



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS



CENTRO DE
INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS
UAEM

MAESTRÍA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
ORIENTACIÓN PROFESIONALIZANTE

ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN
RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A PARTIR DEL
HONGO *Humphreya coffeatum*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

M A E S T R O E N M A N E J O
D E
R E C U R S O S N A T U R A L E S

P R E S E N T A

BIOL. ALMA ROSA AGAPITO OCAMPO

DIRECTORA: DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ

CODIRECTOR: M. EN C. MA DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA

CUERNAVACA, MORELOS

NOVIEMBRE 2019

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de los estudios de maestría y financiamiento de este proyecto.

Al Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por permitirme realizar los estudios en la Maestría en Manejo de Recursos Naturales, así como al personal administrativo por su apoyo y amabilidad.

A mi asesora de tesis la Dra. Maura Téllez Téllez, por compartir sus conocimientos, tiempo, sabiduría y experiencias de vida, por creer en mí y darme la oportunidad para realizar este trabajo y enseñarme a actuar o solucionar situaciones que se presentan en la vida y brindarme su apoyo. La vida nos puede demostrar que las personas dedicadas a enseñar se pueden convertir en un gran ejemplo a seguir, quiero agradecer por cada detalle y momentos dedicados, por aclarar cualquier tipo de duda que me surgiera, gracias por enseñarme a seguir adelante, hacerme una persona más fuerte a base de coscorriones, por su paciencia durante la realización de mis estudios de maestría y ser parte fundamental en mi formación académica y así lograr la culminación exitosa de la presente obra, porque este triunfo también es suyo, sin usted esta tesis no se habría logrado.

A la Maestra Ma. de Lourdes Acosta Urdapilleta, agradezco por ser la pionera de mis conocimientos, por instruirme y brindarme sus mejores conocimientos útiles para toda la vida y fungir como mi codirectora en esta investigación y por compartir su conocimiento, su apoyo incondicional, su cariño e infinita paciencia y dedicación durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Gerardo Díaz Godínez, por compartir su sabiduría, consejos y por estar siempre involucrado de lleno en esta investigación con consejos amigables y profesionales, durante este proceso de tesis.

Al Dr. Edgar Martínez Fernández por su apoyo y disposición brindada para realizar esta investigación.

Al Dr. Edgar García Hernández por su apoyo, tiempo, dedicación y valiosos aportes para enriquecer esta investigación y permitirme trabajar en su institución el Instituto Tecnológico de Zacatepec, para la realización de este trabajo.

A la Dra. Liliana Aguilar Marcelino por las valiosas contribuciones y tiempo dedicado para corregir el manuscrito final.

Dedicatorias

A mis compañeros y amigos de laboratorio Benjamín, Reyes, Mariel, Clarita, Dianita, Lilia, Isabel y Angélica a ustedes que hicieron de mi vida un ligero baile de PANDI salvaje e impidieron que me pusiera en mi papel de víctima, los quiero mucho.

A mi mejor amiga Nancy que me divierte con sus ocurrencias y que pase lo que pase siempre está en las buenas y en las malas.

Abel eres muy importante para mí, muchas gracias por los momentos que hemos compartido, por el apoyo que me has dado para seguir mi camino y luchar por lo que quiero.

Este trabajo se lo dedico a la vida que me ha dado tanto, me dio un padre maravilloso que siempre ha estado en cada decisión que tomo, y gracias al alto cielo que siempre me recuerda que no estoy sola, que aunque a veces me siento pérdida, yo sé que está ahí esa estrella que me guía, mi mamá.

Gracias vida por darme fortaleza para transitar caminos, sé que la batalla a terminado y aunque cansada he quedado, debo ser paciente y agradecer a Dios los frutos que he logrado. Gracias por las alegrías y tristezas, que solo tenemos que asumir el reto que nos toca y ser feliz que la vida es una fiesta.

Esto apenas comienza:

“caminante, son tus huellas el camino y nada más; caminante no hay camino, se hace camino al andar. Al andar se hace camino y al volver la vista atrás se ve la senda que nunca se ha de volver a pisar”

CONTENIDO	ÍNDICE GENERAL	PÁG.
ÍNDICE DE CUADROS		i
ÍNDICE DE FIGURAS		ii
ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO		ii
RESUMEN		1
ABSTRACT		2
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN		3
CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES		5
2.1 CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS		6
2.1.1 CULTIVO Y CONSERVACIÓN DE FRESA		8
2.1.2 RECUBRIMIENTO COMESTIBLE		10
2.1.3 USO DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES		11
2.1.4 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES FORMADOS A BASE DE DIFERENTES MATERIALES		12
2.2 PRINCIPALES HONGOS PRODUCTORES DE METABOLITOS		18
2.2.1 <i>Humphreya coffeatum</i>		19
2.2.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE <i>Humphreya coffeatum</i>		24
CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN		26
CAPÍTULO 4. OBJETIVOS		27
4.1 OBJETIVO GENERAL		27
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS		27
4.3 HIPÓTESIS		27
CAPÍTULO 5. MATERIALES Y MÉTODOS		28
5.1 ORGANISMO DE ESTUDIO Y MEDIO DE CULTIVO		29
5.2 CONDICIONES DE CULTIVO Y CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA EN CULTIVO LÍQUIDO		29
5.3 OBTENCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL POLISACÁRIDO (PS) A PARTIR DE CULTIVO LÍQUIDO		29
5.4 ELABORACIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE		30
5.4.1 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN FORMADORA DEL RECUBRIMIENTO		30
5.4.2 ELABORACIÓN DE PELÍCULAS POR EL MÉTODO DE CASTING		30
5.4.3 EVALUACIÓN DEL ESPESOR DE LA PELÍCULA		30
5.4.4 EVALUACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE LA PELÍCULA		30
5.4.5 PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA (PVA)		31
5.4.6 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)		31
5.4.7 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)		31
5.5 APLICACIÓN Y CARACTERIZACION EN EL FRUTO		32
5.5.1 APLICACIÓN POR INMERSION DEL RC EN FRESAS		32
5.5.2 DETERMINACIÓN DEL PESO DE LAS FRESAS		33

5.5.3 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS	33
5.5.4 DETERMINACIÓN DEL VALOR DEL pH DEL JUGO DEL FRUTO	33
5.5.5 SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (SST)	33
5.5.6 PORCENTAJE DE INFECCIÓN	34
5.5.7 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE (AT)	34
5.5.8 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES	34
5.5.9 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH Y ABTS	34
5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	36
CAPÍTULO 6. RESULTADOS	36
6.1 CONTENIDO DE PS	36
6.2 CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA EN CULTIVO LÍQUIDO DE M2	37
6.2.1 DETERMINACIÓN DE pH DEL MEDIO DE CULTIVO M2	38
6.2.2 DETERMINACIÓN DE PS POR PESO SECO M2	38
6.3 ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL RC	40
6.3.1 ESPESOR DE LA PELÍCULA	41
6.3.2 SOLUBILIDAD DE LAS PELÍCULAS	42
6.3.3 PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA	42
6.3.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) DE LOS POLISACÁRIDOS G Y F DE LAS PELÍCULAS	43
6.3.5 ANÁLISIS DE ESTRUCTURA DE LAS PELÍCULAS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)	45
6.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS FRESAS	46
6.4.1 DETERMINACIÓN DEL PESO	46
6.4.2 DETERMINACIÓN DE pH	48
6.4.3 SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (SST)	49
6.4.4 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE INFECCIÓN	50
6.4.5 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE (ATT)	51
6.4.6 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES	52
6.4.7 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO ABTS Y DPPH	54
CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN	57
CAPÍTULO 8. CONCLUSIÓN	64
CAPÍTULO 9. PERSPECTIVAS	65
CAPÍTULO 10. LITERATURA CITADA	66

CONTENIDO	ÍNDICE DE CUADROS	PÁG.
1. Países con mayor producción de fresa a nivel mundial		9
2. Clasificación de <i>Humphreya coffeatum</i>		24
3. Formulación de películas comestibles		40

CONTENIDO	ÍNDICE DE FIGURAS	PÁG.
1. Aplicación de recubrimientos comestibles en frutas		13
2. <i>Humphreya coffeatum</i> (HEMIM-140) cultivada		23
3. <i>Humphreya coffeatum</i>		25
4. Diagrama general del proyecto de investigación		28
5. Fresas cultivadas en el poblado de Oacalco en Yautepec, Morelos		32
6. Selección de fresas de mejor calidad		33
7. Aplicación de RC en fresa		33
8. Contenido de PS de <i>H. coffeatum</i> de M1 y M2		36
9. Contenido de PS por peso seco de M1 y M2.		37
10. Cinética de crecimiento de <i>H. coffeatum</i> en medio líquido		37
11. Perfil de pH del cultivo líquido de <i>Humphreya coffeatum</i>		38
12. Obtención de los PS's de <i>H. coffeatum</i> por cultivo líquido		39
13. Contenido de PS (F) de <i>Humphreya coffeatum</i>		39
14. Contenido de PS (G) de <i>Humphreya coffeatum</i>		40
15. Películas comestibles		41
16. Espesor de las películas.		41
17. Porcentaje de solubilidad al agua de las películas		42
18. PVC de películas		43
19. Espectro de FTIR de los polisacáridos		44
20. Espectro FTIR de las películas formadas		44
21. Microscopía electrónica de barrido de películas 57P, 57F, 57G y 57GF		45
22. Pérdida de peso de fresas a temperatura ambiente		47
23. Pérdida de peso de fresas a 4°C		47
24. pH de fresas a temperatura ambiente		48
25. pH de fresas a 4 °C		48
26. Contenido de azúcar a t/amb		49
27. Contenido de azúcar a 4° C		49
28. Porcentaje de infección de fresas almacenadas durante 20 días a temperatura ambiente		50
29. Porcentaje de infección de fresas almacenadas durante 30 días en refrigeración		51
30. Acidez titulable de fresas almacenadas durante 20 días a temperatura ambiente		52
31. Acidez titulable de fresas almacenadas durante 30 días a 4 °C		52
32. Compuestos fenólicos totales en t/amb.		53
33. Compuestos fenólicos totales en 4 °C		54
34. Capacidad antioxidante del radical ABTS en t/amb		55
35. Capacidad antioxidante del radical ABTS en 4°C		55
36. Capacidad antioxidante del radical DPPH en t/amb		56
37. Capacidad antioxidante del radical DPPH en 4°C		56

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO

PALABRA	ABREVIATURA
Recubrimiento comestible	RC
Polisacárido	PS
Polisacárido fibroso	F
Polisacárido gelatinoso	G
Permeabilidad al vapor de agua	PVA
Sólidos solubles totales	SST
Acidez titulable	AT
Papa dextrosa agar	PDA
Absorbancia	Abs
Análisis de la varianza	ANOVA
Relación carbono nitrógeno	C/N
Mililitros	mL
Gramo	g
Horas	h
Litro	L
Milimolar	mM
rpm	Revoluciones por minuto
min	minuto

RESUMEN

Debido a las altas pérdidas en productos hortofrutícolas por plagas y manejo postcosecha inadecuado, se ha buscado el desarrollo y la elaboración de recubrimientos comestibles (RC) biodegradables como una forma de protección. Los recubrimientos están elaborados con materiales como polisacáridos, proteínas o lípidos que en su mayoría son obtenidos de productos vegetales, los cuales pueden presentar diferentes características como actividad antimicrobiana, antioxidantes, brindar protección física, química y mecánica, mejorando con esto las características del producto. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de recubrimientos comestibles (RC) de polisacáridos (PS) obtenidos del hongo *Humphreya coffeatum*; los PS presentaron apariencias de tipo fibroso (F) y gelatina (G), se utilizaron para realizar cuatro RC (57F, 57G, 57GF y 57P) con glicerol (0.5%) y pectina (0.7%) y se caracterizaron. Los RC que tuvieron mejores características en cuanto a solubilidad, microscopia electrónica de barrido (SEM), permeabilidad al vapor de agua (PVA) y espesor fueron 57F y 57GF. Se probó el efecto en fresas frescas, se les aplicó el RC por inmersión, se colocaron en cuatro lotes: A) almacenamiento a temperatura ambiente sin RC, B) almacenamiento en refrigeración 4°C sin RC, C) almacenamiento a temperatura ambiente con RC y D) almacenamiento en refrigeración 4°C con RC. Las fresas fueron colocadas en contenedores cerrados que permitieran la oxigenación, se evaluaron cada cinco días. Dentro de los parámetros evaluados están pH, porcentaje de infección y sólidos solubles totales (SST). Los RC con los PS de *Humphreya coffeatum* F, G y la combinación de ambos (GF) prolongó la vida postcosecha de las fresas en refrigeración hasta 30 días, el RC 57F seguido del RC 57GF. El control 57P al igual que las fresas no cubiertas tuvieron 10 días de vida de anaquel; los recubrimientos con PS presentaron la mayor ventaja en comparación con el control. Estos resultados indican que los RC de PS de *Humphreya coffeatum* pueden prolongar la vida de anaquel de fresas.

ABSTRACT

Due to losses in fruit and vegetable products due to pests and risky post-harvest management, the development and development of biodegradable edible coatings (RC) have been sought as a form of protection. The coatings are made with materials such as polysaccharides, proteins or lipids that are mostly accessories of plant products, which can have different characteristics such as antimicrobial activity, antioxidants, provide physical, chemical and mechanical protection, improving with these characteristics of the product. The objective of this work was to evaluate the effect of edible coatings (RC) of polysaccharides (PS) evaluated from the *Humphreya coffeatum* fungus; The PS appear appearances of the Fibrous (F) and Gelatin (G) type, are used to perform four RC (57F, 57G, 57GF and 57P) with glycerol (0.5%) and pectin (0.7%) and are characterized. The RCs that had better characteristics in terms of solubility, scanning electron microscopy (SEM), water vapor permeability (PVA) and thickness were 57F and 57GF. The effect on fresh strawberries was tested, the RC was applied by immersion, it will be placed in four batches: A) storage at room temperature without RC, B) storage in refrigeration 4 ° C without RC, C) storage at room temperature with RC and D) storage in refrigeration 4°C with RC. Strawberries were placed in closed containers that allow oxygenation, they are evaluated every five days. Within the parameters evaluated are pH,% infection and total soluble solids (SST). The RCs with the PS of *Humphreya coffeatum* F, G and the combination of both (GF) prolong the life of strawberries in refrigerated strawberries up to 30 days, RC 57F followed by RC 57GF. The 57P control, like uncovered strawberries, had a shelf life of 10 days; PS coatings. The biggest advantage compared to the control. These results indicate that the RC of PS of *Humphreya coffeatum* can prolong the shelf life of strawberries.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Las frutas frescas y las hortalizas han tenido un aumento en la demanda durante la última década debido a que se ha correlacionado su ingesta regular con un menor riesgo de desarrollar varias enfermedades crónicas y degenerativas. Debido al aumento de obesidad y sus factores de riesgo, la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Fondo Mundial para la Investigación del Cáncer (WFCR) y el Instituto Americano de Investigación del Cáncer (AICR) entre otros han señalado que existe evidencia de que se debe consumir al menos cinco porciones de frutas y verduras todos los días, disminuyendo el riesgo de diversas enfermedades (Mardones *et al.*, 2009), por esta razón es necesario un consumo adecuado de frutas que traen beneficios a la salud por la presencia de antioxidantes que disminuyen el estrés oxidativo previniendo o retardando algunas enfermedades (Saxena *et al.*, 2012). Las frutas y hortalizas presentan deterioro a causa de cambios, reacciones o descomposición que pueden dar lugar a la degradación del color, la textura y el sabor (Dudley y Das, 2009). Las reacciones de pardeamiento enzimático son una de las principales causas del deterioro en estos productos naturales y determinan en gran medida su calidad y valor económico (Wootton-Beard y Ryan, 2010). Se ha estimado que las pérdidas postcosecha de los productos hortofrutícolas que se producen en el mundo sobrepasan el 20% por el deterioro microbiológico y fisiológico, como consecuencia de factores de orden tecnológico como inadecuado proceso de recolección, empaques no apropiados e insuficientes vías para la transportación, entre otros, lo que se traduce en un corto período de almacenamiento (Almeida *et al.*, 2011). Los factores más importantes en la composición química que afectan la manera en que se conserva un alimento son el contenido de agua. La actividad del agua se refiere al estado de energía del agua en el alimento, lo que determina si se producirán reacciones químicas y/o crecerán microorganismos (Quintero *et al.*, 2010).

Con la finalidad de prolongar la vida postcosecha de los productos hortofrutícolas se han implementado diferentes tecnologías tales como: almacenamiento a bajas temperaturas, aplicación de radiaciones gama-

ultravioleta, la conservación por atmósfera controlada, la utilización de empaques plásticos, el uso de películas y la aplicación de recubrimientos comestibles (RC), entre otras (Aguilar *et al.*, 2011). Un RC se puede definir como una matriz transparente continua, comestible y delgada, que se estructura alrededor de un alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento con el fin de preservar su calidad y servir de empaque. Los RC han tenido gran importancia en la vida de anaquel de los alimentos, permiten el control respiratorio, retrasan el envejecimiento y se controla la transferencia de agua y gases como el oxígeno, dióxido de carbono, la tasa de crecimiento microbiano, pueden regular distintas condiciones de interfase o superficiales del alimento, a través del agregado de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos y nutrientes (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2003).

Los RC pueden ser elaborados a partir de una gran variedad de polisacáridos, proteínas y lípidos, solos o en combinaciones que logren aprovechar las ventajas de cada grupo, dichas formulaciones pueden incluir, conjuntamente plastificantes y emulsificantes que se utilizan por su diversa naturaleza química con la finalidad de ayudar a mejorar las propiedades tales como: comestibilidad, dureza, transparencia, barreras contra el oxígeno y vapor de agua (Ribeiro *et al.*, 2007). Los polisacáridos y las proteínas son polímeros que forman redes moleculares cohesionadas por una alta interacción entre sus moléculas, por lo que le confiere a los RC buenas propiedades mecánicas y de barrera a gases (O_2 y CO_2), retardando la respiración y envejecimiento de muchas frutas y hortalizas (Eric, 2009).

Los polisacáridos son los hidrocoloides más utilizados en la industria alimenticia, los más utilizados en la formación de RC son: las pectinas de alto y bajo metoxilo, la celulosa y sus derivados, el alginato, el quitosano, la dextrina, el carragenato, y las goma arábica, entre otros (Krochta y Mulder-Johnston, 1997). El desarrollo de RC a base de polisacáridos ha conllevado un incremento significativo en la industria de alimentos debido a las diferentes aplicaciones que estos confieren y la magnitud de productos que pueden ser tratados. Por otro lado

presentan una interesante alternativa debido a su fácil procesamiento, bajo costo, abundancia y fácil manipulación. Los lípidos se caracterizan por ser hidrofóbicos y no poliméricos, presentando excelentes propiedades de barrera frente a la humedad, se han utilizado las ceras (abejas, candelilla y carnauba), resinas, monoglicéridos, diglicéridos y los ácidos grasos tales como el ácido esteárico, palmítico, láurico y oleico, entre otros (Kester y Fennema, 1986).

Otros componentes de gran importancia en la elaboración de RC son los plastificantes y emulsificantes. En el caso particular de los plastificantes (moléculas pequeñas de bajo peso molecular), se adicionan con el objetivo de mejorar la flexibilidad y funcionabilidad de los recubrimientos, haciéndolos menos frágiles. Dentro de los agentes plastificantes utilizados se encuentran: el glicerol, ácidos grasos, sorbitol, aceites, ceras y otros, mientras que los emulsificantes favorecen la dispersión del lípido en la matriz hidrocoloide y reducen la actividad de agua superficial (Bustos, 1998).

Sin embargo, actualmente no se han utilizado hongos como fuente de obtención de moléculas para elaboración de RC, ya que son una potencial alternativa debido a que producen polisacáridos, proteínas y lípidos con actividades biológicas importantes y posiblemente con características adecuadas para la formulación de RC, esperando además que tuvieran actividades adicionales como inhibición del crecimiento de ciertos microorganismos.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

Como consecuencia de la modificación de los patrones alimentarios y del modo de vida (disminución de la actividad física), el sobrepeso y la obesidad han sido en aumento conjuntamente con las enfermedades crónicas asociadas a éstos: diabetes y enfermedades cardiovasculares (Rivera *et al.*, 2012), por eso se busca la forma de incrementar el consumo de vegetales y frutas mínimamente procesadas, que son componentes esenciales de una dieta saludable y un consumo diario suficiente podría contribuir a la prevención de enfermedades

cardiovasculares, obesidad, diabetes mellitus y algunos tipos de cáncer (Mardones *et al.*, 2009).

Se sabe que entre un tercio y la mitad de los agentes implicados en las muertes por cáncer y enfermedades cardiovasculares son factores dietéticos, se calcula que cada año podrían salvarse 1.7 millones de vidas si se aumentará el consumo de frutas y verduras (Saxena *et al.*, 2012). La importancia que conlleva la conservación de las frutas y verduras para la alimentación han originado varios métodos de conservación. Los diferentes tipos de alimentos se conservan y procesan en diferentes formas para extender el período de tiempo en que son transportados, exhibidos en un negocio, comprados por el consumidor y finalmente consumidos. La composición química y física de los alimentos ayuda a determinar el tipo de proceso requerido para su conservación (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2003). Los métodos de conservación de frutas se basan en factores que afectan el crecimiento de microorganismos y los cambios químicos causados por las enzimas.

