecuadas para su cultivo. Recientemente se ha sembrado fresa en el municipio de Atlixco mediante la técnica de acolchado a cielo abierto y en Tenextepec ya se encuentra una empresa con invernaderos produciéndola mediante el sistema hidropónico, método que emplea agua con nutrientes y elimina el uso de herbicidas o la presencia de plagas. Es por ello, que este cultivo representa una gran oportunidad para la agricultura en nuestro estado.

La fresa es una fruta no climatérica con una vida post-cosecha muy corta. La mayoría de las veces, la pérdida de calidad en la fresa se debe a su actividad metabólica tan alta y a su sensibilidad al deterioro por hongos, principalmente el moho gris (*Botrytis cinerea*). La enfermedad provocada por este hongo es la principal causa de pérdidas postcosecha en la fresa, pues este hongo continúa creciendo aún a 0°C (32°F), aunque muy lentamente (Mitchell *et al.*, 1996). Esta fruta también es susceptible a pérdida de agua, magullado y daños mecánicos debido a su textura tan suave, además de no contar con una capa protectora. El almacenamiento en refrigeración es empleado ampliamente para reducir su deterioro y alargar la vida de anaquel en general de frutas y hortalizas. Para disminuir el metabolismo y reducir el deterioro antes del transporte o el almacenamiento, las fresas son enfriadas a 0°C después de la cosecha. La vida post-cosecha de esta fruta puede ser incrementada mediante varias técnicas combinadas con refrigeración (Hernández-Muñoz *et al.*, 2006).

La tasa de respiración de la fruta es de 6-10 ml CO₂/kg h a 0°C, 25-50 ml CO₂/kg h a 10°C y de 50-100 ml CO₂/kg h a 20°C. La tasa de producción de etileno es de < 0.1 µL/C₂H₄/kg h a 20°C. Se han aplicado atmósferas controladas y modificadas. La atmósfera modificada (AM) en el embalaje, previo al embarque, con 10 a 15% de bióxido de carbono reduce el crecimiento de *Botrytis cinerea* (pudrición por moho gris) y la tasa de respiración, por lo que, extiende la vida postcosecha de esta fruta. El método más común para la aplicación de AM es el uso de una película plástica para cubrir completamente el palet o carga unitarizada (Mitchell *et al.*, 1996). Sin embargo, la atmósfera modificada puede afectar negativamente el color de la fresa (Holcroft y

Kader, 1999) y probablemente afectar la conservación de aroma-sabor en la fruta (Pelayo et al., 2003). Otros autores han reportado que una exposición prolongada de las fresas a altas concentraciones de CO₂ puede desarrollar olor desagradable (Li y Kader, 1989; Ke *et al.*, 1994).

Entre los índices de calidad que se verifican en esta fruta se encuentran: apariencia (color, tamaño, forma, ausencia de defectos), firmeza, sabor (sólidos solubles, acidez titulable y compuestos aromáticos) y valor nutricional (Vitamina C) (Mitchell *et al.*, 1996).

Es necesario realizar trabajos de investigación para ayudar al productor de fresa a lograr una vida de anaquel más amplia que le permita comercializar su producto y darle al consumidor la posibilidad de incluir esta fruta en su dieta diaria, con el fin de tomar ventaja de sus cualidades medicinales y nutricionales, ya que cuenta con propiedades antioxidantes, diuréticas, astringentes, laxantes y antibióticas. Además, contiene vitaminas A y C, hierro y polifenoles, que favorecen la conservación de los huesos, coagulación de la sangre, formación de glóbulos rojos y resistencia capilar entre otros beneficios (SAGARPA, 2008).

3.2 Procesamiento mínimo y combinación de obstáculos

Cada vez son más populares las frutas y verduras mínimamente procesadas, ya que el consumidor asocia un beneficio para su salud con la ingesta diaria de productos frescos, además de combinarse con la tendencia de preferir alimentos listos para comer, por ser muy prácticos. Debido al incremento recientemente de la demanda de alimentos frescos o lo más parecido a los frescos, los investigadores y procesadores de alimentos tienen un gran reto para hacerlos estables y seguros (Alzamora *et al.*, 2000).

El tiempo y la distancia tan grandes entre el procesado y el consumo pueden representar un alto riesgo para productos frescos. Aunque los peligros físicos y químicos son preocupantes, el verdadero riesgo radica en la contaminación microbiológica. Las posibles fuentes de contaminación pueden venir en la propia materia prima, de los trabajadores y del ambiente donde se procesan.

Los productores de frutas y verduras mínimamente procesadas, mantienen sus atributos y calidad de forma similar a la de los productos frescos. En algunos casos, el producto

mínimamente procesado es un alimento crudo y las células del tejido están vivas. Sin embargo, estas características no son necesariamente requeridas, mientras se mantenga la frescura del alimento. Entre los métodos de procesamiento mínimo empleados se encuentran aquellos que provocan el cambio mínimo posible en la calidad del alimento (manteniendo su apariencia de frescura) pero al mismo tiempo, ayudan al alimento para tener una vida de anaquel suficientemente larga para transportarlo desde el lugar de producción hasta el consumidor.