2.1 CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

La alimentación siempre ha sido una necesidad fundamental del hombre, por ello la importancia de la conservación de alimentos y esta se clasifica en diferentes métodos que existen y que son necesarios para la conservación de los mismos (Desrosier, 1981). La sociedad a lo largo de la historia fue aprendiendo de manera empírica formas y métodos tradicionales para conservar los alimentos, entre los más comunes se encuentran: el salado, el curado, el ahumado, el escabeche, el refrigerado y el calor (Trejo, 2010). Estos métodos eran precarios, pero se fueron perfeccionando debido a las necesidades del trayecto del campo hacia las grandes ciudades. Esto desde luego, provocó una alta demanda de productos animales y vegetales (Bello, 2011). Al existir mayor demanda de productos, la prioridad fue inventar un sistema que incluyera la recepción, el manejo y la venta de productos a gran escala.

Aplicar métodos de conservación a los alimentos, ayuda a que aumente su vida útil conservando la mayoría de sus nutrientes, los cuidados después de aplicar un método de conservación, son fundamentales para que los alimentos lleguen en buenas condiciones y cuando se ha aplicado el método más idóneo de acuerdo a las características de un alimento, se garantiza que se mantenga en condiciones inocuas para el consumidor, es primordial prepararlo para su almacenamiento, distribución y venta, aumentando su vida de anaquel, ya sea por un plazo corto o largo, hasta que llegue al consumidor final (Bósquez, 2003). Los métodos de conservación se basan en el control de temperatura, humedad, acidez o presencia de oxígeno, sin embargo el consumidor busca alimentos que conserven sus características nutricionales y sensoriales (Barbosa-Canovas *et al.*, 2003). La industria alimentaria intenta ofrecer al consumidor una amplia variedad de alimentos sanos y de calidad en cualquier época del año, además de facilitar la comercialización de productos alimenticios entre diferentes países, sin importar su ubicación, se ha innovado en diversas tecnologías para la conservación de alimentos como la pasteurización, esterilización, cocción, fritura, refrigeración, congelación, liofilización, entre otras.

Las frutas y hortalizas frescas son una fuente de alimento de gran importancia, sin embargo la alteración microbiana provoca grandes pérdidas durante el crecimiento o almacenamiento refrigerado. La descomposición de las frutas se atribuye normalmente a levaduras o mohos: como el moho gris (*Botrytis cinerea*), mohos negros y azules (de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*) y *Rhizopus*, dentro de las bacterias están algunas del género *Erwinia* y *Pseudomonas*.

Se ha reportado que los microorganismos producen enzimas pectinolíticas y celulolíticas que destruyen el tejido vegetal, por ello el ablandamiento de estos productos (Bosquez y Colina, 1999). Generalmente, estos microorganismos se esparcen por las moscas que atacan más fácilmente a este grupo de alimentos si reciben daños mecánicos. La industria de los alimentos clasifica a los productos frescos como aquellos que tienen más riesgos de descomponerse, aunque también cuentan con mayores valores nutricionales (Esquivel *et al.*, 2005). La

conservación de alimentos, en particular de frutas y hortalizas, permite disponer de ellos fuera de su temporada, distribuirlos a diferentes mercados, tanto nacionales como extranjeros. Dentro de los frutos más susceptibles al ataque de microorganismos después de la cosecha y durante su almacenamiento son la fresa, papaya, guayaba, uva, zarzamora, frambuesa etc. Este grupo de frutos son muy perecederos y se caracterizan por tener una vida muy corta después de la cosecha en condiciones óptimas de manejo (Alzamora *et al.*, 2004).

2.1.1 CULTIVO Y CONSERVACIÓN DE FRESA

La fresa es una fruta no climatérica, altamente apreciada por los consumidores debido a sus excelentes propiedades organolépticas. Las fresas deben cosecharse cuando el 75 por ciento de su superficie se ha puesto rojo y el fruto está todavía firme. La fresa es muy perecedera y se deteriora dentro de los 2 o 3 días de la cosecha en condiciones ambientales naturales. La temperatura es un factor muy importante en la duración de la fresas. A medida que la temperatura sube, estas se ablandan muy rápido y es infectada por hongos. Para que duren más tiempo, las fresas deben ser cosechadas cuando sale el sol, transportadas al lugar de procesamiento lo más rápido posible, y mantenidas a la sombra en un lugar fresco hasta su procesamiento (Alzamora *et al.*, 2004).

La conservación de la fresa constituye un problema para los productores y la industria. La fresa es infectada por *Botrytis cinerea* en el campo, permaneciendo en estado latente hasta alcanzar las condiciones atmosféricas adecuadas para generar esporas. Estas esporas se diseminan en los periodos de lluvia, depositándose en distintas partes de la planta. Inicialmente se ponen de manifiesto a nivel de la flor, localizándose en la base del receptáculo, pero con la maduración del fruto se vuelven visibles coincidiendo con el periodo de postcosecha. Finalmente, cuando las condiciones son las adecuadas, crece rápidamente destruyendo totalmente a la fresa (Beltrán *et al.*, 2010). No obstante, aún se está trabajando en estrategias que permitan la detección oportuna de sustancias tóxicas producidas por hongos fitopatógenos que atacan a frutas y

hortalizas, lo cual representa un posible riesgo para la salud del consumidor (Lagunes y Trigos, 2006).

La fresa es una de las frutas de color rojo con mayor aceptación mundial y una fuente rica en vitamina C, minerales, flavonoides y carotenoides. Estudios recientes han evidenciado que el consumo de frutos de color rojo reducen el riesgo a padecer enfermedades degenerativas (Restrepo *et al.*, 2010).

Los principales productores de fresa son China, Estados Unidos de América y México (Tabla 1).

Tabla 1. Países con mayor producción de fresa a nivel mundial 2017

País	Producción (ton)	Porcentaje
China, Continental	3,717,283	40.3
Estados Unidos de América	1,449,280	15.7
México	658,436	7.1
España	360,416	3.9

(FAOSTAT, 2017)

En México el cultivo de fresa es considerado como una de las actividades más importantes dentro de la producción agrícola debido a la gran demanda que genera, por esta razón México es el tercer proveedor de fresa fresca en el mercado internacional, con el 7.1% del valor de las exportaciones mundiales (FAOSTAT, 2017). Aunque es un fruto muy apreciado tiene la desventaja de ser muy perecedero, debido a su elevada respiración y la carencia de barrera exterior que limita la retención de agua (Min *et al.*, 2005). Otras características que limitan la conservación de la fresa es su poca resistencia a los daños mecánicos y al ataque microbiológico (Fraire-Cordero *et al.*, 2003).

La rápida perecebilidad de la fresa hace necesario el desarrollo de nuevas tecnologías para reducir el deterioro microbiológico y la pérdida de atributos de la calidad. Esto ha estimulado la búsqueda de nuevos sistemas naturales de conservación, basados en RC (González-Aguilar *et al.*, 2009). Lípidos, resinas,

polisacáridos y proteínas son los materiales comúnmente utilizados en la producción de dichos RC. Dependiendo de las características deseadas, los RC se pueden hacer usando un tipo de material o una mezcla de ellos, teniendo en cuenta sus ventajas y desventajas.

Uno de los métodos de conservación es el desarrollo de RC para incrementar la conservación de alimentos esto se debe fundamentalmente a las exigencias, cada vez mayores, de reducir el impacto en la contaminación ambiental que se ha producido con el incremento de desechos generados por el uso de envases y plásticos de origen sintético o no biodegradable para el empaqueo y distribución de alimentos (Bósquez, 2003). Una de las alternativas más viable para solucionar esta problemática, la constituye el desarrollo de materiales biodegradables con propiedades funcionales como empaques que ofrezcan costos competitivos a los materiales de empaque plásticos actuales (Bósquez, 2003).

2.1.2 RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

Los RC en la mayoría de los casos se les llama aditivos ya que no proveen un valor nutricional significativo al alimento, por otro lado, si de alguna forma incrementan el valor nutricional del alimento pueden ser calificados como ingredientes. Los RC no deben presentar sabor o de lo contrario debe ser compatible con el alimento al cual se está recubriendo (Debeaufort y Quezada-Gallo, 1998). Debido a que los RC son tanto componentes del alimento como empaques del mismo deben reunir los siguientes requisitos (Krochta et al., 1994).

- Alta eficiencia mecánica y de barrera.
- Estabilidad bioquímica, fisicoquímica y microbiana.
- Deben estar libres de tóxicos.
- Seguros para la salud.
- De tecnología simple.
- No deben de tener contaminantes.
- De bajo costo tanto de materiales como en los procesos.
- Pueden ser ingeridas por el consumidor.

- Su uso reduce los desechos y la contaminación ambiental.
- Preservan las propiedades organolépticas, mecánicas y nutricionales de los alimentos, incluso pueden mejorar las propiedades
- Proporcionan protección individual a pequeñas porciones de alimento.
- Pueden ser usadas en alimentos heterogéneos como barrera entre los componentes.

Las cubiertas o recubrimientos involucran la formación de una estructura del polímero, directamente en la superficie del objeto que se pretende proteger o mejorar de alguna manera, los recubrimientos llegan a ser parte del producto y permanecen en el mismo durante su uso y consumo (Krochta y De Mulder-Johnson, 1997; Trejo, 2010). Los RC pueden incrementar el período de vida útil y mejorar el aspecto del producto, el cual resulta con más brillo y por ello más atractivo para algunos consumidores, también tienen sus limitantes pues entre las principales desventajas que se han reportado de las formulaciones actuales, se encuentra el hecho de que pueden generar el desarrollo de sabores y olores desagradables como resultado de la inducción de anaerobiosis, o que la cubierta se vuelve quebradiza proporcionando un aspecto desagradable a la superficie del producto (Nussinovitch y Lurie, 1995).

También existen los revestimientos denominados recubrimientos funcionales, que han innovado a partir de tres diferentes polisacáridos. Entre los nuevos materiales, se encuentran: el galactomanano, heteropolisacárido obtenido de la leguminosa *Gleditsia triacanthos*; el quitosano, polisacárido natural biodegradable, biocompatible, no tóxico y un excelente formador de películas y agar de *Gracilaria birdiae* proveniente de una alga roja rica en polisacáridos (Soto, 2009).

2.1.3 USO DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

Aunque pareciera que el uso de los recubrimientos comestibles en alimentos es nuevo, desde hace mucho tiempo se ha aplicado. Durante los siglos XII y XIII por ejemplo, la cera fue aplicada a los cítricos para retrasar su deshidratación (Debeaufort *et al.*, 1998). En el siglo XVI, en Inglaterra, se utilizó un recubrimiento

de manteca para cubrir cortes de carne con el fin de prevenir el encogimiento y así prevenir la pérdida de humedad de los alimentos. De mediados de los 50's a mediados de los 80's se realizó bastante trabajo orientado al uso de películas y recubrimientos para extender la vida de anaquel y mejorar la calidad de alimentos frescos, congelados y procesados, el cual se ha reportado tanto en la literatura científica como de patente, las ceras fueron las primeras cubiertas comestibles empleadas en frutas y en el año de 1930 se disponía comercialmente de ceras de parafina derretidas en caliente para su aplicación como recubrimiento de manzanas y peras (Bósquez, 2003).

A partir de los años 70's, los polímeros petroquímicos, han sido el material más extensamente usado debido a su alto rendimiento y su bajo precio. Sin embargo, los problemas ambientales asociados al uso de materiales no biodegradables han impulsado a los científicos a buscar nuevos materiales alternativos biodegradables (Peterson y Stading, 2005). La grasa de cerdo o cera fue usada para cubrir la fruta y otros productos alimenticios en Inglaterra (Miller y Krochta, 1997). En el siglo XIX, las películas de gelatina fueron usadas para cubrir carnes y la sacarosa fue escogida como un RC protector, sobre almendras y avellanas, para prevenir la oxidación y la rancidez (Debeaufort *et al.*, 1998). Recubrimientos de cera sobre frutas y verduras, recubrimientos de zeína sobre caramelos y de azúcar sobre almendras son los ejemplos comerciales más comunes de RC. Moléculas derivadas de celulosa (carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y metilcelulosa) han sido usados como ingredientes en RC para frutas, verduras, carnes, almendras, productos de confitería, panadería, granos y otros productos agrícolas (Han *et al.*, 2005).

2.1.4 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES FORMADOS A BASE DE DIFERENTES MATERIALES

Actualmente los recubrimientos comestibles tienen una amplia variedad de aplicaciones: cubiertas de chocolate para nueces y frutas, cubiertas de cera para frutas y hortalizas, fundas para salchichas, entre otros. Los retos técnicos

involucrados en producir alimentos y conservarlos con calidad estable, indican que el uso de este tipo de recubrimientos y películas será mayor de lo que actualmente es (Bósquez, 2003).

El desarrollo de recubrimientos comestibles aplicados a productos hortofrutícolas (Figura 1) tanto frescos como mínimamente procesados ha generado recientes avances sobre la vida de anaquel de dichos alimentos (Quintero *et al.*, 2010). Sin embargo, a pesar de que la información técnica disponible para la elaboración de recubrimientos es amplia, no es universal para todos los productos, lo que implica un reto para el desarrollo de recubrimientos específicos para cada alimento (Bósquez, 2000).



Figura 1. Aplicación de recubrimientos comestibles en frutas

En el caso particular de frutas y hortalizas para consumo en fresco, los recubrimientos comestibles proporcionan una cubierta protectora adicional cuyo impacto tecnológico es equivalente al de una atmósfera modificada, por lo tanto representan una alternativa a este tipo de almacenamiento ya que es posible reducir la cinética de los cambios de calidad y pérdidas en cantidad a través de la modificación y control de la atmósfera interna en estos productos vegetales (Park, 1995). Se han utilizado principalmente moléculas de origen vegetal, como es el caso del almidón, ya que es económico, fácilmente disponible y relativamente fácil de manipular, la amilosa es el compuesto responsable de la formación de

recubrimientos en el almidón y su uso para tal fin se ha extendido en los últimos años, los recubrimientos elaborados con este material presentan baja permeabilidad al oxígeno (Rojas-Graü *et al.*, 2009).

Los RC están formados por mezclas de polisacáridos bajo condiciones donde los componentes individuales por sí solos no forman gel, pero las mezclas sí lo hacen. Los mecanismos para gelificación son aún controvertidos pero hay evidencia considerable en todos los casos de que algún tipo de enlace intermolecular entre el polisacárido y el plastificante que contribuye a la formación de una red permanente. Un plastificante es una sustancia estable, no volátil con alto punto de ebullición, la cual contribuye al cambio de propiedades físicas y mecánicas de un material al ser adicionada a éste (McHugh y Krochta, 1994a). La adición de un plastificante permite la obtención de una película más flexible, dócil y resistente (Guilbert y Biquet, 1986).

Uno de los plastificantes más utilizados en la elaboración de recubrimientos y películas comestibles es el glicerol adicionado generalmente a bajas concentraciones (Arvanitoyannis *et al.*, 1998) generalmente se requieren plastificantes como el glicerol en las formulaciones a base de polisacáridos y de proteínas, para aumentar la flexibilidad de los recubrimientos. Los plastificantes afectan la capacidad de atracción de agua del sistema y generalmente suelen aumentar la permeabilidad al oxígeno de los recubrimientos comestibles (Rojas-Grau, 2006).

Rodríguez-Marín *et al.* (2013) elaboraron un RC utilizando harina de arroz y plátano mediante el método de vaciado en placa, usando un diseño central compuesto rotacional para optimizar sus propiedades mecánicas y de barrera. Se evaluaron diferentes concentraciones de glicerol y de nanopartículas (montmorillonita de sodio). Mediante el análisis de superficie de respuesta se encontró que cuando se tiene una combinación de altas concentraciones de nanopartículas con bajas concentraciones de glicerol, se mejoran las propiedades, obteniéndose RC con mejores propiedades de barrera. Estas características son importantes para empaque de alimentos, ya que de esta manera pueden

conservar su integridad. El almidón es considerado un polímero con alto potencial para aplicaciones en plásticos biodegradables, debido a su disponibilidad en la naturaleza y bajo costo. Sin embargo, el almidón de plátano no reúne todas las propiedades necesarias. Además, para mejorar las propiedades de los RC de almidón, se han realizado diversos estudios en los cuales, se ha evaluado la adición de otros biopolímeros como polisacáridos no amiláceos (pectinas, gomas, quitosano), proteínas y lípidos (Mali *et al.*, 2005). La mezcla de estos biopolímeros, que produce diferentes interacciones químicas y físicas, propiedades mecánicas y de barrera de los RC elaborados. El usar una mezcla natural de polisacáridos, proteínas y lípidos, obtenida de fuentes agrícolas, como las harinas, tiene la ventaja de contener estos componentes en su medio ambiente original, sin necesidad de aislarlos y después mezclarlos, lo cual podría proporcionar un nuevo material para la RC, así como para empaque de alimentos (Mali *et al.*, 2004).

Solís (2016) evaluó las propiedades de barrera y la funcionalidad de recubrimientos a base de un biopolímero de interés hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), derivado de la celulosa que genera RC transparentes y con buena resistencia mecánica. Se elaboraron y caracterizaron recubrimientos comestibles a base de HPMC y se diseñaron formulaciones de soluciones filmogénicas a base de distintas concentraciones de HPMC, usando glicerol como plastificante y contrastando las mismas formulaciones sin la adición de glicerol. Se caracterizaron las películas en su solubilidad y propiedades de barrera: permeabilidad al oxígeno (PO_2) (método ASTM S-1434) y permeabilidad al vapor de agua (PVA) (Método ASTM E-96-00). Los RC resultantes fueron transparentes, la adición de glicerol en la formulación mejoró la integridad y manejo de la película, pero incrementó la permeabilidad al vapor de agua. Se han utilizado en general polisacáridos derivados principalmente de plantas, sin embargo es sabido que los hongos presentan diferentes moléculas de interés que podrían darle características especiales a este tipo de productos.

Bátori *et al.* (2017) elaboraron un RC a base de pectina-celulosa, un nuevo enfoque para el reciclaje de residuos de cítricos los cuales contienen varios

polímeros, los residuos de naranja se han investigado para la producción de recubrimientos comestibles, utilizando la capacidad gelificante de la pectina y la resistencia de las fibras celulósicas. Se utilizó un método de colada para formar un RC a partir de los residuos de naranjas previamente lavados, secos y molidos. Se compararon dos métodos de secado de RC, un horno de laboratorio y un agitador de incubadora. Las imágenes SEM confirmaron una morfología del RC más liso cuando el agitador de la incubadora se usó para secar.

Durango *et al.* (2006) desarrollaron recubrimientos a base de almidón de ñame (*Dioscorea* sp.) y quitosano (CH), preparados por termo-gelatinización usando suspensiones de 4% de almidón de ñame (w/w) y 2% de glicerol (w/w). El quitosano fue agregado en concentraciones de 0.5% y 1.5% (w/w). La máxima actividad antimicrobiana se obtuvo en el RC que contenía 1.5% (w/w) de quitosano. A esta concentración el conteo de este grupo de microorganismos se redujo en 2.5 ciclos logarítmicos en los trozos de zanahoria que se almacenaron durante 15 días. El recubrimiento con una concentración de 0.5% (w/w) de quitosano controló el desarrollo de mohos y levaduras durante los primeros cinco días de almacenamiento. Después de este tiempo las muestras evaluadas generaron un conteo similar al de la muestra control. Como resultado general, el uso de recubrimientos antimicrobianos basados en quitosano (1.5% w/w) y almidón de ñame mostró que es una alternativa viable en el control de microbiota presente en zanahorias mínimamente procesadas, ya que se logró inhibir sustancialmente el crecimiento de bacterias ácido lácticas, coliformes totales, microorganismos psicró-trofos, aerobios mesófilos, mohos y levaduras.

Rojas-Graü *et al.* (2007) aplicaron un RC a partir de alginato y goma gellan adicionadas con N-acetilcisteína y glutatión como agentes antipardeamiento, a trozos de manzana de la variedad Fuji. Con el objetivo de mejorar sus propiedades de barrera, fue agregado en la formulación de los RC aceite de girasol enriquecido con ácidos grasos esenciales ($\Omega 3$ y $\Omega 6$), lo que constituye uno de los aspectos innovadores como alternativa para la encapsulación de compuestos lipídicos nutracéuticos. Por otro lado, la adición de aceite vegetal incrementó la resistencia

al transporte de vapor de agua desde 15.7 y 14.60 s/cm hasta 19.2 y 27.6 s/cm para alginato de sodio y goma gellan respectivamente, permitiendo disminuir la pérdida de peso, turgencia de los tejidos e incrementar el efecto nutracéutico de los frutos mínimamente procesados.

Carneiro-da-Cunha *et al.* (2009) hicieron un RC a partir de la goma exudada (goma policaaju) del árbol de marañón (*Anacardium occidentale*) se han hecho RC a base de goma policaaju. Éstas fueron evaluadas por su opacidad, fuerza tensión, porcentaje de elongación a la rotura y permeabilidad al vapor de agua. Además, propiedades tales como humectabilidad y tensión superficial fueron cuantificadas mediante su uso como recubrimiento en manzanas Golden.

Souza *et al.* (2010) elaboraron un RC a base de goma policaaju, fueron probados en mango fresco (*Mangifera indica* var. *Tommy Atkins*), con el objetivo de determinar su efecto en la vida de anaquel de dicho producto fresco en refrigeración, como resultado se pudo determinar que actúa como una barrera frente al transporte de masa al reducir la pérdida de peso.

Ribeiro *et al.* (2007) estudiaron la capacidad de recubrimientos a base de polisacáridos (almidón, carragenina y quitosano) para extender la vida de anaquel de frutos de fresa (*Fragaria ananasa*) y su posible aplicación industrial. La mejor humectabilidad se logró con combinaciones de 2% de almidón y 2% de sorbitol; 0.3% de carragenina, 0.75% de glicerol y 0.02% de tween 80; 1% de quitosano y 0.1% de tween 80 respectivamente. La permeabilidad al oxígeno en películas de carragenina representó aproximadamente el 40.0% del valor obtenido con recubrimientos comestibles de almidón. La adición de calcio a la solución formadora del RC a base de almidón produjo un incremento en el espesor del RC, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en la permeabilidad al oxígeno entre las que poseían CaCl_2 en su formulación y las que se preformaron sin la adición de dicha sustancia. El efecto de los recubrimientos sobre las frutas fue caracterizado a través de la determinación de cambios de color, firmeza, pérdida de peso, sólidos solubles y crecimiento microbiano durante seis días. Al final no se encontraron diferencias significativas en el color, la mínima pérdida de

firmeza fue obtenida en frutos recubiertos con carragenina adicionada con cloruro de calcio. La pérdida mínima de biomasa se obtuvo con recubrimientos comestibles basados en carragenina y quitosano adicionados con cloruro de calcio. La menor tasa de crecimiento microbiano se observó en fresas recubiertas con quitosano y cloruro de calcio. Por último la aplicación a nivel industrial de RC de carragenina enriquecidos con cloruro de calcio, produjo una disminución en la pérdida de firmeza en el fruto en contraste con las frutas que no fueron adicionadas con el RC.

2.2 PRINCIPALES HONGOS PRODUCTORES DE METABOLITOS

Los hongos constituyen un conjunto de organismos unicelulares y pluricelulares. Están formados por células eucariotas con una pared rígida, y se caracterizan por presentar nutrición heterótrofa por absorción, reproducción asexual y sexual (Herrera y Ulloa, 1990). Anteriormente se sugirió que el número total de especies de hongos no sobrepasaba los 100.000, sin embargo, en la actualidad este dato se ha estimado en 1.5 millones de especies. Es por ello que estos organismos se han convertido en el segundo grupo más numeroso de especies después de los insectos (Feofilova, 2001). La mayoría de los hongos poseen un papel importante en la naturaleza, en la que se hallan ampliamente distribuidos, degradando y reciclando la materia orgánica muerta. Desde tiempos remotos, los hongos han sido considerados como medicamentos eficaces para el tratamiento de diversas enfermedades humanas (Herrera y Ulloa, 1990). Las propiedades medicinales se deben a diferentes componentes celulares y metabolitos secundarios que han sido aislados e identificados a partir del cuerpo fructífero, cultivo sólido o cultivo líquido, los cuales han mostrado efecto antitumoral, antiviral, antibacteriano y antiparasitario (Tang *et al.*, 2007). Estas bondades han intensificado en los últimos tiempos el uso de estos organismos en la formulación de alimentos funcionales con base en micelio (biomasa) o extractos mezclados de diversos hongos (Hincapie *et al.*, 2005). En las últimas décadas la producción mundial de hongos ha crecido vertiginosamente. Según datos de la Organización de las Naciones

Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), en el año 2000 alcanzó los 2.6 millones de toneladas, y para el año 2007 ésta llegó a 3.4 millones de toneladas, presentando así un incremento del 30.8%. Como principal productor se encuentra China con el 52.5%, seguido de Estados Unidos con el 8.0%, Japón 7.9%, Francia 5.9% y Holanda 3.9%. A nivel de América Latina, México ocupa el primer lugar de producción con el 52%. Del total de especies de hongos menos de un 10% son conocidos. Muy pocos han sido estudiados desde el punto de vista comercial, y menos de 25 especies son aceptados como alimento. Esto es lamentable, dado que estos macromicetos constituyen una amplia y poco explotada fuente de nuevos productos naturales (Tang *et al.*, 2007; Porras *et al.*, 2009).

2.2.1 *Humphreya coffeatum*

Los basidiomicetos constituyen una clase de hongos representada por más de 30,000 especies (Brizuela *et al.*, 1998). La característica común a estos organismos es la presencia de basidios, células especializadas que tras la cariogamia y la meiosis producen en promedio cuatro basidiósporas en su parte exterior (Santafé y Zuluaga, 2007). Los basidiomicetos como hongos se han caracterizado por ser productores de una amplia gama de metabolitos biológicamente activos, que abarca desde componentes estructurales con actividad antitumoral e inmunológicamente activos, hasta agentes antimicrobianos, antifúngicos, antivirales, citostáticos, enzimas, reguladores de crecimiento y aromas (Brizuela *et al.*, 1998). Reportes recientes sugieren que compuestos derivados de basidiomicetos como *Sarcodon scabrosus*, *Coprinus comatus*, *Agaricus campestris*, *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes* y *Tricholoma matsutake* poseen actividades antiproliferativas y citotóxicas en células cancerígenas humanas (Porras *et al.*, 2009). Dentro de la clasificación de los basidiomicetos pertenecientes a la familia Ganodermataceae, género *Ganoderma*, han sido en las últimas décadas uno de los grupos más estudiados principalmente en países asiáticos, debido a su amplio intervalo de productos de interés farmacológico (Hincapie *et al.*, 2005).

El hongo *Humphreya coffeatum* es un basidiomiceto y es perteneciente a la familia de *G. lucidum*, los hongos del género *Ganoderma* han sido muy utilizados en la medicina tradicional China, y en los últimos años se han estudiado sus efectos farmacológicos en pacientes con hepatitis, hiperglicemia, bronquitis crónica, cáncer, distrofia crónica, arterosclerosis, hipertensión, hipercolesterolemia y leucemia obteniéndose resultados promisorios (Santafé y Zuluaga, 2007). Los compuestos químicos con mayores propiedades bioactivas son los triterpenoides y polisacáridos. Los polisacáridos existen extensamente en los hongos y son además los mayores componentes de las paredes celulares; sin embargo, los triterpenoides son especialmente encontrados en el género *Ganoderma* y los que han sido aislados corresponden principalmente a ácidos ganodéricos, ácidos lucidénicos y ganodéroles (Berovič *et al.*, 2003). Los polisacáridos pueden ser de diferente composición química. La mayoría pertenecen al grupo de los β -glucanos, los cuales poseen enlaces β -(1,3) en la cadena principal y puntos de ramificación β -(1,6) que son necesarios para su acción antitumoral (Tang *et al.*, 2007). El nivel de su actividad está íntimamente relacionado con su peso molecular, las ramificaciones y el grado de solubilidad en agua. Entre más alto sea el peso molecular, menor la cantidad de ramificaciones y mayor la solubilidad en agua, mejor será su actividad (Santafé y Zuluaga, 2007). La calidad y el contenido de sustancias fisiológicamente activas varía de cepa a cepa, y depende también de la ubicación, condiciones de cultivo y del crecimiento del hongo (Berovič *et al.*, 2003).

Dentro del género *Ganoderma* la especie *Ganoderma lucidum*, conocido también como Reishi o Ling-Zhi, ha sido uno de los organismos más utilizados en Asia para estudios preclínicos donde sus fracciones de polisacáridos han demostrado potentes efectos (Rusell y Paterson, 2006). El hongo *G. lucidum* crece libremente en bosques de casi todas las latitudes cálidas del planeta, tanto asiáticas como americanas y amazónicas, más en los climas subtropicales que en los templados (Santafé y Zuluaga, 2007). Sin embargo, la cantidad de setas existentes en la naturaleza no son suficientes para la explotación comercial. Por ello, su cultivo en sustratos sólidos, medio líquido estacionario o cultivo sumergido

(éste último con mayor auge en los últimos tiempos), se ha convertido esencial para satisfacer la creciente demanda en los mercados internacionales (Berovič *et al.*, 2003). Actualmente, son diversos los productos con *G. lucidum* o compuestos extraídos a partir de él que pueden encontrarse en el mercado, algunos son: gotas, café, pastillas en cápsulas de gelatina y gel, tónicos, productos cosméticos, crema para las manos y crema dental (Hincapie *et al.*, 2005). Son múltiples las investigaciones que se han realizado sobre *G. lucidum* para la producción de biomasa y polisacáridos intra y extracelulares. Gran parte de estos estudios se han enfocado en conocer la influencia de las condiciones de operación del cultivo para maximizar sus valores. Algunas de las variables estudiadas incluyen composición del medio de cultivo, densidad del inóculo, pH, temperatura, agitación y suministro de oxígeno (Huang *et al.*, 2009).

El trabajo realizado por Fang y Zhong (2002) sobre el efecto de la concentración inicial de la fuente de carbono y nitrógeno para la producción de metabolitos a partir de *G. lucidum*, mostró que la glucosa a una concentración de 50 g/L favoreció el crecimiento celular y la formación de polisacáridos intracelulares con valores de 16.7 g/L y 1.19 g/L, respectivamente. Así mismo, el estudio permitió concluir que la combinación de las fuentes complejas de nitrógeno peptona y extracto de levadura resulta óptima para la formación de biomasa y metabolitos. Babitskaya *et al.* (2005) reportaron que *G. lucidum* fue capaz de crecer dentro de un amplio intervalo de pH (3.0 - 7.5), siendo óptimo un pH inicial comprendido entre 6.0 y 7.0. Sin embargo, la producción de exopolisacáridos se vio estimulada a pH más bajos (4.0 y 6.0). En cuanto a la temperatura, los autores hallaron que valores entre 25 – 30 °C resultaron óptimos tanto para el crecimiento como para la producción de exopolisacáridos (Babitskaya *et al.*, 2005).

Otra de las condiciones que influye en el cultivo de microorganismos es la velocidad de agitación, la cual debe mantener un equilibrio entre la transferencia de oxígeno y el esfuerzo cortante, factores que aumentan con el incremento de este parámetro (Wagner *et al.*, 2003). Yang y Liau (1998) estudiaron que a un intervalo de agitación de 50 a 200 rpm a nivel de matraces con una cepa de *G.*

lucidum, la densidad más alta de biomasa se obtuvo a 100 rpm, mientras que la producción más alta de Exopolisacaridos (EPS) se logró a una velocidad de 150 rpm, sugiriendo que el aumento de la agitación estimula la síntesis de estos metabolitos. El impacto del coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (KLa) en un cultivo de *G. lucidum* fue estudiado por Tang y Zhong (2002). En su trabajo reportaron que el nivel inicial del KLa tiene un efecto significativo en el crecimiento celular durante el cultivo. La producción y productividad de polisacáridos extracelulares e intracelulares fue relativamente baja para valores de KLa de 60 h^{-1} , mientras que a valores relativamente altos de KLa (78.2 y 96 h^{-1}) su producción se vio favorecida. En cuanto a la evaluación del oxígeno disuelto (OD), *G. lucidum* creció rápidamente a valores relativamente altos (alrededor del 25% 25 de saturación del aire) mientras que a valores de 10 % de saturación presentó limitaciones en su crecimiento. Así mismo, la producción de metabolitos fue superior para valores del 25% de saturación. Otro de los enfoques que se le ha dado a los estudios con *G. lucidum* es el efecto de la adición de estimulantes para la producción de biomasa y polisacáridos.

Yang *et al.* (2000) reportaron que algunos ácidos grasos promueven la biosíntesis de metabolitos, encontrando que el ácido palmítico mejoró la producción de polisacáridos y el ácido oleico el crecimiento celular. Huang *et al.* (2009) estudiaron la adición de aceite de maíz al medio de cultivo. En el trabajo encontraron que al utilizar una cantidad inicial de 2% de aceite, la biomasa alcanzó un máximo de 12.9 g/L y los polisacáridos 1.038 g/L, comparado a 4.3 g/L y 0.4 g/L que se habían obtenido sin adición para la biomasa y polisacáridos, respectivamente.

El *Humphreya coffeatum* podría tener un fuerte potencial para el desarrollo de bioproductos, estudios realizados por Porras *et al.* (2009) acerca de este hongo, han sido una base primordial para el posterior seguimiento de nuevas investigaciones y el aprovechamiento del mismo siguiendo el modelo biológico usado en *G. lucidum* para la búsqueda de metabolitos de interés en cultivo sumergido. En el trabajo realizado por Porras *et al.* (2009), se logró la adaptación

de la cepa de *Humphreya coffeatum* al laboratorio a partir del cuerpo fructífero, y se determinaron las condiciones de cultivo necesarias para la producción de biomasa, obtención y cuantificación de polisacáridos bajo diferentes variables. Los valores que favorecieron una mayor expresión de biomasa y polisacáridos fueron lactosa 50 g/L, como fuente de nitrógeno: peptona 5 g/L extracto de levadura 10 g/L, y pH inicial de 4.5, con valores máximos de 15.5 g/L y 6.9 g/L para biomasa y exopolisacáridos (EPS), respectivamente utilizaron una cepa aislada de la ciudad de Tierra Alta, en el norte de Colombia (Córdoba, Colombia).

En el Estado de Morelos, en el municipio de Tlaquiltenango, se aisló la cepa de *Humphreya coffeatum* (HEMIM-140), la cual está depositada en el herbario micológico de Morelos (Figura 2).



Figura 2. *Humphreya coffeatum* (HEMIM-140) cultivada.

El género *Humphreya* a lo largo del tiempo, se le han atribuido diferentes sinónimos. El más actualizado es *Humphreya coffeata* (Berk.) Steyaert [as '*coffeatum*'], Persoonia (1972). Algunos de los sinónimos que ha tenido son:

- *Ganoderma coffeatum* (Berk.) J.S. Furtado. (1967)
- *Ganoderma flaviporum* (Murrill) Sacc. y Trotter. (1912)
- *Amauroderma flaviporum* Murrill, N. Amer. Fl. (1908)
- *Amauroderma coffeatum* (Berk.) Murrill, Bull. (1905)
- *Scindalma coffeatum* (Berk.) Kuntze, Revis. (1898)
- *Scindalma hemibaphum* (Berk.) Kuntze, Revis. (1898)
- *Fomes coffeatus* (Berk.) Sacc., Syll. fung. (1888)
- *Fomes hemibaphus* (Berk.) Cooke, Grevillea. (1885)
- *Fomes augustus* (Berk.) Cooke, Grevillea. (1885)
- *Polyporus augustus* Berk., Hooker's J. Bot. (1856)
- *Polyporus hemibaphus* Berk., Hooker's J. (1856)
- *Polyporus coffeatus* Berk., Ann. (1839)

En la Tabla 2 se presenta la clasificación taxonómica del hongo *Humphreya coffeatum* (Indexfungorum, 2019).

Tabla 2. Clasificación taxonómica

Reino	Fungí
Filo	Basidiomycota
Clase	Agaricomycetes
Orden	Polyporales
Familia	Ganodermataceae
Género	<i>Humphreya</i>
Especie	<i>coffeatum</i>

2.2.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE *Humphreya coffeatum*

Píleo 1.5-10.5 cm de diámetro, plano convexo a depresso; superficie rugosa, finalmente velutinosa a lisa, con zonaciones concéntricas pardo amarillento, pardo negruzco y pardo anaranjado (Figura 3) (Mata *et al.*, 2003).

Contexto: 0.2-0.5 cm de grosor, blanco amarillento a pardo claro.

Olor a papa y sabor amargo.

Himenoforo: tubos 0.1-0.5 cm de largo blanco grisáceo a beige pardusco; poros 4-5 por mm, blancos amarillo verdoso.

Estípite: 2.5- 15.5 cm de largo, 0.5-2 cm de ancho, uniforme, central, algunas veces lateral; superficie finalmente velutinosa a lisa, pardo anaranjado a pardo oscuro.

Habito: solitario a gregario

Hábitat: sobre raíces y madera enterrada o en el suelo

Estacionalidad: de julio a noviembre

Distribución: América central, América del sur e islas del caribe.

Observaciones: esta especie se caracteriza por las zonaciones de la superficie del píleo, de tonos pardo claro y pardo oscuro a pardo anaranjado, además por el blanco amarillento de los poros.



Figura 3. *Humphreya coffeatum*

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

La búsqueda de técnicas y procesos que permitan incrementar la vida útil de frutos frescos es un reto, por lo que las investigaciones al respecto se continúan haciendo, cuidando que la calidad nutricional y organoléptica de estos productos se mantengan. Dentro de estas tecnologías se encuentra el uso de recubrimientos comestibles (RC) para proteger productos hortofrutícolas. Los RC ayudan a disminuir el desperdicio de alimentos perecederos provocados por el inadecuado manejo post-cosecha ocasionado por daños físicos, microbiológicos y de almacenamiento logrando conservar a los frutos por más tiempo. Los RC de origen natural son susceptibles a la degradación y no generan residuos que se acumulan en el ambiente; estos RC se elaboran principalmente con polisacáridos de almidón (de fuentes como el maíz, papa, yuca), quitosano (proveniente del exoesqueleto de crustáceos), etc., sin embargo, la investigación de nuevas fuentes de polisacáridos se realiza continuamente, por lo que en este trabajo se elaboró por primera vez un RC a partir de polisacáridos obtenidos del hongo *Humphreya coffeatum*, mostrando propiedades y características que permiten incrementar la vida útil de fresas y con potencial uso en diferentes productos hortofrutícolas frescos.

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Elaborar y caracterizar un RC a partir PS producidos por *H. coffeatum* crecido en cultivo líquido y evaluar su eficiencia en fresas frescas.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Cuantificar los PS extracelulares producidos por *H. coffeatum* crecido en cultivo líquido.
- Elaborar y caracterizar un RC con los PS.
- Realizar pruebas de calidad a fresas frescas cubiertas con el RC y almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración.

4.3 HIPÓTESIS

Los PS producidos por *H. coffeatum* mediante cultivo líquido permitirán elaborar un RC que permita incrementar la vida útil de fresas frescas.

CAPÍTULO 5. MATERIALES Y MÉTODOS

En la Figura 4 se muestra el diagrama general del proyecto de investigación

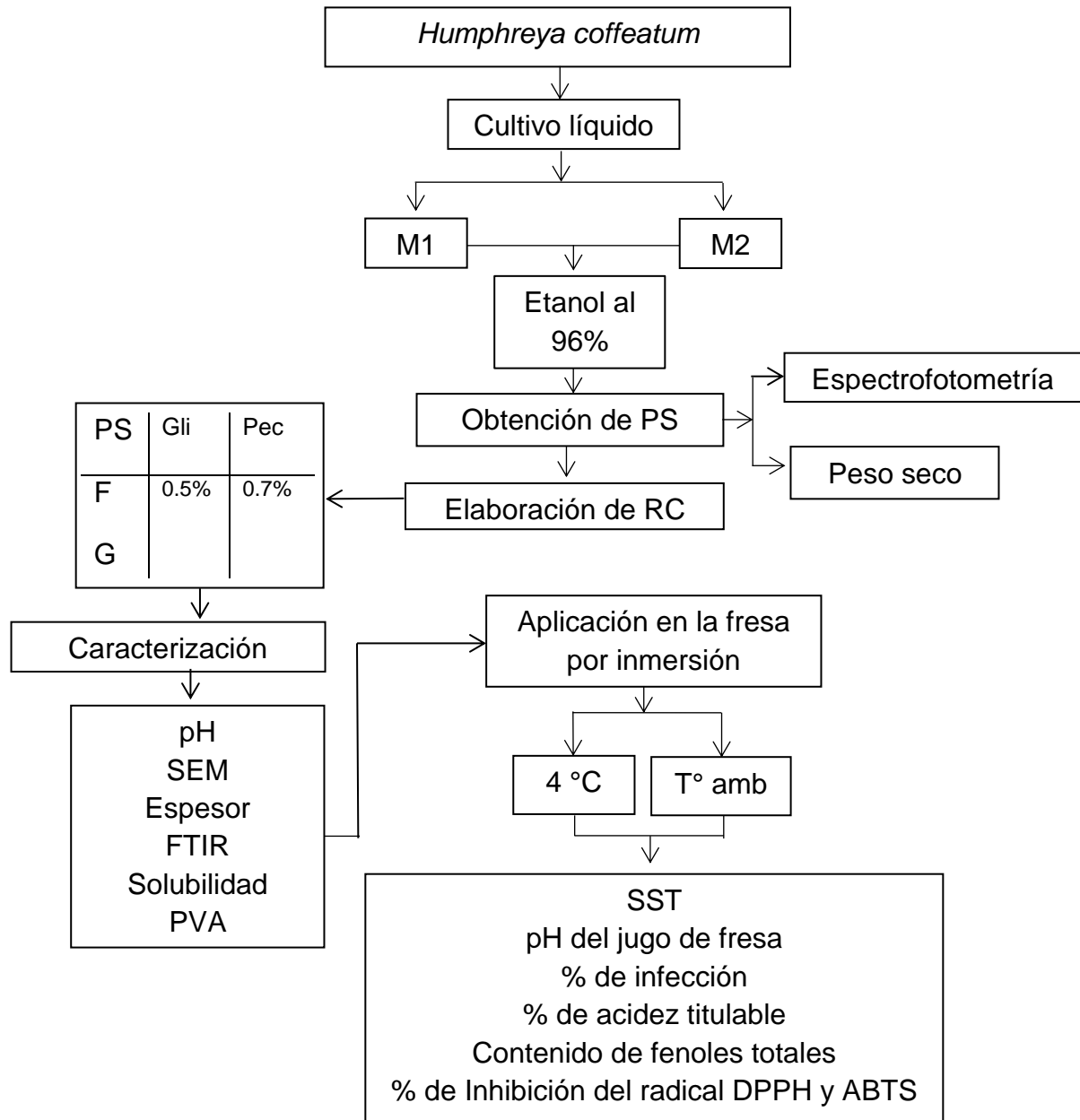


Figura 4. Diagrama general del proyecto de investigación

5.1 ORGANISMO DE ESTUDIO Y MEDIO DE CULTIVO

Se utilizó la cepa de *Humphreya coffeatum* (Berk.) Steyaert del Herbario Micológico de Morelos (HEMIM-140), que pertenece al cepario del Laboratorio de Micología, del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM).