Actualmente, se hace uso de varios factores de conservación solos o combinados para producir alimentos mínimamente procesados, además se siguen investigando o descubriendo nuevos métodos que prometen lograr el objetivo de mantener la calidad y atributos de los alimentos, generando productos seguros y estables para el consumidor. Existen varios factores de conservación que han demostrado inhibir o inactivar el crecimiento microbiológico y retrasar otras reacciones deteriorativas (limpieza superficial, tratamiento en agua clorada, empaçado con atmósferas modificadas, recubrimiento con películas comestibles, empaçado aséptico, refrigeración, entre otros), de tal forma, que pueden ser usados como herramientas para incrementar la vida útil en alimentos. Se está demostrando que el objetivo antes mencionado se puede alcanzar si se aplican esos factores de manera combinada (factores combinados) (Alzamora *et al.*, 2000).

3.3 Películas comestibles

Recientemente, se ha puesto un especial interés en el potencial de polímeros naturales, tales como polisacáridos y proteínas para la producción de empaques para alimentos. Este tipo de compuestos puede ser empleado en la generación de películas para recubrir la superficie de frutas y hortalizas, reduciendo así las velocidades de respiración y transpiración al valor óptimo (CO_2/O_2 y vapor de agua). Estos recubrimientos pueden mejorar también el manejo mecánico del producto y ayudar a mantener su integridad estructural (Krochta *et al.*, 1994).

3.3.1 Definición

Una **película comestible** se define como una capa continua y delgada de material comestible formada sobre (cubierta) o colocada entre (películas) los componentes del alimento, provee una barrera a la transferencia de masa (por ejemplo: humedad,

oxígeno, lípidos, solutos) y/o provee un medio para acarrear ingredientes del alimento o aditivos, y/o mejora el manejo del alimento. (Singh y Nirakartakusumah, 1992).

Cuando el empaque de un alimento es una película, lámina o capa fina y es parte integral del alimento y además puede ser comida, se le llama **película comestible** (Krochta *et al.*, 1994).

3.3.2 Historia

La aplicación de películas comestibles y recubrimientos protectores que tienen el objetivo de prolongar la vida de anaquel de los alimentos no es nueva. Durante los siglos XII y XIII en China se practicaba la inmersión de las naranjas y limones en cera, observándose que se retardaba la pérdida de humedad. En Inglaterra durante el Siglo XVI se aplicaron recubrimientos de manteca a productos que contenían grasas para disminuir la velocidad de pérdida de humedad en los productos (Labuza y Contreras-Medellin, 1981). La conservación de carnes y otros productos con recubrimientos hechos a base de películas de gelatina fueron propuestos por Havard y Harmony (1869) y por Morris y Parker (1895). En los años 30, las parafinas para derretir en caliente llegaron a estar disponibles comercialmente para recubrir frutos cítricos con el objetivo de retardar la pérdida de humedad y a principios de los años 50's, fueron desarrolladas emulsiones aceite en agua de la cera carnaúba para recubrir frutas y vegetales frescos (Wardowski *et al.*, 1986). En los últimos treinta años se ha reportado un número considerable de trabajos científicos y patentes en donde se aplica el uso de películas comestibles y recubrimientos para alargar la vida de anaquel y mejorar la calidad de alimentos frescos, congelados y procesados. Una variedad de compuestos (polisacáridos, proteínas y lípidos) ha sido utilizada ya sea solos o en mezclas para producir películas compuestas.

3.3.3 Características

En general, las películas comestibles presentan las siguientes características:

- buena barrera para controlar la transferencia de humedad del producto, transferencia de oxígeno, compuestos volátiles y pérdidas de solutos, además de transferencia de lípidos
- pueden acarrear ingredientes del alimento y aditivos
- pueden mejorar la apariencia del alimento
- incrementan las propiedades mecánicas de manejo

- adicionan integridad estructural
- proveen una superficie no pegajosa ni grasosa
- reducen la complejidad del empaque

3.3.4 Ventajas

Las ventajas que ofrecen las películas comestibles según Mathlouthi (1986) son las siguientes:

- Pueden ser ingeridas por el consumidor
- Su costo es generalmente bajo
- Su utilización reduce la cantidad de desperdicio y la contaminación
- Pueden generar una mejora en el alimento en sus características nutricionales, sensoriales o mecánicas
- Pueden proporcionar protección a una parte o a todo el alimento
- Pueden aplicarse en alimentos heterogéneos agregando una barrera entre los componentes
- Proporcionan seguridad al consumidor.

3.3.5 Componentes

Los componentes de las películas alimenticias pueden ser divididos en tres categorías:

1. **Hidrocoloides:** Estos incluyen proteínas y polisacáridos como la celulosa, alginatos, pectinas, almidones y otros.
2. **Lípidos:** incluyen ceras, acilgliceroles y ácidos grasos.
3. **Mezclas:** contienen componentes lipídicos e hidrocoloides.

Las propiedades de cada película dependerán del tipo de componente (s) de que esté elaborada (Krochta *et al.*, 1994).

3.3.5.1 Hidrocoloides

Las películas elaboradas a base de estos compuestos son empleadas donde el control de la migración de vapor de agua no es el objetivo. Son usadas como barreras contra oxígeno, dióxido de carbono y lípidos. Muchas de estas tienen propiedades mecánicas que mejoran la integridad estructural en productos frágiles, son sensibles al calentamiento y no aportan sabor (Krochta *et al.*, 1994).

- **Polisacáridos**

Una variedad de polisacáridos y sus derivados han sido probados para ser usados potencialmente en películas o recubrimientos comestibles. Estos incluyen alginatos, pectinas, carragenina, gomas (por ejemplo agar de algas marinas), quitosano, almidón, hidrolizados de almidón, derivados de celulosa y mezclas. Debido a la naturaleza hidrofílica de estos polímeros, no tienen buenas propiedades de barrera contra la humedad. Sin embargo, ciertos polisacáridos cuando son utilizados en la forma de recubrimientos gelatinosos de alta humedad, que retardan la pérdida de humedad de algunos alimentos (por ejemplo productos cárnicos) durante períodos de almacenamiento cortos. Las películas de polisacáridos tienen buenas propiedades de barrera a los gases y pueden adherirse a superficies de frutas y vegetales (Kester y Fennema, 1986).