La composición del medio de cultivo (M1) que se utilizó contiene (g/L): 0.5 de $MgSO_4$; 1 de $KH_2PO_4 \cdot H_2O$; 5 de peptona; 50 de lactosa y 10 extracto de levadura (Porrás-Arboleda *et al.*, 2009) y el M2 contiene los mismos, solo se modificó la cantidad de extracto de levadura 15 (g/L).

5.2 CONDICIONES DE CULTIVO Y CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA EN CULTIVO LÍQUIDO

El cultivo líquido se realizó en matraces Erlenmeyer de 125 mL con 50 mL de medio con un pH inicial de 5.0. Cada matraz se inoculó con tres fragmentos de 4 mm de diámetro de micelio de *Humphreya coffeatum* crecido en agar dextrosa papa (PDA). Se incubaron a 30°C con agitación orbital a 130 rpm. Se tomaron muestras cada 24 h hasta alcanzar la fase estacionaria de crecimiento del hongo. La biomasa (X) producida se separó por filtración y se secó en horno a 60°C durante 24 h y se reportó el peso seco y al extracto obtenido se le determinó el pH. El experimento se realizó por triplicado.

5.3 OBTENCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL POLISACÁRIDO A PARTIR DE CULTIVO LÍQUIDO

La obtención del PS, se realizó mediante el método descrito por Wan *et al.* (2016). Se separó la biomasa del caldo de cultivo por medio de filtración, se le agregó 50 mL de etanol al 96% y se mantuvo a 4 °C por 48 h, se colocó en tubos falcon previamente pesados y por centrifugación se separó a 7800 rpm por 20 min. Se cuantificó el PS por dos métodos: 1) Cuantificando azúcares totales mediante el método de fenol-ácido sulfúrico a una absorbancia de 490 nm (Masuko *et al.*, 2005) y 2) Por peso seco del polisacárido (PS), se separó el caldo de cultivo del

PS y colocó en tubos falcón previamente tarados, posteriormente se determinó la cantidad de PS por diferencia de peso.

5.4 ELABORACIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

5.4.1 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN FORMADORA DEL RECUBRIMIENTO

Los PS se sonicaron durante 60 min y se agitaron durante 20 min, hasta obtener una mezcla homogénea. Posteriormente se realizaron diferentes combinaciones variando el contenido de glicerol, pectina y PS. Para realizar la caracterización física de los RC se realizaron películas de cada una de las combinaciones.

5.4.2 ELABORACIÓN DE PELÍCULAS POR EL MÉTODO DE CASTING

Las soluciones se vertieron en cajas Petri de 60 x 15 mm se metieron en un horno de convección forzada a 60°C durante 24 h. Cada formulación se hizo por triplicado una vez formadas las películas se almacenaron a temperatura ambiente para su posterior caracterización.

5.4.3 EVALUACIÓN DEL ESPESOR DE LAS PELÍCULAS

El espesor se midió instrumentalmente con la ayuda de un Micrómetro Digimatic IP65 digital Mitutoyo, modelo MDC-1 "MJ", con un error permisible de ± 0.00005 y se tomaron seis medidas en diferentes puntos del diámetro de la película para verificar que el espesor promedio no superara 1mm de espesor, marcado en la norma ASTM D 882-02.

5.4.4 EVALUACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE LAS PELÍCULAS

Para determinar la solubilidad de las películas se realizó el procedimiento marcado en la norma ASTM D 570-98. Se cortaron muestras del RC de 2x2 cm, se pesaron (peso seco inicial; PSI) y se colocaron en 30 mL de agua durante 24 h, posteriormente se retiró el agua y los RC se colocaron en una estufa a 100°C por 24 h. Finalmente, se pesaron los segmentos de película para determinar el peso

de la película no solubilizada (PSNS). El porcentaje de material soluble se calculó con la relación del PSI, PSNS y el peso de la muestra.

5.4.5 PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA (PVA)

Las pruebas de permeabilidad se realizaron de acuerdo a la norma Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials (ASTM E96-00). Se cortó una sección circular de 8 mm de diámetro del cada uno de los RC, y se midió el espesor con ayuda del micrómetro digital Digimatic IP65 MINTUYO, posteriormente las muestras se colocaron en un vial de 2 mL de capacidad, conteniendo 1 mL de solución sobresaturada de nitrato de potasio (KNO_3) para generar una humedad relativa constante. Los viales serán colocados en un desecador contenía sílica de gel con indicador de humedad como agente desecante. La variación en el peso se registró cada h en una balanza analítica durante 8 h.

5.4.6 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Las pruebas de las películas por espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier fueron realizadas en un espectrofotómetro de FTIR marca PerKinElmer Sspectrum Two con Software Spectrum®, las muestras se analizaron en el modo de transmitancia en el intervalo de 650 a 4000 cm^{-1} .

5.4.7 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Se observó la morfología de las películas en el Microscopio electrónico de barrido marca JEOL Modelo JSM-6010^a, utilizando 3 KV y magnificaciones de 100x, 300x, 500x, 1000x y las muestras fueron fotografiadas.

5.5 APLICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL FRUTO

5.5.1 APLICACIÓN POR INMERSIÓN DEL RC EN FRESAS

La fresa es una succulenta fruta de temporada color rojizo brillante, con un aroma y sabor exquisito, para el experimento se utilizó fresa que se cultiva en la zona oriente del Estado de Morelos, en el poblado de Oacalco en Yautepec; en este lugar se pueden observar grandes hectáreas en las que se siembra este fruto (Figura 5). Las fresas utilizadas fueron recién cosechadas y se seleccionaron considerando que fueran las de mejor tamaño, color y ausencia de daños visibles (Figura 6). Las fresas seleccionadas se lavaron y posteriormente se sumergieron por tres min en agua. Se formaron cinco lotes, se pesaron para llevar a cabo la aplicación de los recubrimientos, las fresas se sumergieron (1 min) en cada uno de los RC y se dejó secar el fruto, fueron envasadas en charolas y se dividieron en los siguientes tratamientos A) almacenamiento a temperatura ambiente sin RC, B) almacenamiento en refrigeración 4°C, sin RC, C) almacenamiento a temperatura ambiente con RC y D) almacenamiento en refrigeración 4°C con RC; cada unidad experimental contenía ocho fresas, con tres repeticiones por tratamiento (Figura 7). Se analizó su vida de anaquel durante 30 días y cada cinco días se analizaron algunos parámetros físicos del fruto (pH, color, textura etc.).



Figura 5. Fresas cultivadas en el poblado de Oacalco en Yautepec, Morelos.



Figura 6. Selección de fresas de mejor calidad

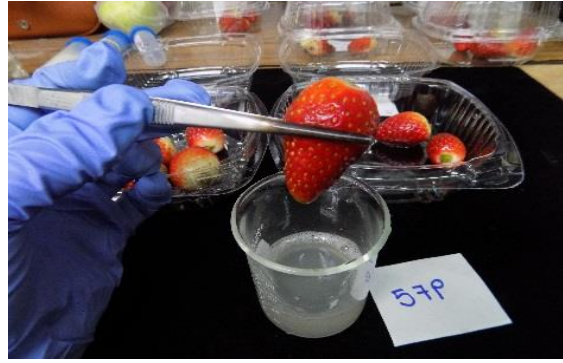


Figura 7. Aplicación de RC en fresa

5.5.2 DETERMINACIÓN DEL PESO DE LAS FRESAS

La tasa de pérdida de peso de las fresas se determinó mediante el uso de una balanza digital; realizando registros cada cinco días. Los frutos se mantuvieron en condiciones de refrigeración y temperatura ambiente. Se evaluó por diferencia entre el peso de las fresas en el día cero y de cada uno de los días de evaluación. Los resultados se expresaron en porcentaje.

5.5.3 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

Para la realización de los posteriores ensayos, cada cinco días de muestreo, se obtuvieron fresas de cada uno de los lotes experimentales de refrigeración y temperatura ambiente, las fresas se pesaron y se les agregó agua para macerarlas en proporción (1:1), posteriormente se filtró y se guardó en tubos Eppendorf para su posterior análisis.

5.5.4 DETERMINACIÓN DEL VALOR DEL pH DEL JUGO DEL FRUTO

Se realizó utilizando un potenciómetro.

5.5.5 SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (SST)

Se determinaron con un refractómetro de mano y se expresaron como °Brix, calibrado con una gota de agua destilada.

5.5.6 PORCENTAJE DE INFECCIÓN

El porcentaje de infección se determinó mediante la siguiente fórmula: % de infección = Número de frutos infectados x 100/Número de frutos tratados. Para severidad de infección micelial se usó una escala subjetiva de 5 niveles; donde (0), representa a los frutos sanos, (1) del 1-25%, (2) del 26-50%, (3) del 46-75%, y (4) del 76-100% de superficie infectada.

5.5.7 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE (AT)

Se realizó con base en la metodología reportada por la (A.O.A.C., 1984). Se tomó un 1 mL de cada uno de los extracto (apartado 5.5.3) y se adicionaron 9 mL de agua. Posteriormente se tituló con hidróxido de sodio 0.1 N, utilizando como indicador de fenolftaleina (2 gotas) en solución alcohólica al 1%. El porcentaje de acidez se calculó con relación al ácido cítrico (meq= 0.064), el cual es el ácido que se encuentra en mayor proporción (Hancock, 1999).

5.5.8 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES

La determinación de los compuestos fenólicos totales (mgAGE/L) se efectuó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Se utilizaron como muestra cada uno de los extractos (apartado 5.5.3) que se diluyeron (1:10), se tomó 50 µL de dichas muestras y se le adicionó 200 µL del reactivo Folin Ciocalteu, 800µL de Na₂CO₃ (10 %), se agitaron las muestras y se dejó en reposo por 1 h en la obscuridad a temperatura ambiente. Se tomó la lectura en un espectrofotómetro a 765 nm. Se utilizó una curva de calibración de ácido gálico para su cuantificación (Singleton y Rossi, 1965).

5.5.9 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL METODO DPPH Y ABTS

Se utilizaron como muestra cada uno de los extractos (apartado 5.5.3) que se diluyeron (1:10), se tomó 50 µL y se le adicionó 790 µL de metanol y 78 µL de solución del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) se agitaron las muestras y se dejó en reposo por 45 min en la obscuridad a temperatura ambiente (Hung y

Nhi 2012). Se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro. La actividad se expresó como porcentaje de inhibición del radical DPPH calculado con la siguiente fórmula: % Inhibición = [(Absorbancia inicial – Absorbancia final)/ Absorbancia inicial] x 100 (Hung y Nhi, 2012).

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Abs (t=0)} - \text{Abs (t=30)}}{\text{Abs (t=0)}} \times 100$$

Dónde: Abs (t=0) es la absorbancia del radical DPPH a tiempo cero

Abs (t=30) es la absorbancia del DPPH y el extracto a tiempo de 45 min.

El porcentaje de inhibición del radical ABTS, se realizó con una solución preparada con ABTS (7.0 mM) y persulfato de potasio (2.45 mM), la cual, se dejó reposar en oscuridad durante mínimo 16 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se tomó un pequeño volumen de la solución de ABTS y se diluyó con agua destilada hasta alcanzar una absorbancia inicial de 0.7 a 734 nm. Se tomaron 50 µL de cada uno de los extractos (apartado 5.5.3) que se diluyeron (1:10) y se adiciono 2.9 ml del reactivo catión radical ABTS y se dejó incubar durante 6 min a temperatura ambiente. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro a 734 nm. El porcentaje de inhibición se calculará de la siguiente manera.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Abs (t=0)} - \text{Abs (t=30)}}{\text{Abs (t=0)}} \times 100$$

Dónde: Abs (t=0) es la absorbancia del radical ABTS a tiempo cero

Abs (t=30) es la absorbancia del ABTS y el extracto a tiempo de 6 min.

5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el análisis estadístico de los datos, se realizó un ANOVA, para comparar si existen diferencias entre los tratamientos evaluados; el nivel de significancia utilizado en todos los análisis fue de $p < 0.05$. Cuando existieron diferencias significativas entre los tratamientos se realizó la prueba de Tukey. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico Minitab_18.1.exeSe.

CAPÍTULO 6. RESULTADOS

6.1 CONTENIDO DE PS

La cuantificación del PS mediante el contenido de azúcares fue a las 336 h en M1 (1.28 g/L) y M2 fue de 1.71 g/L (Figura 8).

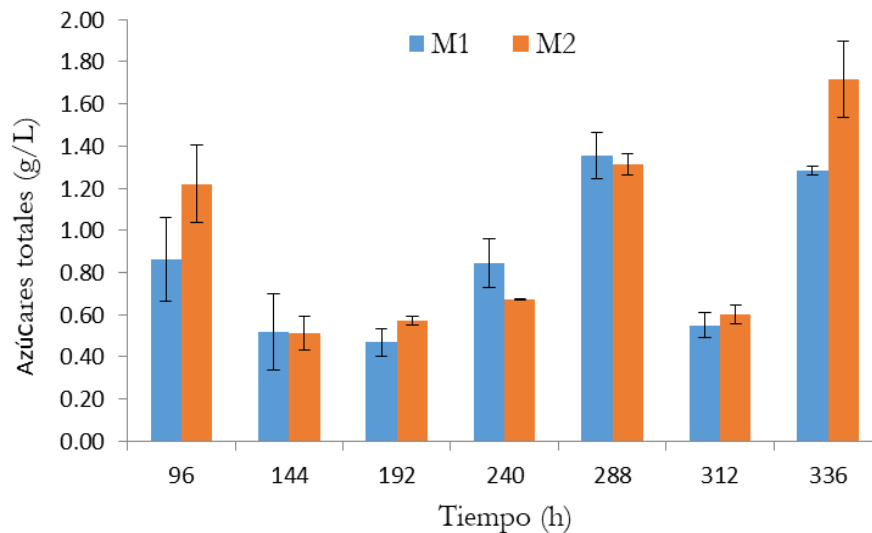


Figura 8. Contenido de PS de *H. coffeatum* de M1 y M2.

En la cuantificación del PS por peso seco se obtuvo en M1 0.3327 g/L a las 336 h y en M2 0.4027 g/L a las 336 h (Figura 9).

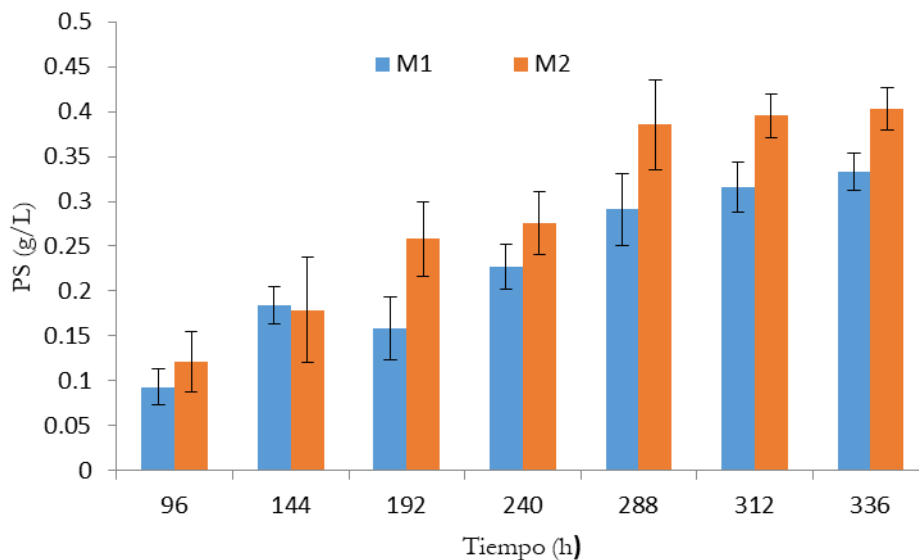


Figura 9. Contenido de PS por peso seco de M1 y M2.

6.2 CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA EN CULTIVO LÍQUIDO DE M2

La biomasa máxima fue de 18.9 g, se realizó el cultivo hasta las 552 h y no fue posible determinar la fase estacionaria, por lo que se realizó el modelamiento de la biomasa por la ley de Maltus (Figura 10). *H. coffeatum* presentó una tasa específica de crecimiento (μ) de 0.0047 h^{-1} , su tiempo de duplicación fue de 147.47 h.

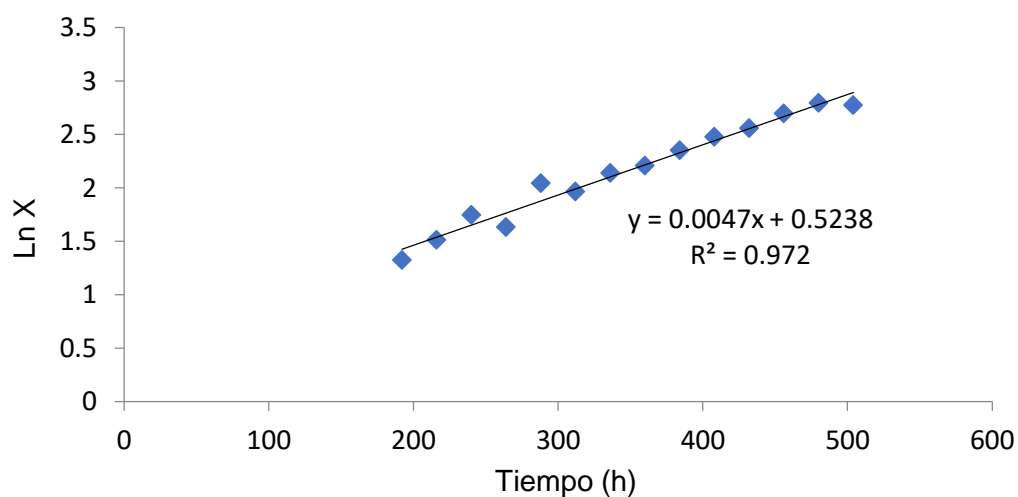


Figura 10. Cinética de crecimiento de *H. coffeatum* en medio líquido

6.2.1 DETERMINACIÓN DE pH DEL MEDIO DE CULTIVO M2

El pH inicial del medio de cultivo fue 5, se registraron pH de 5.07, 3.77, 4.90, en general estuvo alrededor del pH inicial (Figura 11).

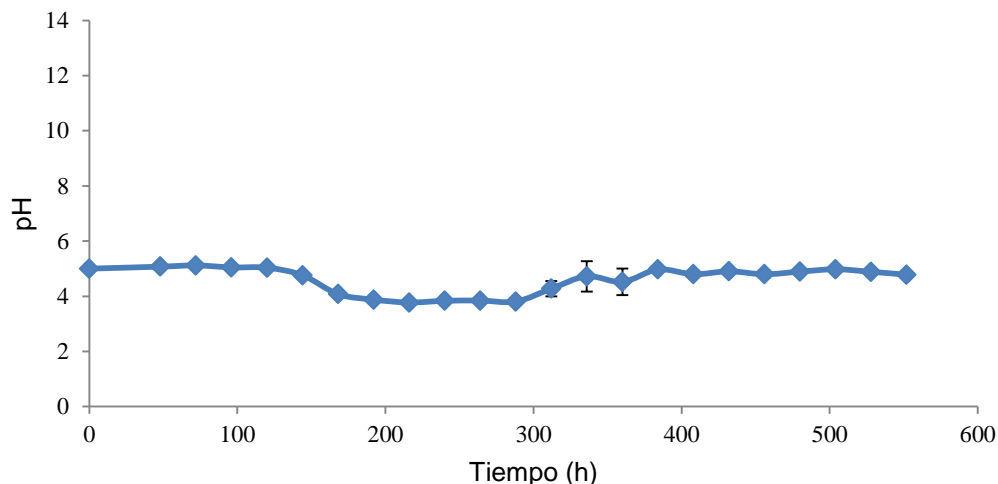


Figura 11. Perfil de pH del cultivo líquido de *Humphreya coffeatum*

6.2.2 DETERMINACIÓN DE PS POR PESO SECO M2

Se obtuvieron dos polisacáridos, uno de apariencia fibrosa (F) y de consistencia gelatinosa (G) (Figura 12). El PS (F) se obtuvo a las 456 h (1.407 g/L) (Figura 13) y la de PS (G) fue a las 336 h (13.424 g/L) (Figura 14).



Figura 12. Obtención de los PS's de *H. coffeatum* por cultivo líquido.

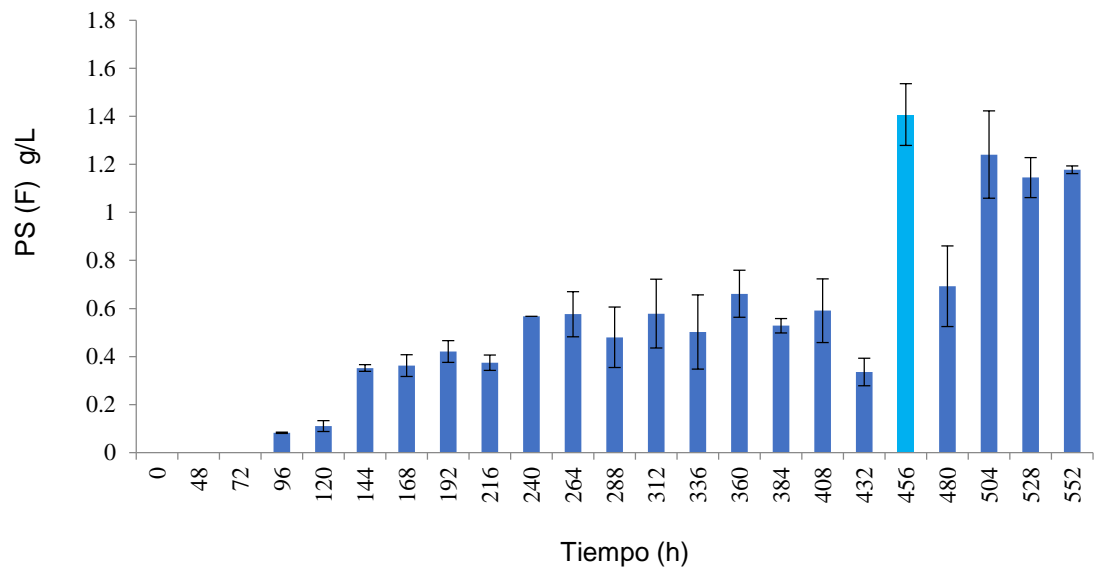


Figura 13. Contenido de PS (F) de *Humphreya coffeatum*

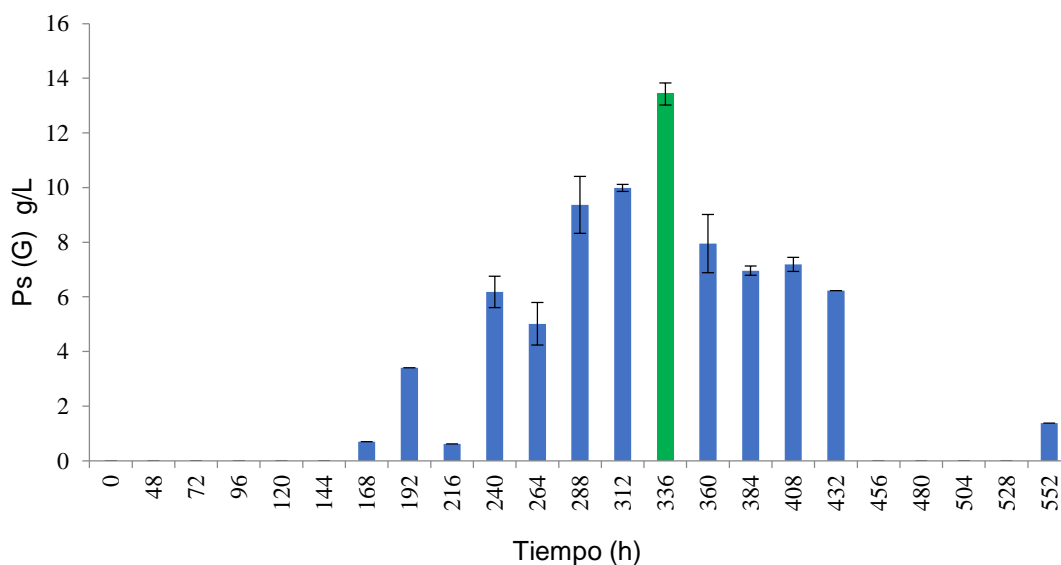


Figura 14. Contenido de PS (G) de *Humphreya coffeatum*

6.3 ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL RC

Las películas se elaboraron según indica en la tabla 3, las cuatro películas fueron seleccionadas y se caracterizaron (Figura 15).

Tabla 3. Formulación de películas comestibles

PELÍCULAS (6 mL)				
COMPONENTE	MUESTRA (mL)	H ₂ O (mL)	GLICEROL 0.5% (mL)	PECTINA 0.7% (g)
PECTINA (Control; 57P)	_____	6	0.03	0.042
FIBROSO (57F)	3	3	0.03	0.042
GELATINA (57G)	1.32	4.74	0.03	0.042
COMBINACIÓN (57GF)	G F	1.68	0.03	0.042
	3 1.32			

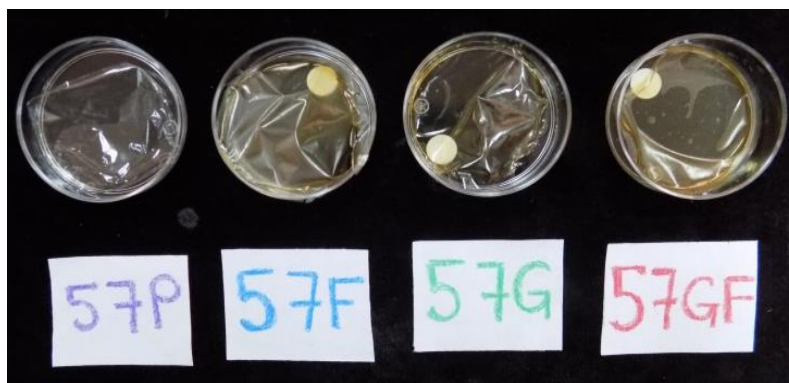


Figura 15. Películas comestibles

6.3.1 ESPESOR DE LAS PELÍCULAS

La película de mayor espesor fue la 57GF (contenía ambos polisacáridos) con 0.052 mm y la película 57F fue de 0.049 mm, la película 57G y 57P (control) fueron las de menor espesor con 0.044 mm y 0.032 mm. De acuerdo al análisis de varianza realizado, mostró diferencias significativas (Figura 16) entre las películas evaluadas $F=63.80$, $GI= 3$, $P\leq 0.000$.

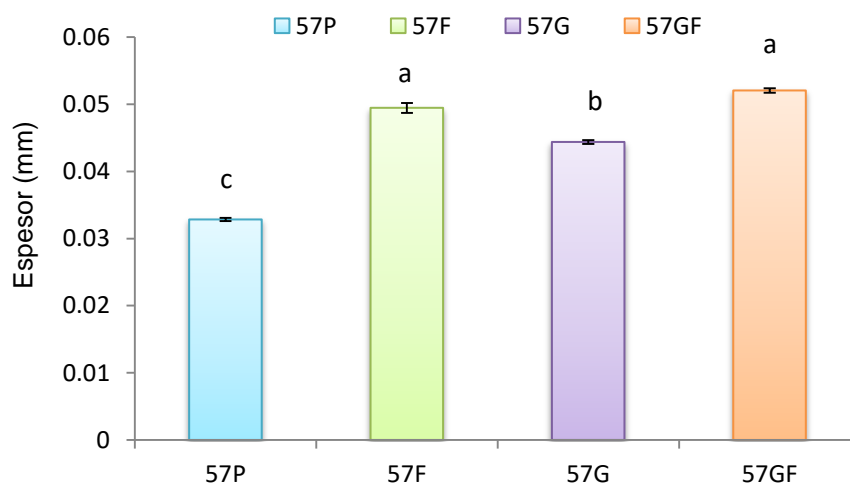


Figura 16. Espesor de las películas

6.3.2 SOLUBILIDAD DE LAS PELÍCULAS

En general las películas fueron muy solubles (Figura 17), la formulación 57G presentó mayor solubilidad el 100%, al igual que el control (57P), siendo diferentes estadísticamente 57F con 97.51% y 57GF que presentó 97.11%, la combinación de ambos polisacáridos presentó menor solubilidad.

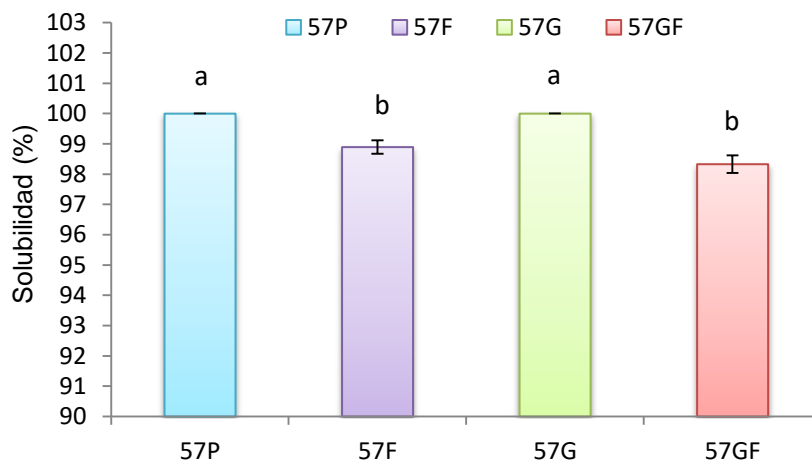


Figura 17. Porcentaje de solubilidad al agua de las películas

6.3.3 PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA

En la Figura 18 se muestra el índice de permeabilidad al vapor de agua, cada muestra se hizo por triplicado, las muestras menos permeables fueron 57F y 57GF, las más permeables 57P y 57G. De acuerdo al análisis de varianza realizado, mostró diferencias significativas entre las películas evaluadas.

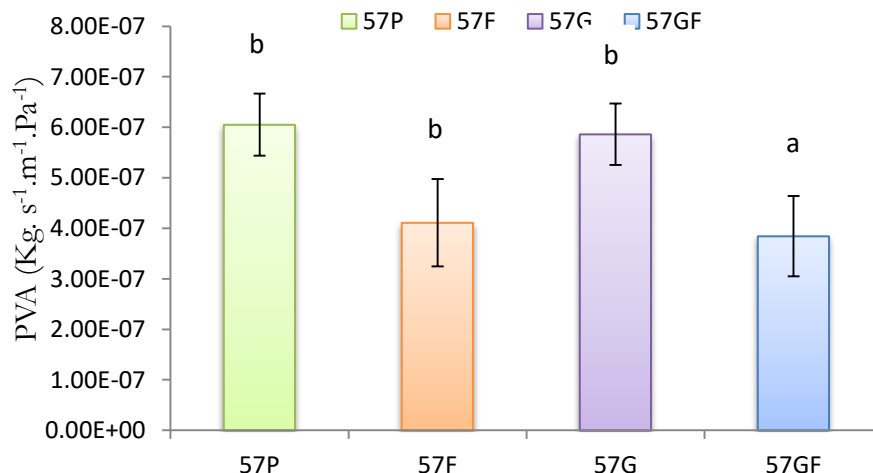


Figura 18. PVC de películas

3.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) DE LOS POLISACÁRIDOS G Y F DE LAS PELÍCULAS

En la Figura 19 se muestra el espectro de FTIR de los polisacáridos G, F y la películas 57P, 57F, 57G y 57 GF todas con un porcentaje de 0.7% de pectina y 0.5% de glicerol. Se puede observar que los dos espectros de FTIR presentan patrones similares de absorbancia. La región encontrada en los polisacáridos entre los 3300-3400 cm⁻¹ se identificó como la región de CH estiramiento de alquinos y de 1690-1630 cm⁻¹ amidas, 1400-1250 cm⁻¹ NO₂, 1150-1100 cm⁻¹ sulfonas y la región de 800-560 cm⁻¹ se identifica como la zona C-Br.

En los espectros de las películas (Figura 20) se pueden observar las señales típicas de las pectinas, como la zona en 1750 cm⁻¹ referida como una banda sola aguda correspondiente al grupo carboxílico esterificado (estiramiento C = O) (Černá *et al.*, 2003). Este pico es un poco más alto que el encontrado en la región de 1600–1650 cm⁻¹ por el estiramiento del carbonil en el grupo carboxílico. Cuando existe adición de glicerol (en la película) es posible observar bandas más definidas entre 1020 y 1100 cm⁻¹, esto concuerda con Pérez-Mateos *et al.* (2009), quienes reportaron este mismo efecto esto debido a los enlaces C-OH y C-O-C.

Las bandas amplias y cortas 2945 cm^{-1} corresponden al estiramiento de OH en los grupos carboxílicos (Tripathi *et al.*, 2010). Estas bandas se muestran más definidas en el espectro de la película que en el del extracto péptico. De igual manera, la banda encontrada entre 3300 y 3400 cm^{-1} es más intensa y definida en el espectro de la película se identificó la región CH de estiramientos alquinos y la longitud del estiramiento se puede deber al PS que se está utilizando se puede notar que 57GF y 57F son los estiramientos más largos.

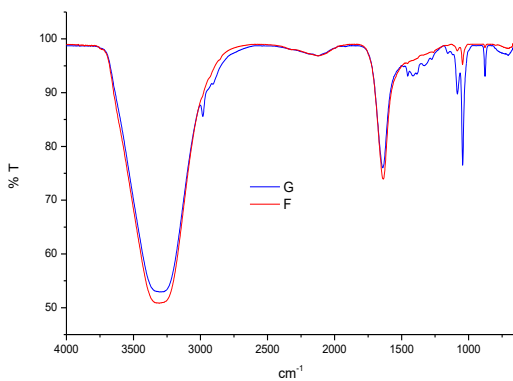


Figura 19. Espectro de FTIR de los polisacáridos

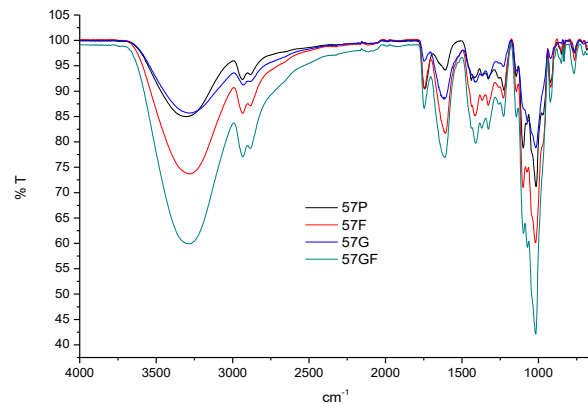


Figura 20. Espectro FTIR de las películas formadas

6.3.5 ANÁLISIS DE ESTRUCTURA DE LAS PELÍCULAS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Las películas mostraron diferencias notables en su estructura dependiendo el tipo de polisacáridos presente. En términos generales las películas 57G muestran una estructura rugosa, presentando partículas sólidas en la superficie de forma heterogénea. En las 57F y 57GF mostraron algunas partes homogéneas, pero también se presentaban algunos grumos. Las películas que presentaron la superficie más lisa fueron las elaboradas únicamente con pectina (57P), sin embargo en algunas partes se presentaron grumos (Figura 21). Lo sugiere que se debe mejorar el proceso de solubilización de cada uno de los componentes de los PC.

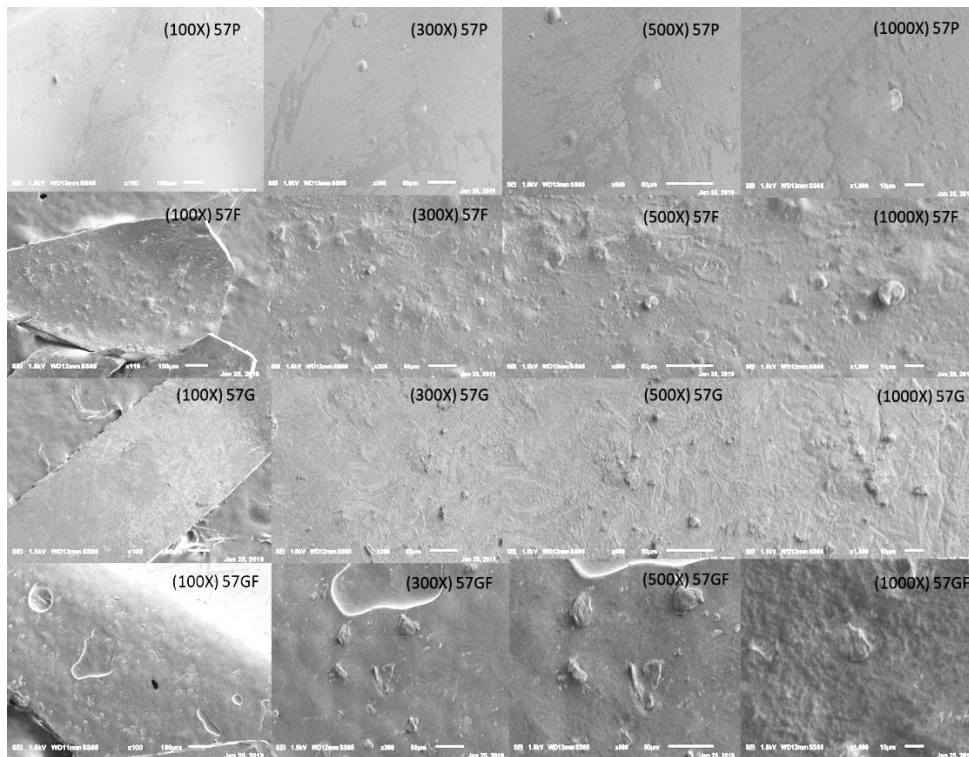


Figura 21. Microscopia electrónica de barrido de películas 57P, 57F, 57G y 57GF

6.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS FRESAS

6.4.1 DETERMINACIÓN DEL PESO

En la evaluación de la pérdida de peso de las fresas con el recubrimiento a temperatura ambiente y en refrigeración, las formulaciones que incluían el PS de *H. coffeatum* se observó un efecto positivo en t/amb, disminuyendo el porcentaje de pérdida de peso, comparado con las fresas control, que a los 5 días ya había perdido 57P un 35.93% y las S/RC un 96.1% de peso. Los recubrimientos que presentaron mayor protección para la pérdida de peso a los 5 días, son las que contenían el recubrimiento con una pérdida de 4.56%, 4.47%, 4.72 para 57F, GF, y 57G (Figura 22). En refrigeración la pérdida de peso fue menor, pero las que tuvieron más pérdida a los 5 días fueron 57P con 3.94% y S/RC con 12.56%. Las películas 57F, 57GF y 57G tuvieron una pérdida de alrededor del 3%, posteriormente S/RC y 57P tuvieron un efecto negativo incrementando la pérdida de peso del fruto durante su almacenamiento y a los 20 días ya habíamos perdido el 100%. Los recubrimientos que más se prolongaron hasta los 30 días de almacenamiento fueron 57F y 57GF que perdieron el 25.19% y 25.4 % respectivamente esto indica que debido al PS de *H. coffeatum* produjo una película más resistente a la difusión del agua originando una mejor barrera de protección evitando así la deshidratación (Figura 23). En los recubrimientos que contenían PS se observa que la pérdida de peso es mayor cuando las fresas no se almacenan en temperaturas de refrigeración.

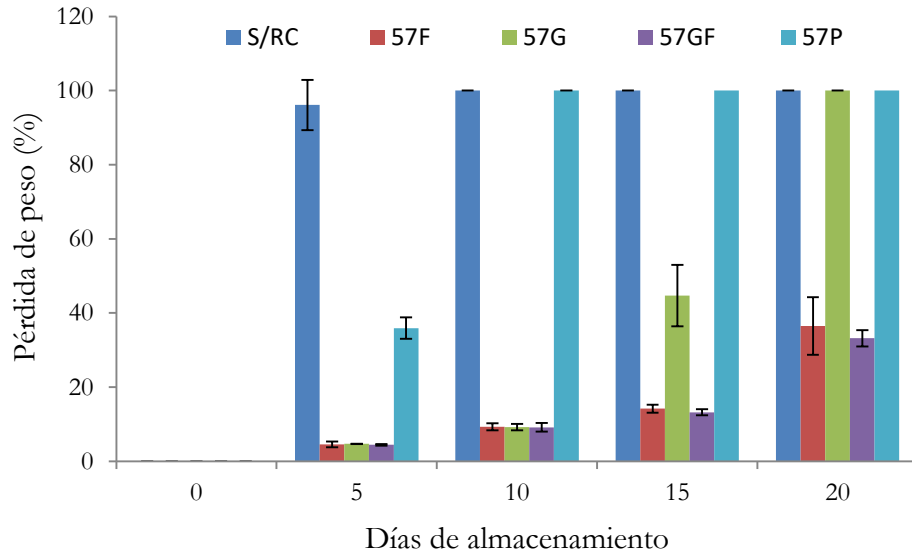


Figura 22. Pérdida de peso de fresas a temperatura ambiente

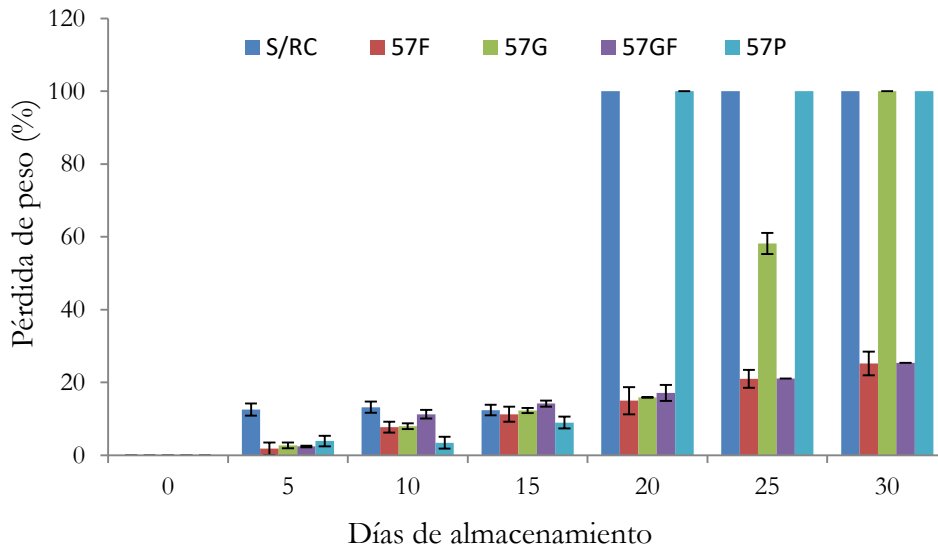


Figura 23. Pérdida de peso de fresas a 4°C

6.4.2 DETERMINACIÓN DE pH

La fresa se clasifica como una fruta ácida debido a que presenta valores de pH que varían entre 3.2 y 3.4 (Charalambous, 1986). En las figuras 24 y 25 se muestra el pH en los diferentes días de almacenamiento se mantuvo en un rango de 3 a 4, tanto en temperatura ambiente y en refrigeración.