- **Proteínas**

Las películas de proteínas poseen mayor resistencia al vapor de agua que el resto de los hidrocoloides solubles en agua. Son susceptibles al cambio de pH, pueden proporcionar un valor nutricional agregado al producto, son buenas formadoras de películas y se adhieren a superficies hidrofílicas (Baldwin *et al.*, 1995).

Las fuentes más comunes son caseínas, zeína, soya, albúmina de huevo, lactoalbúmina, suero de leche, gluten de trigo y colágeno (Kester y Fennema, 1986).

3.3.5.2 Lípidos

Son usados como barreras al vapor de agua y al agua debido a su polaridad relativamente baja, también se emplean como agentes de recubrimiento que dan brillo, sobretodo en productos de confitería. Las ceras son comúnmente usadas como recubrimientos de frutas y vegetales para retardar la respiración y la pérdida de humedad, además de poder combinarse con acetaldehídos para aumentar la flexibilidad de la película. Los ácidos grasos y alcoholes grasos son efectivos como barreras al vapor de agua. Las propiedades de barrera de estas películas son altamente dependientes del arreglo cristalino que presenten los lípidos. Las películas de cera son, la mayoría de las veces, más resistentes al paso de humedad que las de cualquier otro componente (Krochta *et al.*, 1994).

Un aspecto importante a considerar es que los lípidos no son útiles en superficies hidrofílicas. Se ha empleado aceite comercial parcialmente hidrogenado con buenos resultados y para controlar los problemas de rancidez se han agregado antioxidantes a las soluciones formadoras de películas, como el BHA y BHT (Baldwin *et al.*, 1995).

Algunos materiales lipídicos comerciales usados como películas comestibles son cera de abeja, cera carnaúba, parafinas y glicéridos acetilados; las mejores barreras contra la pérdida de humedad son sólidos a temperatura ambiente.

3.3.5.3 Mezclas

Las películas comestibles pueden ser heterogéneas en naturaleza, consistiendo de una mezcla de polisacáridos, proteínas y/o lípidos. Esto permite tomar ventaja de las características funcionales de cada componente. Un ejemplo de ello puede ser una película comestibles hecha a base de un lípido y un hidrocoloide de alto peso molecular. La película resultante poseerá una buena cohesión estructural impartida por el polímero de cadena larga e hidropelencia impartida por el lípido (Kester y Fennema, 1986).

3.3.6 Aditivos

Se pueden incorporar diferentes materiales en las películas comestibles para modificar sus propiedades mecánicas, de barrera, sensoriales o nutricionales.

- **Plastificantes:** Son compuestos de baja volatilidad que pueden ser adicionados para impartir flexibilidad a una película polimérica. Incrementan la resistencia al corte y dureza, además de que ayudan para que la película se quiebre menos. Actúan disminuyendo las fuerzas intermoleculares en la cadena del polímero, produciendo un decremento en la fuerza de cohesión, en la tensión y en la temperatura de transición vítrea. El plastificante debe ser miscible con el polímero y de ser posible, soluble en el solvente. Las películas requieren una concentración de plastificante entre 10 y el 60% (base seca) (Guilbert, 1986).

Según Guilbert (1986), los plastificantes comúnmente usados en alimentos son:

Mono, di- y oligosacarídeos (glucosa, jarabes, miel)

Poliol: Glicerol, sorbitol, manitol, sacarosa, propilenglicol y polietilenglicol.

Lípidos y derivados (ácidos grasos, monoacilgliceroles, derivados éster y surfactantes). Ejemplos: Aceite de oliva, ácido láurico, ácido palmítico, ácido mirístico.

- **Emulsificantes:** Pueden ser incorporados cuando se desea una emulsión formadora de películas estable aceite en agua o emulsiones.
- **Surfactantes** Cuando se recubren ciertos alimentos con una solución acuosa o dispersión formadora de películas, se puede requerir una pequeña cantidad de un agente humidificador apropiado para facilitar el esparcido uniforme. La adición de materiales surfactantes, como agentes humidificadores, probablemente reduce las propiedades de barrera de la película final.
- **Conservadores:** Las películas o recubrimientos comestibles pueden ser usados como vehículos para incorporar aditivos alimentarios a la superficie del alimento, ya que es el punto donde empieza el deterioro de muchos alimentos sólidos por crecimiento microbiano y oxidación. Por lo tanto, el incluir un conservador en la película comestible que es aplicada sobre el producto, coloca al conservador en el punto donde los alimentos son más susceptibles a deterioro. Entre los conservadores químicos empleados se encuentran: el ácido benzoico, benzoato de sodio, ácido sórbico, sorbato de potasio y ácido propiónico (Chen *et al.*, 1996).
- **Saborizantes o Potencializadores de sabor, Pigmentos o Aditivos nutricionales:** Se pueden incorporar para aumentar las propiedades organolépticas o nutricionales de un alimento. Las películas comestibles pueden ser usadas efectivamente como acarreadores de aditivos alimentarios, sin embargo, es importante recordar, que estos aditivos pueden alterar de manera negativa la resistencia de la película al vapor, gas o transporte de solutos. La influencia de un aditivo en las propiedades de la película dependerá de su concentración, su estructura química, su grado de dispersión en la película y qué tanto interactúa con el polímero (Chen *et al.*, 1996).