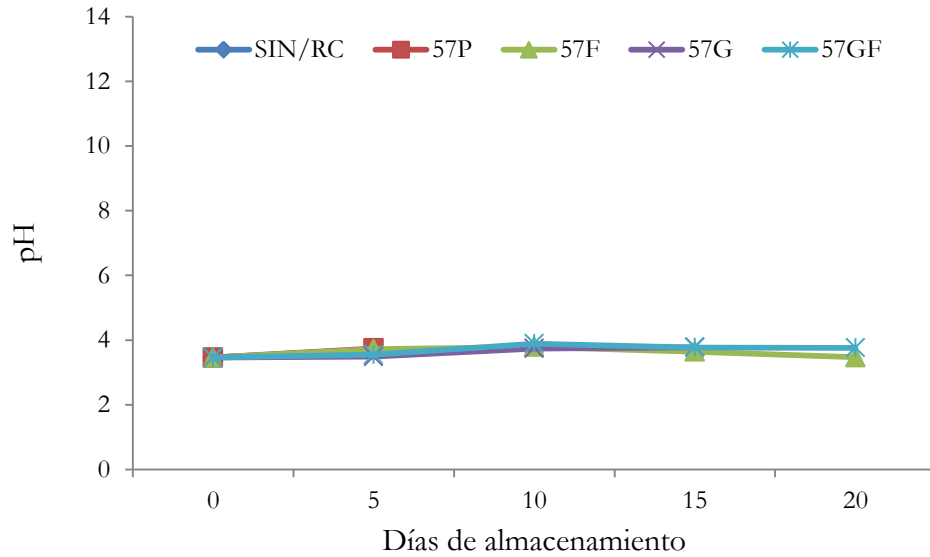


Figura 24. pH de fresas a temperatura ambiente

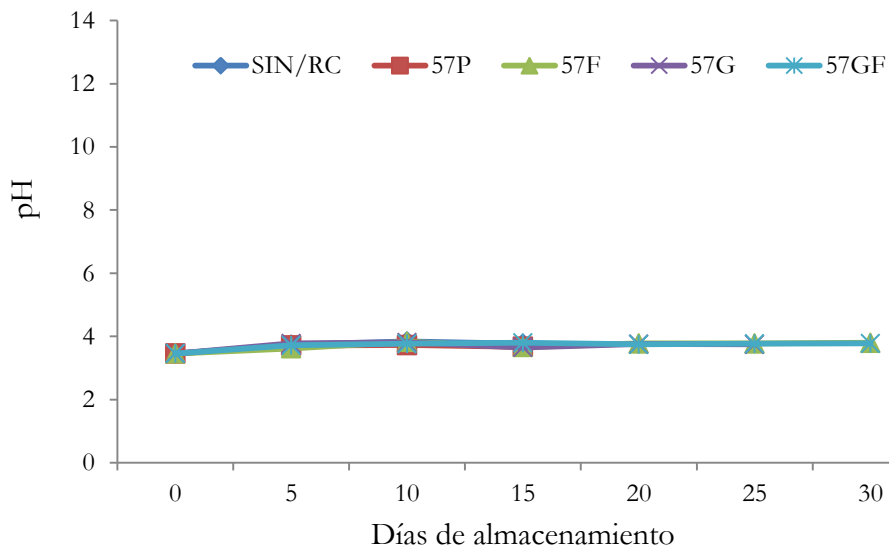


Figura 25. pH de fresas a 4 °C

6.4.3 SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (SST)

En los frutos carentes de azúcar como la mora y la fresa, la acumulación de azúcar proviene de la reserva de carbohidratos de la planta, debido a la baja capacidad fotosintética de estos frutos (Azcon y Talon, 1993). En las Figuras 26 y 27 se observa que en los primeros días de incubación el contenido de azúcares es bajo y al avanzar su contenido aumenta, en general fue de aproximadamente 5 °Brix.

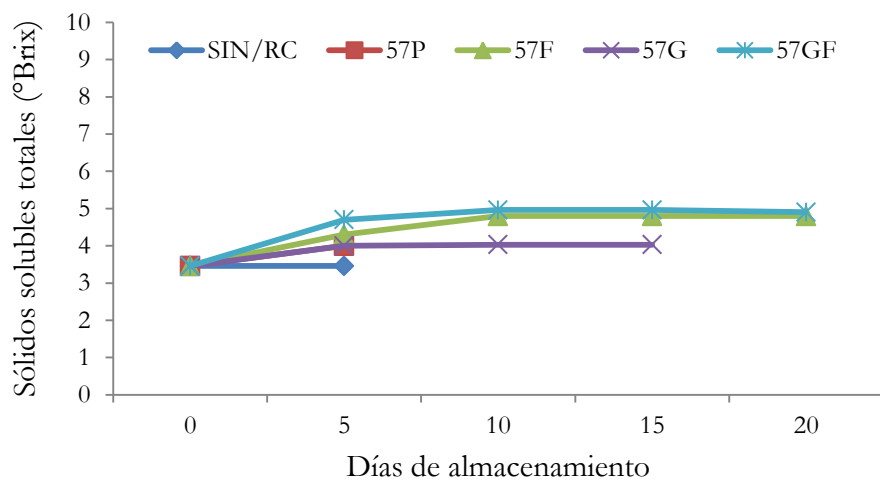


Figura 26. Contenido de azúcar a t/amb

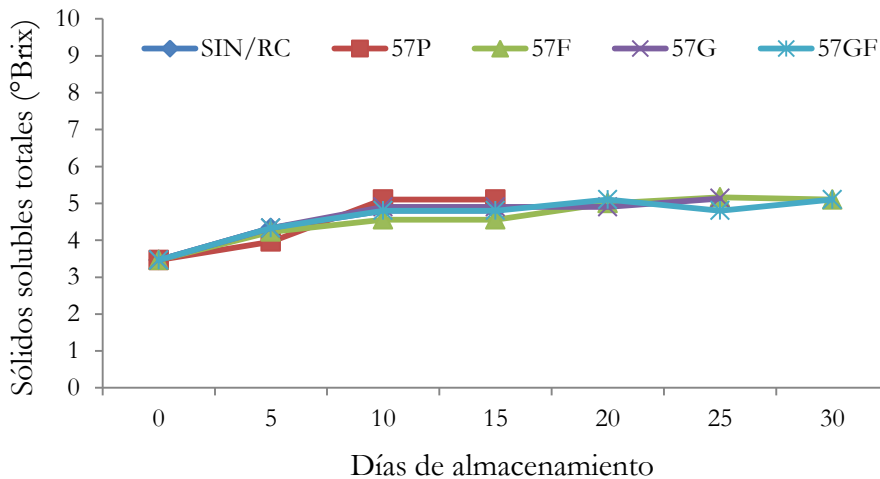


Figura 27. Contenido de azúcar a 4° C

6.4.4 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE INFECCIÓN

Las fresas que se mantuvieron a temperatura ambiente S/RC y 57P el porcentaje de infección al día 10 fue de 100 %. Los recubrimientos con PS: 57F, 57GF y 57G presentaron un 100% de infección hasta los 20 días (Figura 28). Las fresas a temperatura de refrigeración S/RC y 57P a los 20 días presentaron el 100% de infección, 57G a los 30 días tuvieron el 100% y en 57F, 57GF tuvieron un porcentaje de infección del 33.33% y 44.44% respectivamente (Figura 29), lo que sugiere que la presencia de ambos PS's y el fibroso mantuvieron sin presencia de contaminantes, sin embargo dichas fresas se deshidrataron, por lo que se podría mejorar los RC en disminuir la pérdida de agua por el fruto.

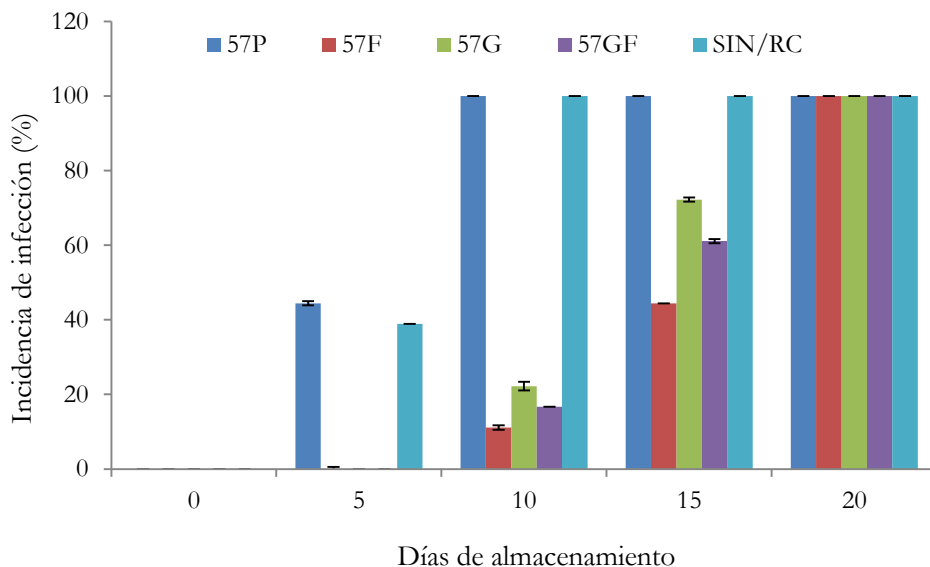


Figura 28. Porcentaje de infección de fresas almacenadas durante 20 días a temperatura ambiente.

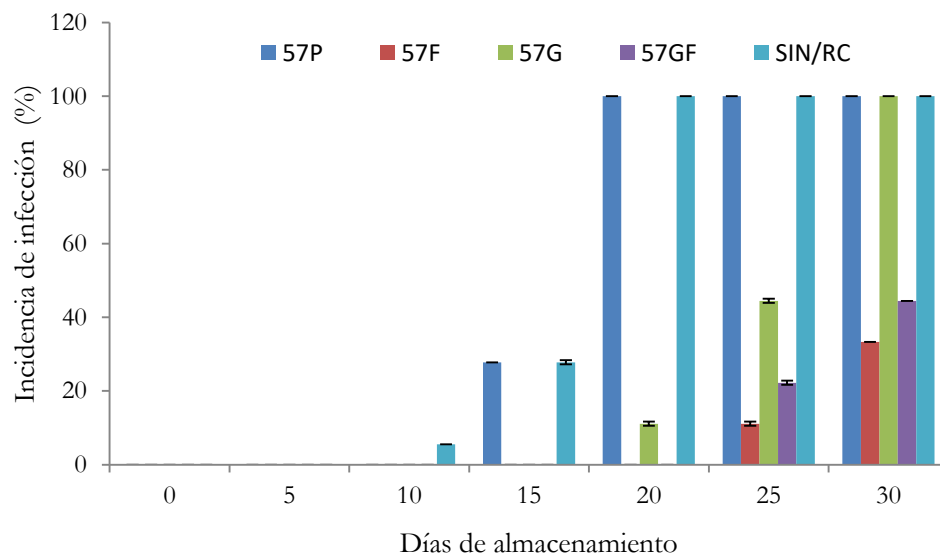


Figura 29. Porcentaje de infección de fresas almacenadas durante 30 días en refrigeración.

6.4.5 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE (ATT)

Los resultados obtenidos de acidez titulable en las muestras en t/amb y refrigeración se mantuvieron similares al control 2.08% de ATT que corresponde al día cero (Figura 30 y 31). Hubo un pequeño incremento en los últimos días de incubación en ambas condiciones.

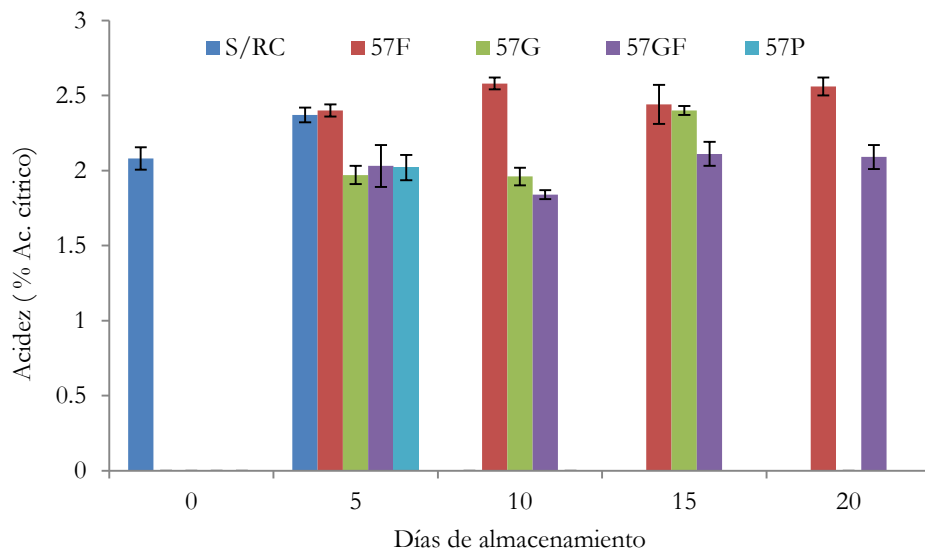


Figura 30. Acidez titulable de fresas almacenadas durante 20 días a temperatura ambiente

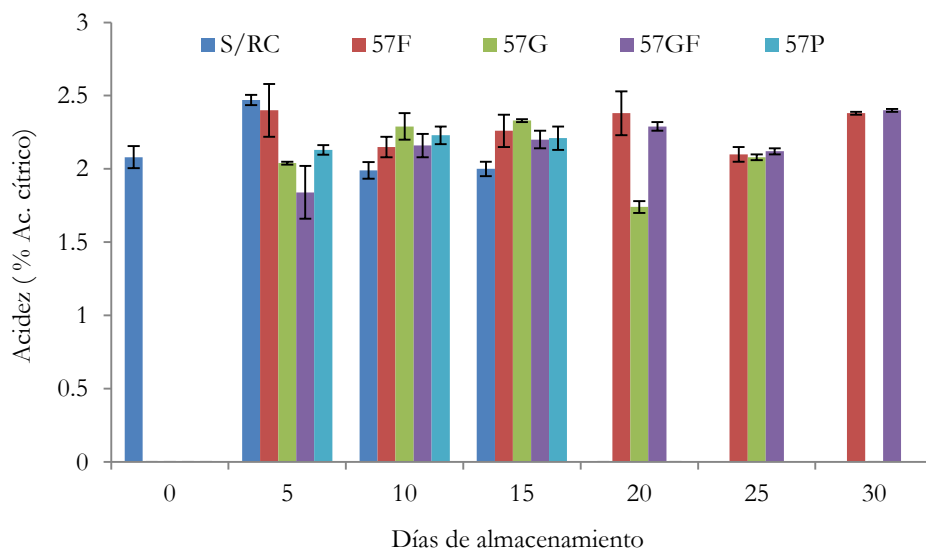


Figura 31. Acidez titulable de fresas almacenadas durante 30 días a 4 °C

6.4.6 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES

El valor de compuestos fenólicos en la muestra control en el día cero es de 524.25 mg GAE/L, a los 5 días las fresas tratadas S/RC los compuestos fenólicos fueron de 787.68, de las de 57F, 57GF, 57G fue de 673.79, 668.47 y 594.39 mg GAE/L

respectivamente (Figura 32). En refrigeración el control fue de 504 mg GAE/L y a los cinco días de almacenamiento de 57F, 57GF y 57G se mantuvieron en 722.40, 661.52 y 591.85 mg GAE/L (Figura 33). Se puede observar que en 57F aumento el contenido fenólico tanto en t/amb y refrigeración a comparación del control, a lo largo del tiempo de almacenamiento y también entre los distintos tratamientos. Los valores más altos de compuestos fenólicos fue de las fresas que tenían con el recubrimiento 57F alcanzando valores de 742.77 mg GAE/L a los 20 días de almacenamiento, posteriormente a los 30 días se redujo a 650.87 mg GAE/L y 57GF también mostro altos compuesto fenólicos con 711.29 mg GAE/L a los 30 días. Las fresas son consideradas una fuente importante de ácido elágico, y poseen un alto contenido en ácidos *p*-cumárico y *p*-hidroxibenzoico.

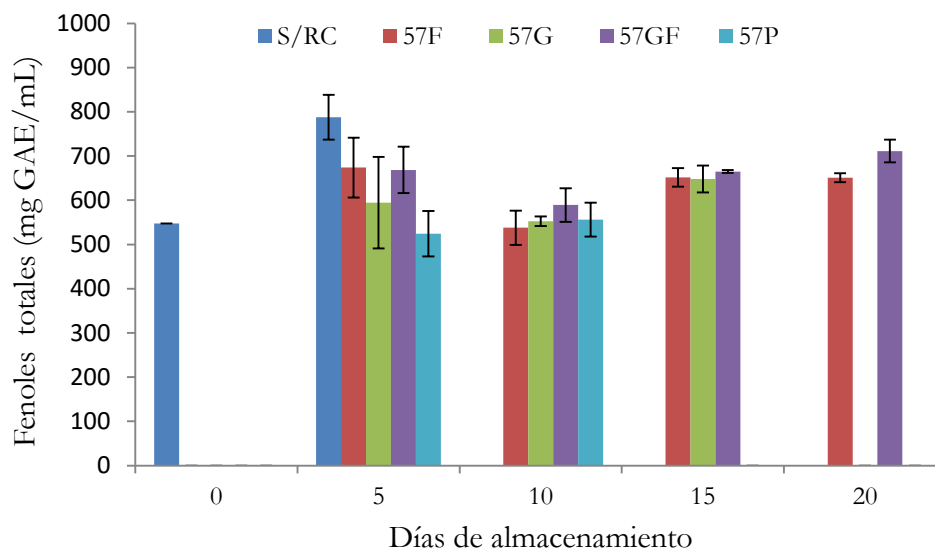


Figura. 32 Compuestos fenólicos totales en t/amb

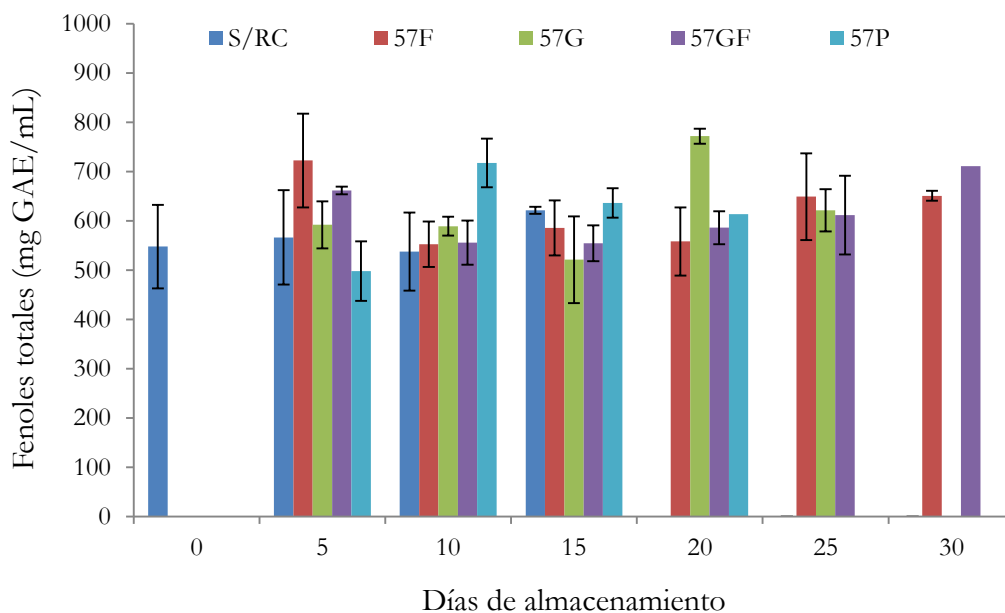


Figura 33. Compuestos fenólicos totales en 4 °C

6.4.7 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL METODO ABTS Y DPPH

En los resultados obtenidos se observa una tendencia que a medida que transcurre el tiempo de incubación de la fruta, se presenta una mayor capacidad de inhibición del radical libres ABTS^{•+}, a los 20 días de almacenamiento en t/amb en 57F y 57GF se presentan valores de 48.0% y 39% (Figura 34) En refrigeración 57F, 57GF y 57G presentan un 44.6%, 41.4% y 38.1% respectivamente (Figura 35).