3.3.7 Formación de las películas comestibles

Existen diferentes procedimientos para formar películas comestibles. Empleando hidrocoloides se pueden tener los siguientes:

- **Coacervación:** Este proceso involucra la separación de un material polimérico del recubrimiento de la solución mediante calentamiento, modificación de pH,

adicionando solventes o alterando la carga en el polímero involucrado. La coacervación simple se presenta cuando se involucra a un solo polímero. En la coacervación compleja, se combinan al menos dos macromoléculas de cargas opuestas que ocasionan la precipitación de un complejo polimérico, mediante el mecanismo de neutralización de carga (Krochta *et al.*, 1994).

La coacervación puede ser clasificada también de acuerdo al tipo de separación de fase: acuosa o no acuosa. La separación de fase acuosa requiere un recubrimiento hidrofílico tal como gelatina o gelatina-goma acacia que es colocada sobre un núcleo central insoluble en agua. La separación de fase no acuosa involucra usualmente un recubrimiento hidrofóbico que es depositado ya sea sobre un núcleo soluble o insoluble en agua.

Aunque la coacervación ha sido usada ampliamente en la industria farmacéutica, especialmente para encapsulación, se han desarrollado pocas aplicaciones en la industria de alimentos. Esto se debe probablemente al alto costo de los equipos y la falta de materiales grado alimenticio para encapsular.

- **Remoción del solvente:** En el caso de materiales que forman la película dispersos en soluciones acuosas, la remoción del solvente es necesaria para la formación de una película sólida. La velocidad y la temperatura de secado tienen una influencia importante en la cristalinidad y propiedades mecánicas de las películas hechas a base de celulosa (Krochta *et al.*, 1994).

- **Solidificación del fundido:** La solidificación del material fundido mediante enfriamiento es una técnica común para la preparación de películas lipídicas. De igual forma que la velocidad de remoción del solvente, la velocidad de enfriamiento juega un papel muy importante en las propiedades físicas generales de la película resultante. La velocidad de enfriamiento influye en el estado polimórfico que predomine, así como en el grado de recristalización en la película solidificada. Singh y Nirakartakusumah (1992) reportaron que la resistencia al vapor de agua y oxígeno de películas lipídicas, dependió del estado polimórfico.

En la mayoría de las aplicaciones de películas a alimentos, éstas son generalmente formadas de una solución o dispersión del agente que forma la película, seguido de una etapa para separar el agente formador de la película del fluido acarreador o mediante la solidificación del agente formador de la película proveniente de un fundido. Siguiendo

cualquiera de estos métodos, el recubrimiento o película puede ser aplicado directamente a la superficie del alimento mediante un esparcido, untado o inmersión o indirectamente formando películas en moldes o por extrusión que sean independientes al producto (Kester y Fennema, 1986).

3.3.8 Permeabilidad de la película comestible

La permeabilidad es definida como la transmisión de una sustancia que penetra a través de un material resistente.

En ausencia de grietas y agujeros, el mecanismo primario para el flujo de gas y vapor a través de una película o recubrimiento es por difusión activa. Por ejemplo, la sustancia que penetra, se disuelve en la matriz de la película del lado de alta concentración, se difunde a través de la película por medio del gradiente de concentración y se evapora del lado de la otra superficie. La difusión depende del tamaño, forma y polaridad de las moléculas penetrantes así como del movimiento segmental de la cadena del polímero dentro de la matriz de la película. Los factores que afectan el movimiento segmental de las cadenas de polímeros incluyen las fuerzas de atracción entre cadenas tales como puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, el grado de enlaces cruzados y la cantidad de cristalinidad. Los pasos de disolución y evaporación son influenciados por la solubilidad de la sustancia que penetra en la película. Para gases simples, pueden ser aplicadas las ecuaciones de Fick y Henry. La permeabilidad es una función de la diferencia en presiones parciales de vapor en los dos lados del material (Lerici *et al.*, 1985).

La permeabilidad de las películas a los gases que pasan a través de ella, es definida de la misma forma que la permeabilidad al vapor de agua. La permeabilidad puede ser fuertemente dependiente de la actividad de agua.

Según Krochta *et al.* (1994), una combinación de la primera ley de Fick de difusión y la ley de Henry de solubilidad, se utiliza para expresar la permeabilidad en estado estable a través de una barrera no porosa o con imperfecciones no significativas. La primera ley de Fick, establece que el flujo del permeado, J , es dependiente del coeficiente de difusión, D , de la diferencia de concentraciones en la película (dC) y de la diferencia del espesor (dx), esto se puede expresar mediante la siguiente ecuación:

$$J = -D \frac{dC}{dx} \quad \text{Ecuación (1)}$$

El signo negativo indica que la migración ocurre en dirección de la menor concentración.

La ley de solubilidad de Henry indica que la concentración del permeado (C) en la película es igual al producto del coeficiente de solubilidad, S, y la presión parcial del permeado en el aire adyacente, P.

$$C = SP \quad \text{Ecuación (2)}$$

La combinación de la ley de Fick con la ley de Henry queda de la siguiente manera:

$$J = -DS \frac{dP}{dX} \quad \text{Ecuación (3)}$$

Donde dP es la diferencial de las presiones parciales a través de la película y DS es la permeabilidad, por lo que la ecuación anterior podría quedar de la siguiente manera:

$$\text{Permeabilidad} = DS = - \frac{JdX}{dP} \quad \text{Ecuación (4)}$$

Experimentalmente la permeabilidad puede ser determinada mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Permeabilidad (P)} = - \frac{w^* x}{A^* t^* (p_1 - p_2)} = \frac{g.cm}{m^2.día.mmHg} \quad \text{Ecuación (5)}$$

Donde:

w: masa (g)

x: espesor (m)

t: tiempo (min)

A: Área expuesta (m²)

p₁-p₂: diferencia de presión parcial (mmHg)

3.4 Quitosano

3.4.1 Generalidades

La quitina es el biopolímero natural más abundante en la tierra. Es obtenido de los exoesqueletos de crustáceos (cangrejo y camarón, por mencionar solo dos ejemplos) y también de las paredes celulares de insectos y hongos. Es un amino polisacárido catiónico, compuesto esencialmente por residuos de N-acetil-D-glucosamina unidos por enlaces β -1, 4, mientras que el quitosano es un copolímero de unidades de la D-glucosamina (aprox. 80%) y la N-acetil-D-glucosamina (aprox. 20%), como resultado de la N-acetilación de la quitina en presencia de soluciones alcalinas calientes. De hecho, el quitosano es el nombre colectivo que representa a la familia de las quitinas N-acetiladas, desacetiladas a diferentes grados. El peso molecular de esos polisacáridos puede ser tan alto como 10^6 Da. El grado de N-acetilación y el grado de polimerización, que afectan directamente el peso molecular del polímero, son dos parámetros importantes que determinan el uso de los quitosanos en varias aplicaciones. Su influencia en el desarrollo de viscosidad de soluciones acuosas, hace que el quitosano sea importante bioquímica y biofarmacológicamente (Rudrapatnam y Farooqahmed, 2003).

3.4.2 Extracción

El material del cual se obtiene la quitina principalmente consiste en caparazones de cangrejos y camarones, los cuales son muy abundantes. Debido a que la quitina está asociada (covalentemente) con otros componentes, se requieren tratamientos complejos para eliminarlos de esta. Se han desarrollado diferentes métodos para obtener quitina y quitosano a gran escala. La figura 1 muestra los pasos principales en la extracción de la quitina de los caparazones de cangrejos y camarones.

El primer paso es separar las proteínas de los caparazones molidos por medio de un tratamiento ya sea con hidróxido de sodio o por una digestión con enzimas proteolíticas, tales como la papaína, pepsina y tripsina. Se extraen los minerales como el carbonato de calcio y el fosfato de calcio con ácido clorhídrico. Se eliminan los pigmentos, como las melaninas y los carotenoides con permanganato de potasio al 0.02% a 60°C o peróxido de hidrógeno o hipoclorito de sodio (Rudrapatnam y Farooqahmed, 2003).

Para la producción de quitosano, se trata a la quitina con una solución de hidróxido de sodio muy fuerte para desesterificar los enlaces N-acetil. El proceso de desacetilación se lleva a cabo tanto a temperatura ambiente (desacetilación homogénea) como a temperatura elevada (desacetilación heterogénea), dependiendo de la naturaleza del producto final deseado. Sin embargo, esta última es preferida a nivel industrial. En algunos casos, la reacción de desacetilación se lleva a cabo en presencia de tiofenol, para ocuparse del oxígeno o bajo atmósfera de nitrógeno para prevenir la degradación de la cadena, que ocurre invariablemente debido a la reacción que ocurre bajo condiciones fuertemente alcalinas. El quitosano se seca (Figura 2) para obtenerlo en forma de hojuelas. Otro método para preparar quitosano con mayor pureza consiste en disolver los materiales en un ácido (por ejemplo, ácido acético) y filtrarlo para remover material extraño. Luego, el producto clarificado se liofiliza para generar una sal ácida de quitosano soluble en agua o se precipita con NaOH, se lava y se seca para generar un producto libre de aminas.