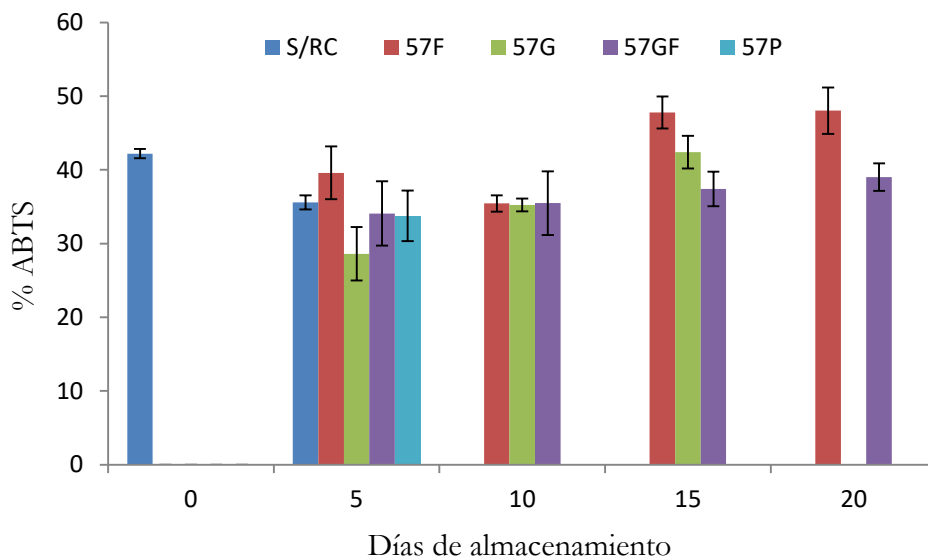


Figura. 34. Capacidad antioxidante del radical ABTS en t/amb

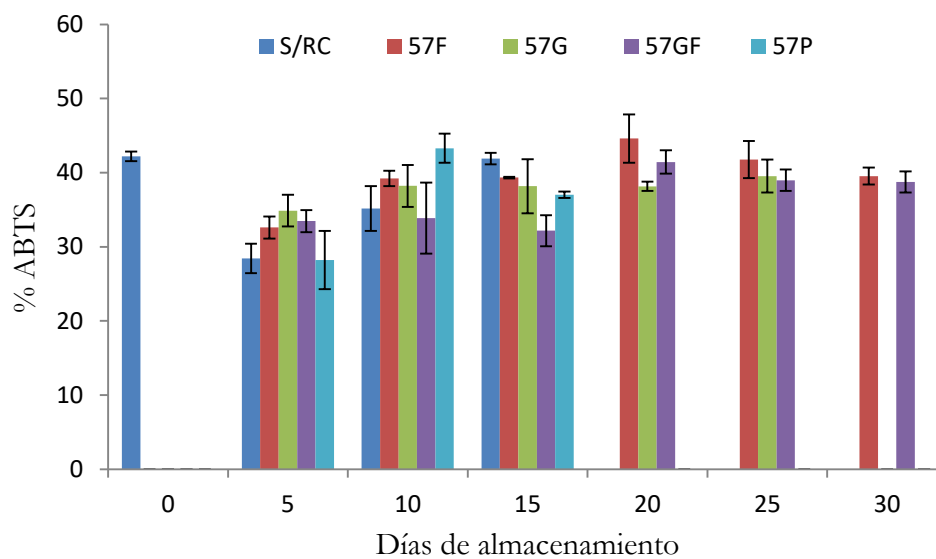


Figura. 35 Capacidad antioxidante del radical ABTS en 4°C

En los resultados de la medición de la actividad del radical DPPH, el control fue de 89.07 %, a los 20 días de almacenamiento en t/amb en 57F y 57GF se presentan valores de 90.42% y 89.07% (Figura 36). En refrigeración 57F%, 57GF% y 57G% presentan un 85.45%, 81.36% y 80.14% respectivamente (Figura 37).

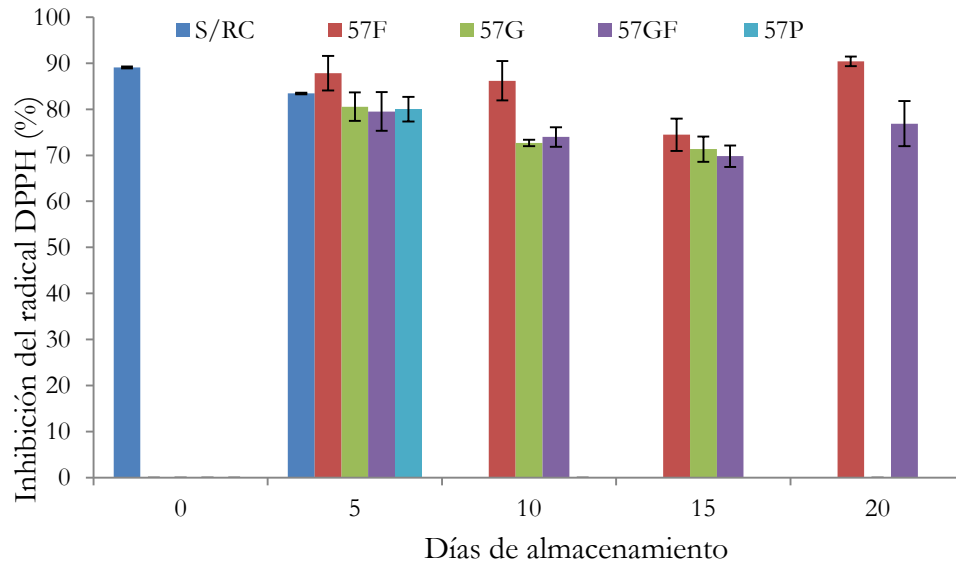


Figura 36. Capacidad antioxidante del radical DPPH en t/amb

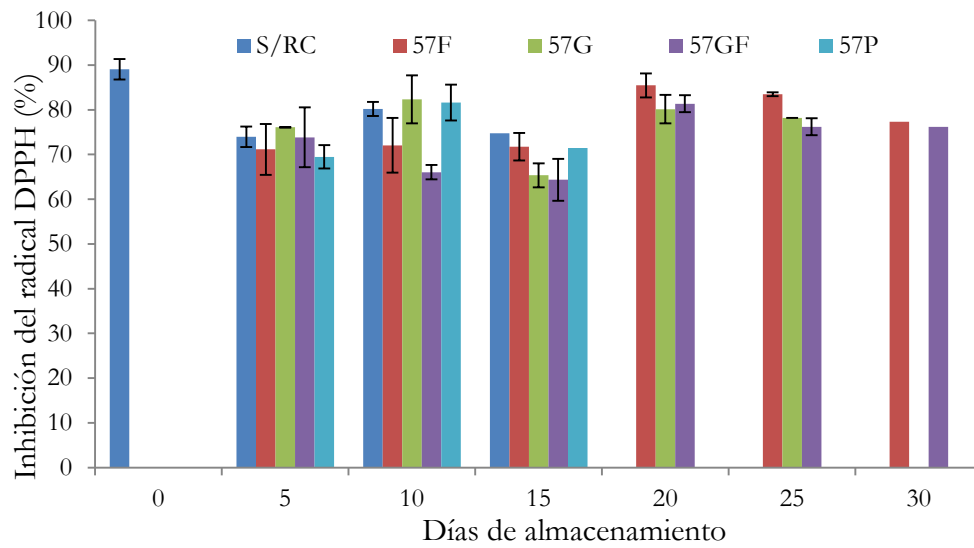


Figura 37. Capacidad antioxidante del radical DPPH en 4°C

CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN

Muchos basidiomicetos tienen diferentes compuestos de los cuales se han reportado importantes actividades biológicas, como es el caso de ciertos polisacáridos que tienen potencial y aplicación industrial (Xu *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2005; Lin, 2006). Estos compuestos se encuentran en los cuerpos fructíferos, el micelio y el caldo de cultivo. Los hongos han sido reconocidos desde tiempos remotos en países orientales y ahora a nivel mundial por su potencial biotecnológico (Hincapie *et al.*, 2005). Dentro de los mayores productores de estos metabolitos se encuentra *Ganoderma lucidum*, un basidiomiceto ampliamente estudiado para el tratamiento de múltiples enfermedades (Puerta y Zapata, 2006), sin embargo, el hongo *H. coffeatum* (conocido popularmente como una medicina herbal) se ha dado a conocer en la medicina natural en el tratamiento de enfermedades, este hongo tiene similitud taxonómica a *G. lucidum*, lo que sugiere que tendría también una capacidad de producción de agentes activos similares y ha abierto la posibilidad de descubrir nuevas actividades y componentes bajo condiciones controladas en cultivo sumergido (Jong y Birmingham, 1993; Yuen y Gohel, 2005; Rhee *et al.*, 2008).

El cultivo sumergido se utiliza ampliamente para crecer hongos, debido a la facilidad de controlar variables importantes como son: la temperatura, la relación C/N del medio de cultivo, el contenido de oxígeno, la velocidad de agitación, el pH, transferencia de masa y energía, entre otras (Tang *et al.*, 2007). Porras *et al.* (2009) reportaron la producción de biomasa de 12 g/L (336 h) de *H. coffeatum* a un pH de 4.5, en este trabajo con la misma especie y un medio idéntico (M1) y otro con más fuente de nitrógeno (M2), se obtuvo 8.09 g/L (M1) y 8.48 g/L (M2) de biomasa a las 336 h, lo que indica que la cepa utilizada en este trabajo crece más lento, ya que en el medio M2 se modificó la relación C/N (5) comparado con el medio M1 (7) y no hubo incremento significativo en la biomasa. En el M2 la máxima producción de biomasa fue de 18.9 g/L pero a las 552 h, se utilizó lactosa como fuente de carbono, debido a que en varios trabajos se ha mostrado que la lactosa es mejor fuente para el crecimiento de *Ganoderma*, en comparación con la

maltosa, glucosa y sacarosa, siendo este último en el que menos crece el micelio (Tang *et al.*, 2002). Por lo que es importante optimizar la condición de cultivo para la cepa de *H. coffeatum*, para mejorar la producción de biomasa y producción de polisacáridos.

La producción de polisacáridos de hongos pueden ser intracelular (dentro del micelio) o extracelular, (secretados fuera del micelio) (Ubaidillah *et al.*, 2015). Supramani *et al.* (2019) reportaron la optimización de polisacáridos de una cepa silvestre de *Ganoderma lucidum*, utilizando metodología de superficie de respuesta en cultivo líquido obtuvo 5.19 g/L de biomasa máxima y 2.64 g/L de exopolisacárido a un pH inicial de 4.0, 26.52 g/L de glucosa y 103 rpm, y el máximo de polisacárido intracelular (1.57 g/L) fue a pH de 4.0, 40.45 g/L y 103 rpm. En este trabajo solo se obtuvo el exopolisacárido y a diferencia del trabajo anteriormente mencionado no se centrifugo, solo se eliminaba la fase líquida por lo que se pudieron recuperar dos polisacáridos se obtuvo 1.4 g/L del PS F y 13.4 g/L PS G. Wan *et al.* (2016) obtuvieron 0.58 g/L para *G. lucidum* a los 264 h crecido en biorreactor, que coincide con lo obtenido en este trabajo que fue de 0.576 g/L de PS. Porras *et al.* (2009) para *H. coffeatum* reportaron 6.9 g/L de PS y Gallego y García (2009) reportan una producción en birreactor de 1.053 g/L a las 240 h. Wagner *et al.* (2004) obtuvieron el PS hasta 456 h (1.4 g/L), pero observó que a las 240 h los pellets se rompieron, lo que coincide con el inicio de la producción de PS, como también lo reportaron Gallego y García (2009) que durante la fermentación la biomasa es cubierta por una sustancia gelatinosa que reacciona fuertemente con el método del fenol-ácido sulfúrico indicando la presencia de polisacáridos. Yang y Liao (1998) expusieron un caso similar con *G. lucidum* en donde se encontró que los polisacáridos recién formados se adherían al micelio, disminuyendo de esta manera la secreción de estos al medio de cultivo. En este trabajo de investigación se produce desde las 96 h el PS F siendo muy baja la cantidad, sin embargo el PS G inicia hasta las 192 h y es del que se obtiene mayor cantidad, se observó que conforme paso el tiempo de fermentación el medio

modificó su aspecto, haciéndose más denso, lo que podría ser debido al incremento de la producción de ambos PS.

Los RC son elaborados a partir de polisacáridos, proteínas y lípidos (Park, *et al.*, 2005). Se ha reportado que los hongos pueden llegar a presentar entre 50-80% de PS, de los cuales, dependiendo el tipo de hongo pueden ser: Quitina, celulosa, quitosano, glucanos (alfa y beta) y mananos, por lo que son una alternativa de obtención PS. Hay reportes en los que se está utilizando quitosano en la elaboración de RC, sin embargo aún es complejo el proceso de elaboración. El uso RC en alimentos actualmente está impactando en la conservación, debido a que puede incrementar la viabilidad durante el almacenamiento (Beverly, *et al.*, 2008). Es el primer trabajo en él se utilizan PS producidos por hongos para la formulación de un RC que presentó características óptimas para ser utilizadas en la conservación de alimentos frescos. Dentro de las características de los RC está el espesor, al ser delgado, formará una capa fina y delgada sobre el alimento (Sperling, 2005; Romero-Bastida *et al.*, 2005), que permite que el recubrimiento no afecte la apariencia de los frutos, los resultados obtenidos en este trabajo el RC de mayor espesor fue 57GF con 0.052 mm, que es delgado y no interfiere en el aspecto del fruto.

La solubilidad involucra la penetración de las moléculas de agua en la matriz polimérica, esto es seguido por la interrupción de las fuerzas de Van der Waals entre las cadenas poliméricas (Turhan y Sahbaz, 2004), en la elaboración de películas comestibles se emplean mezclas con el fin de contrarrestar las deficiencias propias de cada componente y así poder mejorar las propiedades del material resultante (Branda *et al.*, 2005). Los RC presentaron alta solubilidad (97%), lo que asegura que al ser lavados los frutos para consumo, se elimina totalmente el RC.

La permeabilidad es una propiedad de barrera a gases y/o vapores que presenten en el ambiente, ya que éstos pueden influir en diferentes procesos en los alimentos (oxidación, cambios de textura por pérdida o ganancia de humedad, pérdida de aromas, entre otros), y por lo tanto incidir en su calidad final. Sánchez-

Aldana *et al.* (2015) caracterizaron películas comestibles a base de extracto péctico de bagazo de limón con una concentración de pectina del 1.0% y 0.75% de glicerol y presentó una permeabilidad de $5.17\text{E-}07$ g/msPa, indicando que a altas concentraciones de pectina y bajas concentraciones de glicerol se obtienen mejores propiedades de permeabilidad y resistencia del material, García *et al.* (2009) reportaron datos de permeabilidad en películas de quitosano 100% y en combinación con almidón de maíz al 5% con valores de $5.04\text{E-}10$ g/msPa y $8.76\text{E-}10$ g/msPa respectivamente, nuestros resultados están cercanos en el caso del RC 57G que presentó $6.044\text{E-}07$ g/msPa, lo que coincide, en que es el RC de menor espesor 0.044 mm.

Mediante FTIR se confirmó que los PS F y PS G son polisacáridos, ya que presentaron patrones similares de transmitancia en la región de 900 y 1200 cm^{-1} , que se identifica como la región de los carbohidratos (Tripathi *et al.*, 2010). En los espectros se observan señales típicas de la pectina, como la zona en 1750 cm^{-1} referida como una banda aguda correspondiente al grupo carboxílico esterificado (estiramiento C = O) (Černá *et al.*, 2003). Este pico es un poco más alto que el encontrado en la región de $1600\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ por el estiramiento del carbonil en el grupo carboxílico (no esterificado). Cuando existe adición de glicerol (en la película) es posible observar bandas más definidas entre 1020 y 1100 cm^{-1} , esto concuerda con Pérez-Mateos *et al.* (2009), quienes reportaron este mismo efecto esto debido a los enlaces C-OH y C-O-C. Las bandas amplias y cortas en 2945 cm^{-1} corresponden al estiramiento de OH en los grupos carboxílicos (Tripathi *et al.*, 2010). Estas bandas se muestran más definidas en el espectro de los RC que presentan los PS, comparado con RC que solo tiene pectina. La banda encontrada entre 3300 y 3600 cm^{-1} (región CH de estiramientos alquinos) es más intensa y definida en presencia de los PS y la longitud del estiramiento se puede deber al PS que se está utilizando se puede notar que 57GF y 57F son los estiramientos más largos esto también puede deberse a la incorporación de glicerol en la película (Thygesen *et al.*, 2003).

Se probaron los RC en fresas, se observó que prolongó la vida pots-cosecha. La fresa es un fruto no climatérico, muy delicado y tiene una vida útil muy corta (Sanz *et al.*, 1999), por sus condiciones fisiológicas resulta muy susceptible a la pérdida de humedad (USDA y ARS *et al.*, 2004) y al ataque por microorganismos, especialmente por hongos (Mertely *et al.*, 2002), puede haber pérdidas considerables durante su transporte y comercialización (Shafir *et al.*, 2006), ya que por el maltrato se disminuyen los atributos de sabor, aroma y textura (Azodanlou *et al.*, 2003), además de ser muy susceptible a la presencia de hongos, por lo que en este trabajo se realizaron pruebas de sólidos solubles totales, porcentaje de acidez titulable, contenido de fenoles y actividad antioxidante, observamos que los RC mantuvieron los valores de la fruta inicial (día 0), hubo pequeñas variaciones, pero se mantuvieron al redor del valor inicial, lo que indica que el RC le está ayudando a mantener estos parámetros que son una parte importante de la calidad del fruto.

Se evaluó la pérdida de peso de las fresas, los recubrimientos que presentaron mayor protección para la pérdida de peso a los cinco días, son las que contenían el PS 57F, GF, y 57G (con pérdida de 4.56%, 4.47%, 4.72, respectivamente), en refrigeración la pérdida de peso fue menor y tuvieron una pérdida de alrededor del 3% esto concuerda con Saavedra y Alecira (2010) aplicaron un recubrimiento en fresa que contenía proteína aislada de soya y fue la que presentó mayor protección para la pérdida de peso en t/amb tuvo 5.33% entre los días 3-5 y a 7°C tuvo una pérdida de 1.72% entre los días 3 y 7, en los recubrimientos que contenían proteína se observa que la pérdida de peso, es mayor cuando las fresas no se almacenan en temperaturas de refrigeración, ya que en esta temperatura se logra disminuir los procesos metabólicos y de respiración. Restrepo y Aristabal (2010) utilizaron un RC de musilago de savila y cera de carnauba, el cual aplicaron en fresas y en los días 7 y 10 días de almacenamiento cera tuvo el 0.35% y del tratamiento con el mucilago fue de 0.40% frente al control 0.58% almacenadas a 5°C. Oñate (2018) reporto la pérdida de peso entre 12.67% y 18.46% de los tratamientos de fresa con recubrimiento de almidón de papa china y almacenadas

en refrigeración (4 °C) durante 16 días, antes de su deterioro microbiológico, la mayor pérdida fue en el control (18.46 %), lo cual evidencia que el recubrimiento cumple una función protectora, la fresa al presentar una alta tasa de respiración produce una mayor pérdida de agua, provocando arrugamiento del fruto, disminución del peso de comercialización y descenso de la calidad sensorial, afectando la apariencia, textura y jugosidad del fruto (Maccapa, 2015). Los RC tuvieron un efecto principalmente protector, ya que impidió que se contaminara, pero no impedimos que perdiera humedad, ya que las fresas se deshidrataron.

Lo anterior, se confirmó mediante la prueba de porcentaje de infección, ya que se ha reportado previamente que el período de vida poscosecha de fresa almacenada a 5 °C es de 7-9 días, con un aumento de 2-4 días cuando se mantienen en atmósferas modificadas con 20 kPa de CO₂ (Pelayo *et al.*, 2003). En este estudio se pudo observar que a temperatura ambiente presentaron la contaminación por microorganismos en menor tiempo comparado con las que estaban en refrigeración. Las fresas con RC que contenían el PS se prolongó hasta los 15 días en t/amb y las de refrigeración tardaron en presentar infección prolongándose hasta los 30 días (57F y 57GF), mediante las micrografías de las películas 57G, 57F y 57GF se observó que su superficie fue heterogénea, presentaban grumos, sin embargo las dos últimas presentaban un poco menos de imperfecciones en la superficie, lo que suponemos que eso ayudo también a que presentaran menor porcentaje de incidencia de infección. Costantini *et al.* (2018) utilizaron un RC de nanopartículas de quitosano y extracto de arándano sobre *Colletotrichum fragariae* en fresa que al día 16 la infección fue 74%. Comparando nuestros resultados con López- Mata *et al.* (2012) quienes evaluaron un recubrimiento comestible de quitosano y lo aplico en fresa, logró prolongar la vida útil de la fresa hasta por 15 días cabe mencionar que esto fue a una temperatura de 5°C. González-Aguilar *et al.* (2009) evaluaron el efecto de RC de quitosano de bajo, mediano y alto peso molecular, aplicado a papaya fresca cortada. Dichos autores encontraron que el RC de quitosano de mediano peso molecular fue el más efectivo a una concentración de 2 %, siendo capaz de suprimir el desarrollo

de hongos-levaduras hasta por 14 días de almacenamiento a 5°C. El-Ghaouth *et al.* (1992) utilizaron RC de quitosano al 1.5 % en fresas, y posteriormente inocularon las fresas con hongos contaminantes (*Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea*), y reportaron que redujo hasta el 60 % de su deterioro durante 14 días de almacenamiento. Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación son muy alentadores, sin embargo también nos permitieron conocer algunas características que podríamos mejorar en los RC, con la finalidad de que en algún momento los hongos también sean considerados una fuente prometedora de compuestos para la elaboración de películas comestibles o recubrimientos biodegradables.