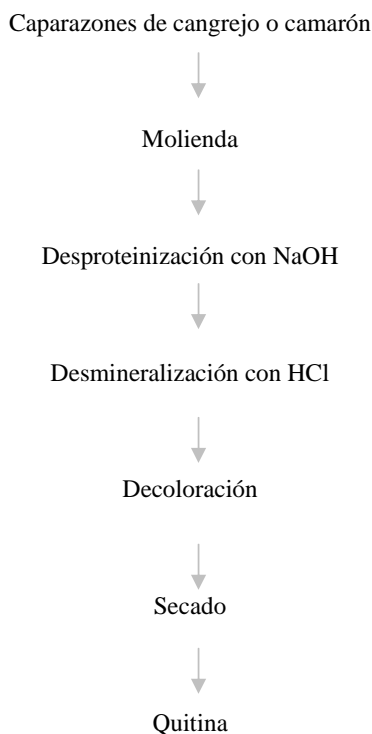


Figura 1. Proceso de manufactura de la quitina

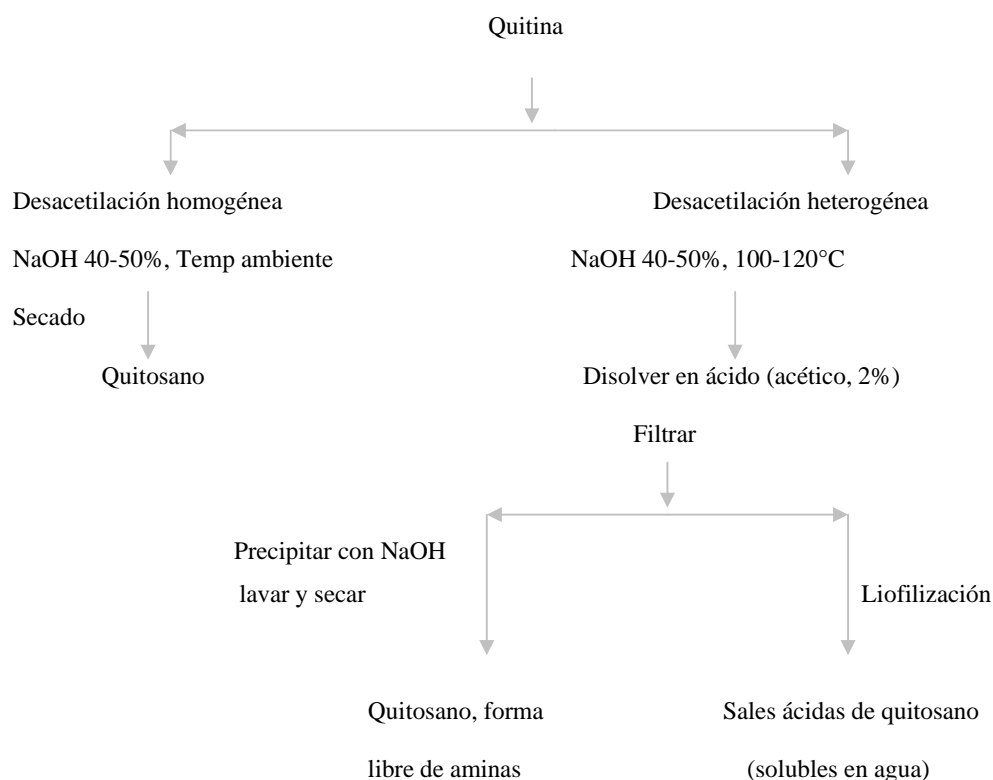


Figura 2. Proceso de manufactura del quitosano.

El quitosano es uno de los componentes principales de las paredes celulares de hongos, lo cual ha sido considerado como una fuente alternativa de quitosano. El quitosano es aislado del micelio de hongos por medio de una extracción repetida con ácido acético acuoso seguida de una precipitación con NaOH (Rudrapatnam y Farooqahmed, 2003).

3.4.3 Características y aplicaciones generales

Entre las características que tienen la quitina y el quitosano para ser empleados como materiales de uso industrial se encuentran las siguientes:

- Proviene de una fuente natural y son reproducibles biológicamente
- Son biodegradables y no contaminan el ambiente natural
- Son compatibles no solo en tejidos animales sino también en tejidos provenientes de plantas
- No son tóxicos

- Son biológicamente funcionales
- Puede cambiar su estructura molecular

Todo lo anterior hace posible que la quitina y al quitosano tengan aplicaciones muy versátiles. En la actualidad son aplicados en biología, química, farmacia, cosméticos, agricultura y alimentos, biotecnología, entre otras áreas.

3.4.4 Películas y recubrimientos comestibles

En los últimos años se ha investigado mucho sobre el uso de películas y recubrimientos comestibles para incrementar la vida de anaquel y mejorar la calidad de alimentos frescos, congelados y procesados. Debido a las propiedades que tienen la quitina y el quitosano para formar películas, han sido investigados y aplicados en alimentos. En varios países se ha aprobado el uso de películas comestibles a base de N, O-carboximetil quitina para conservar frutas por un período largo. Ya que el quitosano tiene la habilidad de formar películas semipermeables, tiene la capacidad de modificar la atmósfera interna, así como de disminuir la pérdida por transpiración y retardar el proceso de maduración en frutas.

En la bibliografía se encuentran reportes sobre el uso de películas hechas a base de quitosano junto con otros polisacáridos (Labuza y Breene, 1988; Chen *et al.*, 1996; El Ghaouth *et al.*, 1991). Las películas de quitosano son resistentes, flexibles y difíciles de romper. Muchas de sus propiedades mecánicas son comparables con las de muchas películas poliméricas comerciales. Las películas de quitosano tienen una permeabilidad moderada al vapor de agua y son una buena barrera al paso del O₂. Se han aplicado películas a base de quitosano para aumentar la vida de anaquel y mejorar el control del deterioro de frutas como: duraznos, peras japonesas, kiwi, fresas, chiles, jitomates, plátanos y mango. Estos beneficios son el resultados de disminuir la velocidad de respiración, retardar el proceso de maduración debido a la reducción de la evolución de etileno y bióxido de carbono y a la inhibición del desarrollo de hongos (Rudrapatnam y Farooqahmed, 2003).

Caner *et al.* (1998) estudiaron el efecto de las concentraciones de ácido, las concentraciones de plastificantes y los tiempos de almacenamiento en las propiedades mecánicas y de barrera de las películas de quitosano. Jiang y Li (2001) investigaron sobre el potencial de los recubrimiento de quitosano en el incremento de la vida post-

cosecha y en el mantenimiento de la calidad de la fruta longan durante su almacenamiento en refrigeración. Chen *et al.* (1996) reportaron que las películas de quitosano hechas en soluciones diluídas de ácido acético son capaces de inhibir el crecimiento de *Rhodotorula rubra* y *Penicillium notatum* al aplicar directamente la película sobre el organismo formador de colonia. El lactato de quitosano y el glutamato de quitosano han demostrado efectos antagonistas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Saccharomyces cerevisiae*.

Se han empleado películas de quitosano para mejorar la calidad y almacenamiento de fresa (El Ghaouth *et al.*, 1991; Garcia *et al.*, 1988; Zhang y Quantick, 1998). En esos reportes se argumenta que el quitosano, por ser un polisacárido catiónico de alto peso molecular que no imparte sabor, podría ser un recubrimiento ideal para frutas frescas por sus excelentes propiedades bioquímicas y formadoras de películas. También se han aplicado películas comestibles hechas a base de almidón y carragenina para retardar el proceso de senescencia en fresas y disminuir la pérdida de firmeza (Ribeiro *et al.*, 2007).

3.5 Mucílago de nopal

3.5.1 Nopal

Son numerosos los países en el mundo en los que se cultiva el nopal. El nopal es endémico de América y existen 258 especies reconocidas, 100 de las cuales se encuentran en México. Nuestro país cuenta con una superficie aproximada de 10,000 Ha de plantaciones especializadas en nopal verdura para consumo humano (Sáenz, 2006).

Los nopales pertenecen a la familia *Cactaceae* (Sáenz, 2006). Entre los distintos autores se presentan variaciones en la colocación taxonómica de los nopales, es por ello, que en este trabajo se utilizará la clasificación propuesta por GRIN (Genetic Resources Information Network. U. S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service), o sea la consideración de los nopales bajo el género *Opuntia*.

Las plantas del género *Opuntia* son nativas de varios ambientes, desde zonas áridas al nivel del mar hasta territorios de gran altura como los Andes del Perú; desde regiones tropicales de México donde las temperaturas están siempre por sobre los 5°C a áreas de Canadá que en el invierno llegan a -40°C (Nobel *et al.*, 1992).

Las características de las plantas que las hacen adaptables al medio árido tienen relación con la conformación de varios de sus órganos. Según Nobel *et al.* (1992), sus raíces superficiales y extendidas captan el agua de las escasas lluvias que caen en esos ambientes. Las lluvias aisladas, por otra parte, inducen la formación de raíces secundarias que aumentan la superficie de contacto con el suelo, lo cual facilita la absorción de agua y nutrientes. Cuando se inicia la sequía, las raíces comienzan a contraerse de manera radial contribuyendo a disminuir la pérdida de agua.

Los tallos son suculentos y articulados, botánicamente llamados cladodios y vulgarmente pencas. En ellos se realiza la fotosíntesis, ya que los tallos modificados reemplazan a las hojas en esta función; se encuentran protegidos por una cutícula gruesa, que en ocasiones está cubierta de cera o pelos que disminuyen la pérdida de agua. Estos tallos presentan, además, gran capacidad para almacenar agua, ya que poseen abundante parénquima; en este tejido se almacenan grandes cantidades de agua, lo que permite a las plantas soportar largos periodos de sequía. Cabe destacar el papel de los mucílagos -hidrocoloides presentes en este tejido- que tienen la capacidad de retener el agua (Nobel *et al.*, 1992). Los cladodios poseen además espinas. Presentan pocos estomas por unidad de superficie con la particularidad de permanecer cerrados durante el día y abiertos en la noche; esto evita la pérdida de agua por transpiración durante el día y permite durante las horas nocturnas la entrada de anhídrido carbónico (CO₂), materia prima indispensable para la fotosíntesis.

La taxonomía de los nopales es muy compleja. Sólo un intenso trabajo de campo puede permitir reconocer e identificar las especies, sus variedades y adaptaciones reflejadas en su fenotipo (Scheinvar, 1999).

Se conocen casi 300 especies del género *Opuntia*. Sin embargo, hay solo 10 o 12 especies hasta ahora utilizadas por el hombre, ya sea para producción de fruta y nopalitos (nopal verdura) para alimentación humana, forraje o cochinilla para obtención de colorante. Entre ellas se encuentran, como especies cultivadas para producción de fruta y nopalitos: *Opuntia ficus-indica*, *O. amyclaea*, *O. xocconostle*, *O. megacantha* y *O. streptacantha*. Como especies silvestres: *Opuntia hyptiacantha*, *O. leucotricha* y *O. robusta*. De las especies citadas, la más ampliamente cultivada en distintas partes del mundo es *Opuntia ficus indica* (Uzun, 1996).

Las características de estas especies son variables, diferenciándose en la forma de los cladodios, en la presencia o ausencia de espinas, en el tamaño y color de los frutos y en otras características botánicas.

Los brotes tiernos (nopalitos) de *Opuntia ficus-indica* se utilizan, principalmente en México, para la producción de nopal verdura.

Las variedades de las que se obtienen nopalitos en nopaleras naturales y en huertos familiares son numerosas, sin embargo, la variedad que principalmente se cultiva y comercializa en nuestro país es la “Milpa Alta”, nombre que se le da por el lugar en donde se cultiva (Milpa Alta, Estado de México). Sin embargo, en el Estado de Puebla existe otra variedad conocida como “Atlixco” o “Criollo”, que por sus características organolépticas se está produciendo y comercializando en mayor cantidad.

3.5.2 Composición química del nopal verdura

Saénz (2006) reporta un estudio efectuado en 20 variedades de nopal, analizando tallos (suberificados), cladodios maduros (penca anual) y cladodios jóvenes (brotes), en donde concluyen al igual que Pimienta (1990), que el contenido de proteínas es mayor en los brotes o renuevos; la fibra cruda aumenta con la edad del cladodio, llegando a 16.1 % en los tallos suberificados, pero siendo cercana a 8.0 %, en promedio, en los renuevos; este hecho también lo observó Tegegne (2002) en un ensayo efectuado en Etiopía. El contenido de cenizas no sigue la misma tendencia, ya que en este último trabajo, los renuevos presentan un contenido menor de cenizas que los tallos y pencas; dicha variación se debería a la serie de compuestos y elementos que conforman la ceniza y a la estrecha relación de estos con la química de suelos y a los complejos fenómenos de la disponibilidad de sus elementos para la planta (Saénz, 2006).

Por su parte, Rodríguez-Félix y Cantwell (1988), indican que la composición química de los nopalitos frescos es principalmente agua (91 %) y 1.5 % de proteínas; 0.2 % de lípidos; 4.5 % de hidratos de carbono totales; 1.3 % de cenizas, de la cual 90 % es calcio; además, contiene 11 mg de vitamina C /100 g y 30 µg de carotenoides/100g; el contenido de fibra (1.1 %) la hace comparable a la espinaca.

3.5.3 Mucílago: Generalidades

Los mucílagos o hidrocoloides son productos que están cobrando interés en la investigación médica y en el sector industrial, incluyendo el área de alimentos. Estos compuestos pueden ser extraídos de las pencas y de las cáscaras de los frutos de los nopales.

El mucílago de nopal contiene un polímero lineal cuyo peso molecular oscila alrededor de 13×10^6 g/mol y está compuesto por polisacáridos emparentados con las pectinas. Su composición glucosídica es aproximadamente de 47% de arabinosa, 23% de xylosa, 18% de galactosa, 7% de ramnosa y 5% de ácido galacturónico, respecto a su peso molecular (Sáenz, 2006).

Existe una propuesta sobre la estructura del mucílago que incluye dos distintas fracciones solubles en agua. Una es una pectina con propiedades gelificantes con Ca^{2+} y la otra es un mucílago sin propiedades gelificantes (Goycoolea y Cárdenas, 2004). Majdoub *et al.* (2001) reportaron que en *Opuntia ficus indica*, la fracción de polisacáridos soluble en agua con propiedades espesantes, representa menos del 10% del material soluble en agua.

La epidermis del nopal tiene dos capas, una de células verdes, llamada clorenquimia y otra capa interna que está formada por un cilindro de células blancas, conocida como parenquimia. Su función principal es el almacenamiento de agua (Pimienta, 1990; Granados y Castañeda, 1996). Dentro de los tejidos de la clorenquimia y de la parenquimia existen células mucilaginosas que almacenan el mucílago o material comúnmente conocido como “baba del nopal” (Pimienta, 1990; Nobel, 2002). Estas células en particular son más abundantes en la parenquimia. El mucílago es un compuesto muy complejo que tiene la capacidad de formar redes moleculares y retener fuertemente grandes cantidades de agua (Saag *et al.*, 1975, Sudzuki *et al.*, 1993).

Se ha demostrado que el mucílago está presente sólo en el Aparato de Golgi y la síntesis del mucílago se lleva a cabo probablemente en él (Sáenz y Montoya, 1999).

3.5 4 Procesos de extracción

Hasta ahora las metodologías para su extracción puestas a punto son complejas y costosas; sin embargo, recientemente se han realizado investigaciones para optimizar este proceso. Sepúlveda *et al.* (2007) estudiaron las proporciones nopal/agua, las condiciones de extracción (tiempo y temperatura) y precipitación del mucílago (tipo de alcohol y proporciones agua/alcohol), sin encontrar diferencias significativas entre los resultados de las diferentes combinaciones de condiciones. Sin embargo, recomiendan el uso de alcohol isopropílico en una proporción 1:3, ya que su valor comercial es más bajo que el del etanol. Otros métodos de extracción encontrados en la bibliografía presentan ventajas y desventajas, como el uso de solventes no inócuos como la acetona

empleada en las metodologías propuestas por Cai *et al.* (2008) y Medina-Torres *et al.* (2000).

3.5.5 Aplicaciones

Muchos de los polisacáridos de las cactáceas han sido usados empíricamente para modificar las propiedades reológicas de algunos productos (Cai *et al.*, 2008). En medicina tradicional se emplean extractos de plantas que contienen polisacáridos para tratar padecimientos de la piel e irritación de las membranas mucosas (Cai *et al.*, 2008), específicamente el extracto de nopal verdura es usado para tratar úlceras. En el área de alimentos se ha incrementado el interés por la alta concentración de mucílago encontrado en algunas especies de nopal, la conformación polimérica y las propiedades reológicas (viscosidad) de este compuesto, ya que sugieren un potencial considerable de estas cactáceas como fuente de materia prima en la elaboración de películas plásticas comestibles o en la obtención de aditivos mejoradores de la textura en los alimentos (Del-Valle *et al.*, 2005).

Recientemente se ha empezado a investigar el uso del mucílago de nopal en la elaboración de películas o recubrimientos comestibles que puedan ser aplicados a frutas y hortalizas. Del-Valle *et al.* (2005) desarrollaron un recubrimiento comestible hecho a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) y reportaron que su aplicación ayudó a extender la vida de anaquel en fresas (*Fragaria ananassa*). Arizmendi (2004) realizó un trabajo de investigación sobre la optimización del uso de dos plastificantes en la elaboración de una película plástica comestible obtenida a partir de mucílago de la especie *Opuntia tomentosa* y la caracterización de su comportamiento mecánico. Como resultado obtuvo que el glicerol es el compuesto que confiere mejores características a dichas películas.