CAPÍTULO 8. CONCLUSIÓN

Se elaboraron los RC con los dos PS de *H. coffeatum*, los RC 57F y 57GF presentaron las mejores características que permitieron conservar las fresas por 15 días a temperatura ambiente y 30 días en refrigeración. Se puede considerar como un método alternativo para alargar la vida útil de las frutas, permitiendo eliminar el uso de envases tradicionales, que son perjudiciales para el ambiente e incorporar compuestos de interés nutricional para mejorar la calidad de los productos y hacerlos más saludables.

CAPÍTULO 9. PERSPECTIVAS

- Optimizar las condiciones de elaboración de los RC, ya que en este estudio se logró aumentar su vida útil en 15 días a temperatura ambiente y en refrigeración hasta 30 días. Ya que se podrían realizar formulación que sean menos permeables e impidan que las fresas pierdan agua, para que el tiempo que se mantuvieron sin presencia de contaminantes puedan presentar las características de calidad requeridas para ser consumidas.
- Evaluar la actividad antifúngica, bacteriana y nematocida de los RC
- Analizar las características y propiedades de los polisacáridos y/o caldo de cultivo de *H. coffeatum*, ya que la mayoría de hongos de este tipo tiene actividades biológicas en el área farmacéutica y cosmetológica.

CAPÍTULO 10. LITERATURA CITADA

Aguilar, P., R. Miranda, A. M. R., Lima, P. M. A., Mosca, J. I., Moreira, A. R., y Eneas-Filho, J. 2011. Effect of a galactomannan coating on mango postharvest physicochemical quality parameters and physiology. *Fruits*. 66: 269-278.

Almeida, A., Reis, J. D., Santos, D., Vieira, T., y Mariana, C. 2011. Estudio de la conservación de la papaya (*Carica papaya* L.) asociado a la aplicación de películas comestibles, [en línea] *Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1: 12.

Alzamora, S., M. Guerrero, S., N. Nieto, A., B., y Vidales, S., L. 2004. Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas. Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

Arvanitoyannis, I., Nakayama, A., y Aiba, S-i. 1998. Edible films made from hydroxypropyl, starch and gelatin and plasticized by polyols and water. *Carbohydrate Polymers*. 36: 105-119.

ASTM international. 2002. "Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting ASTM D882-02". 2009. *In Annual book of ASTM standards*. 14:1-10.

ASTM international. 2005. "Standard methods for water vapor transmission of materials (E96-80)" *Annual book of ASTM Standards*. Philadelphia, Pa: American Society for testing and Materials.

ASTM international. 2008. "Standard test method for water absorption of plastics ASTM D 570-98". *In Annual book of ASTM standards*. 08: 35-38.

Azodanlou R., Darbellay C., Luisier J., L. Villettaz J., C. Amado R. 2003. Quality assessment of strawberries (*Fragaria* species). *J Agric Food Chem*. 51: 715-721.

Babitskaya, G., V. Shcherba, V., V. Puchkova, A., T. y Smirnov, A. D. 2005. Polysaccharides of *Ganoderma lucidum*: Factors Affecting Their Production. En: *Applied Biochemistry and Microbiology*. 41: 169-173.

Barbosa-Canovas, V., G. Fernández- Molina, J., J. Alzamora, M., S. Tapia, S., M. López-Malo, A., y Welti, J. C. 2003. Manual handling and preservation of fruits and vegetables by combined methods for rural areas. *FAO agricultural services bulletin* 149.

Bátori, V., Jabbari. M., Åkesson, Dan., Lennartsson, P., Mohammad, T., y Zamani, A. 2017. Production of pectin-cellulose biofilms: A new approach for citrus waste recycling. *International Journal of Polymer Science*.

Bello-Pérez, L. A. 2011. Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano: efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructura, propiedades mecánicas y de barrera. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10: 445-453.

Beltrán, A., Ramos, M., y Álvarez M. 2010. Estudio de la Vida Útil de Fresas (*Fragaria vesca*) Mediante Tratamiento con Radiación Ultravioleta de Onda Corta (UV-C) *Revista Tecnológica ESPOL*. 23: 17-24.

Berovič, M., Habijanič, J., Zore, I., Wraber, B., Hodzar, D., Boh, B., y Pohleven, F. 2003. Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. *Journal of Biotechnology*. 103: 77–86.

Bósquez, M. 2003. Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia Tanaka*). Tesis de doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa. México.

Bósquez, M., E. Vernon, E., J. Pérez, L., y Guerrero, L. I. 2000. Películas y Cubiertas Comestibles para la Conservación en Fresco de Frutas y Hortalizas. *Industria Alimentaria*. 22:14-29.

Bósquez, M., y Colina M. 1999. Fundamentos y aplicaciones del procesamiento térmico de frutas y hortalizas, UAM, México.

Branda, S., S. Vik, Å., Friedman, L., y Kolter, R. 2005. Biofilms: the matrix revisited. *Trends in microbiology*. 13: 20-26.

Brizuela, M., A. García, L., Pérez, L., y Mansur, M. 1998. Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios. *Revista Iberoamericana de Micología*. 15: 69-74.

Bustos, Ma. 1998. La integración de alimentos irradiados en el comercio, Cuadernos de nutrición, Fomento de nutrición y salud, A. C., julio a gosto, México.

Carneiro-da-Cunha, M., G. Cerqueira, M., A. Souza, W., M. B. Souza, M., P. Teixeira J., A. y Vicente, A.A. 2009. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Journal of Food Engineering*. 95: 379 – 385.

Černá, M., Barros, A., S. Nunes, A., Rocha, S., M. Delgadillo, I., Čopíková, J., y Coimbra, M. A. 2003. Use of FT-IR spectroscopy as a tool for the analysis of polysaccharide food additives. *Carbohydrate Polymers*. 51: 383–389.

Costantini, R., Ventura-Aguilar, R., I. Hernández-López, M., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L. 2018. Potencial antifúngico de nanopartículas de quitosano y extracto de Arándano sobre *Colletotrichum fragariae* en fresa Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha. 19:1

Sánchez, A., Contreras-Esquivel, J., C. Nevárez-Moorillón G., V. y Aguilar C., N. 2015. Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano, CyTA - Journal of Food, 13:1, 17-25.

Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J., A. y Voilley, A. 1998. Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. Critical Rev. Food Sci. 38: 299-313.
Desrosier, W. 1981. Conservación de alimentos, CECSA, México.

Dudley, J., Das, S., Mukherjee, S., y Das, D. K. 2009. Resveratrol, a unique phytoalexin present in red wine, delivers either survival signal or death signal to the ischemic myocardium depending on dose. Journal of Nutritional Biochemistry. 20: 443-452.

Durango, A., M. Soares, N., F. F. y Andrade, N. J. 2006. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. Food Control. 17: 336 – 341.

El-Ghaouth, A.E., Arul, J., Grenier, J. y Asselin, A. 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. Postharvest Pathology and Mycotoxins. 82(4): 398-402.

Eric, D. 2009. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers, Food Technology, ISSN: 0015-6639. 23:13.

Esquivel, R., Martínez, S., y Martínez, J. 2005. Nutrición y salud, Manual moderno, México.

FAO. 2017. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize>

Fang, Q. H., y Zhong, J. J. 2002. Submerged fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of valuable bioactive metabolites – ganoderic acid and polysaccharide. Biochemical Engineering Journal. 10: 61–65.

Feofilova, E. P. 2001. The Kingdom Fungi: Heterogeneity of Physiological and Biochemical Properties and Relationships with Plants, Animals, and Prokaryotes (Review). En: Applied Biochemistry and Microbiology. 37: 124–137.

Fraire-Cordero, M., Yáñez, M., Nieto, D. y Vázquez, G. 2003. Hongos patógenos en fruto de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) en postcosecha. Revista Mexicana de Fitopatología. 21: 285-291.

Gallego S., G. y García A. G. 2009. Obtención de biomasa y exopolisacáridos de *Humphreya coffeata* en cultivo sumergido. Universidad EAFIT Escuela de Ingeniería Departamento de Ingeniería de Procesos Medellín.

Guilbert, S., y Biquet, B. 1986. Technology and application of edible protective films. En "Food packaging and preservation". Editado por Mathlouthi, M. Ed. Elsevier. Londres.

Gao, Y., Tang, W., Dai, X., Gao, H., Chen, G., Ye, J., Chan, E., Koh, H., L. Li, X., y Zhou, S. 2005. Effects of water-soluble *Ganoderma lucidum* polysaccharides on the immune functions of patients with advanced lung cancer. J Med Food. 8:159–68.

García, M., A. Pinotti, A., Martino, M. N. y Zaritzky, N. E. 2009. Characterization of starch and composite edible films and coatings. New York: Springer-Verlag. 169–210 p.

González-Aguilar, G., A. Valenzuela-Soto, E., Lizardi-Mendoza, J. L., Goycoolea, F., Martínez-Téllez, M., VillegasOchoa, M. A., Monroy-Gracia, I. N. y Ayala-Zavala, J. F. 2009. Effect of chitosan coating in preserving deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya 'Maradol'. Journal of the Science of Food and Agriculture. 89: 15-23.

Han, C., Lederer, C., McDaniel, M., y Zhao, Y. 2005. Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*) coated with chitosan-based edible coatings. Journal of Food Science. 70: 172-178.

Hancock, J. F. 1999. Strawberries. CAB International Publishing. New York, USA. 237.

Herrera, T., Ulloa, M., y Ruiz, M. 1990. El reino de los hongos: micología básica aplicada, México: UNAM FCE.

Hincapie, A., S. Martínez, L., Tobón, Y., y Medellín, V. 2005. Diseño para la obtención de micelio y metabolitos de *Ganoderma lucidum* en un sistema de fermentación discontinuo. Trabajo de grado. Universidad EAFIT, Departamento de Ingeniería de Procesos. Área de Biotecnología.

Huang, H., C. Chen, C., I. Hung, C., N. y Liu, Y. C. 2009. Experimental analysis of the oil addition effect on mycelia and polysaccharide productions in *Ganoderma lucidum* submerged culture. En: Bioprocess and Biosystems Engineering. 32:217–224.

Hung PV y Nhi NNY. 2012. Nutritional composition and antioxidant capacity of several edible mushroom grown in the Southern Vietnam. Int Food Research J. 19(2): 611-615. Iwalokun BA, Usen UA, Otunba AA y Olukoya DK. 2007.

Comparative phytochemical evaluation, antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus*. *Afr J Med Med Sci*. 6(15).

Indexfungorum.2019.<http://www.speciesfungorum.org/Names/SynSpecies.asp?RecordID=315260>.

Jong S., C. Birmingham, J. M. 1993. Medicinal and therapeutic value of the shiitake mushroom. *Adv Appl Microbiol*. 39:153–84.

Kester, J., y Fennema, O. 1986. Edible films and coating: a review, food technology, ISSN: 0015-6639, 40:47-59.

Krochta, J. M., Baldwin, E. A., y Nisperos-Carriedo, M. 1994. Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. Technomic Publishing, Co. Basilea, Suiza.

Krochta, J., y De Mulder-Johnston, C. 1997. Edible and Biodegradable Polymer Films: Challenges and Opportunities. *Food Technol*. 51: 61-74.

Lin, D. y Zhao, Y. 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. En: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 6: 60–75.

López-Mata, M. A., Ruiz-Cruz, S., Navarro-Preciado, C., Ornelas-Paz, J. Jesús., Estrada-Alvarado, M. I., Gassos-Ortega L. E., y Rodrigo-García, Joaquín. 2012. Efecto de recubrimientos comestibles de quitosano en la reducción microbiana y conservación de la calidad de fresas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*.14:1

Mali, S., Grossmann, M. V. E., Garcia, M. A., Martino, M. N., y Zaritzky, N. E. 2004. Barrier, mechanical and optical of plasticized yam starch films. *Carbohydrates Polymers*. 56: 129-135.

Mali, S., Grossmann, S., Ysamashita, F., y Grossmann, M.V.E. 2005. Water sorption and mechanical properties cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydrate Polymers*. 60: 283-289.

Mardones, H., Olivares, C., S. Araneda, F., J. y Gómez, F., N. 2009. Etapas del cambio relacionadas con el consumo de frutas y verdura, actividad física y control de peso en estudiantes universitarios chilenos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 59: 304-309.

Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S., Lee, Y. C. 2005. "Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format". *Anal biochem*. 339: 69–72.

Mata, M., Halling, R., y M. Muller, G. 2003. Macrohongos de Costa Rica. Costa Rica: editorial INBio. 2: 146-147.

Maccapa, R. 2015. Efecto de la aplicación de un recubrimiento biodegradable a base de aislado de proteína de suero sobre la vida útil de la chirimoya (*Annona cherimola*), fresa (*Fragaria vesca*) y pera (*Pyrus communis*). (Tesis grado), Universidad Nacional del Altiplano, Puno (Perú).

McHugh, T., y Krochta, J. 1994. Sorbitol-vs glycerol-plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42: 841-845.

Mertely J., C. MacKenzie S., J. y Legard D. E. 2002. Timing of fungicide applications for *Botrytis cinerea* based on development stage of strawberry flowers and fruit. *Plant Dis.* 9: 86

Miller, K.S., y Krochta, J.M. 1997. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 8: 228-237.

Min, Z., Giognian, X., Jian, P. y Vilas, M.S. 2005. Effect of single and combined atmosphere packages on preservation of strawberries. *International Journal of Food Engineering*. 1: 1-11.

Nussinovitch, A., y Lurie S. 1995. Edible Coatings for Fruits and Vegetables. *Postharvest News and Information* 6: 53-57.

Oñate, E., L. 2018. Desarrollo de un recubrimiento comestible para fresa (*Fragaria x ananassa* Duchesne) en base a almidón de papa china (*Colocasia esculenta* Schott) de la variedad blanca. Ambato, Ecuador. Tesis, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato.

Puerta, J.; Zapata, P. 2006. Diseño conceptual de un proceso para la elaboración de un producto funcional a partir de *Ganoderma lucidum*. Trabajo de grado. Universidad EAFIT, Departamento de Ingeniería de Procesos. Área de Biotecnología.

Park H. J., y Chinnan M. S. 1995. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *J Food Eng.* 25:497-507.

Park, S., I. Stan, S., D. Daeschel, M., A. y Zhao, Y.Y. 2005. Antifungal Coatings on Fresh Strawberries (*Fragaria x ananassa*) to Control Mold Growth During Cold Storage. En: *Food Microbiology and Safety*, 70: 202–207.

Pelayo C, Ebeler SE, Kader AA. Postharvest life and flavour quality of three strawberry cultivars kept at 5 °C in air or air + 20 KPa CO₂. *Postharvest Biol Tec.* 2003 Feb; 27 (2): 171-183.

Pérez-Mateos, M., Montero, P., y Gómez-Guillén, M. C. 2009. Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. *Food Hydrocolloids.* 23: 53- 61.

Peterson, M., y Stading, M. 2005. Water vapour permeability and mechanical properties of mixed starch-monomlyceride films and effect of film forming conditions. *Food Hydrocolloids.* 19:123-132.

Porras-Arboleda, S., M. Valdez-Cruz, N., A. Rojano, B., Aguilar, C., Rocha-Zavaleta, L., y Trujillo-Roldan, M. 2009. Mycelial submerged culture of new medicinal mushroom, *Humphreya coffeata* (Berk.) Stey.(Aphyllphoromycetideae) for the production of valuable bioactive metabolites with cytotoxicity, genotoxicity, and antioxidant activity. *International Journal of Medicinal Mushrooms,* 4: 11.

Quintero, C., J. P. Pascual, F., V. y Muñoz, H. A. J. 2010. Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortícola. *Revista Tumbaga.* 5: 93-118.

Restrepo, A., Cortés, M. y Rojando, B. 2010. Potenciación de la capacidad antioxidante en fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) por incorporación de vitamina E utilizando la técnica de impregnación al vacío. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica.* 17: 135-140.

Restrepo, J., I. F. Iván D., y Aristizábal, T. 2010. Conservación de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch cv. Camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis* Miller) y cera de carnaúba. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.* 17: 252-263.

Rhee S., J. Cho, S., Y. Kim, K., M. Cha, D., S. y Park, H. J. 2008. A comparative study of analytical methods for alkali-soluble beta-glucan in medicinal mushroom, Chaga (*Inonotus obliquus*). *Lwt-Food Sci Technol.* 41:545-9.

Ribeiro, C., Vicente A. A., Teixeira J. A., y Miranda C. 2007. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology.* 44: 63-70.

Rivera Dommarco, J., Á. Hernández-Ávila, M., Aguilar-Salinas, C. A., Vadillo-Ortega, F., y Murayama-Rendón, C. 2012. Obesidad en México: recomendaciones para una política de Estado. México: Universidad Nacional Autónoma de México.

Rodríguez-Marín, M. L., Bello-Pérez, L. A., Yee-Madeira, H., y González-Soto, R. A. 2013. Propiedades Mecánicas y De Barrera De Películas Elaboradas Con Harina De Arroz y Plátano Reforzadas Con Nanopartículas: Estudio Con Superficie De Respuesta. Revista Mexicana de Ingeniería Química, vol. 12, núm. 1, pp. 165-176.

Rojas-Graü, M. 2006. "Recubrimiento y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación." Tesis de doctorado. 58 Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad de Lleida. España.

Rojas-Graü, M., A. Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. 2009. Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: A review. Trends in Food Science and Technology. 20: 438-447.

Rojas-Graü, M., A. Tapia, M., S. Rodríguez, F., J. Carmona, A., J. y Martín-Belloso, O. 2007. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut fuji apples. Food Hydrocolloids, 21: 118–127.

Romero-Bastida, C., A. Bello-Pérez, L., A. García, M., A. Martino, M., N. Solorza-Feria, J., y Zaritzky, N. E. 2005. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. Carbohydrate Polymers. 60: 235-244.

Rusell, R. y Paterson, M. 2006. *Ganoderma* – A therapeutic fungal biofactory. En: Phytochemistry, No. 67:1985-2001.

Saavedra, N. y Algecira N. 2010. Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína de soya en la conservación de fresas. Revista Nova 8(14): 171-182.

Santafé, G., y Zuluaga, J. 2007. Búsqueda de compuestos bioactivos en hongos de la familia Ganodermataceae del departamento de Córdoba. Montería. Proyecto de investigación. Universidad de Córdoba. Departamento de química.

Sanz, C., Pérez, A., G. Olías, R., Olías, J. M. 2006. Quality of strawberries packed with perforated polypropylene. J. Food Sci. 64: 748-752.

Saxena, M., Saxena, J., y Prodhon, A. 2012. Flavonoids and phenolic acids astioxidants in plants and human health. International Journal of Pharmaceutical sciences review and reseach. 16: 130-134.

Shafir, S., Dag, A., Bilu, A., Abu, T., y Elad, M. Y. 2006. Honey bee dispersal of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* T39: effectiveness in suppressing *Botrytis cinerea* on strawberry under field conditions. J Plant Pathol.116: 119-128.

Solis, S. 2016. "Elaboración y Caracterización De Películas Comestibles Elaboradas Con Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)". Tesis para obtener el título de Químico en Alimentos, Universidad Autónoma del Estado de México.

Soto, H. 2009. Envases para alimentos. Cuadernos de nutrición, enero febrero. México.

Souza, M. 2010. Polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. tree gum (*Pollicaju*) as a coating for Tommy Atkins mangoes. Chemical Papers, 64 (4) 475 – 481.

Sperling, L. H. 2005. Introduction to physical polymer science. Hoboken, New Jersey: John Wiley y Sons, Inc.

Supramani, S., Ahmad, R., Ilham, Z., Annuar, M. S. M., Klaus, A., y Wan-Mohtar, W. A. A. Q. 2019. Optimisation of biomass, exopolysaccharide and intracellular polysaccharide production from the mycelium of an identified *Ganoderma lucidum* strain QRS 5120 using response surface methodology. AIMS Microbiology, 5(1), 19-38.

Tang, Y., J. y Zhong, J. J. 2002. Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid. En: Enzyme and Microbial Technology. 31: 20–28.

Tang, Y., J. Zhu, L., W. Li, H., M. y LI, D. S. 2007. Submerged Culture of Mushrooms in Bioreactors Challenges, Current State-of-the-Art, and Future Prospects. En: Food Technology and Biotechnology. 45: 221–229.

Thygesen, L., G. Løkke, M., M. Micklander, E., y Engelsen, S. B. 2003. Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. Trends in Food Science & Technology. 14: 50-57.

Trejo, Ma. 2010. "Aplicación de recubrimientos comestibles." Taller multidisciplinario de ingeniería en alimentos-procesos tecnológicos de frutas y hortalizas. Facultad de estudios superiores Cuautitlán. Universidad nacional autónoma de México.

Tripathi, S., Mehrotra, G., K. y Dutta, P. K. 2010. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly (vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications. Carbohydrate Polymers. 79: 711–716.

Turhan, K., N. y Sahbaz F. 2004. Water Vapor Permeability, Tensile Properties and Solubility of Methylcellulose-Based Edible Films, J. Food Eng. 61:459-466.

Ubaidillah N, Hafizah N, Abdullah N, et al. (2015) Isolation of the intracellular and extracellular polysaccharides of *Ganoderma neojaponicum* (Imazeki) and characterization of their immunomodulatory properties. *Electron J Biotech*18: 188–195.

USDA, ARS. 2004. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks. [Internet]. Beltsville, EEUU: USDA, ARS.

Wagner, R., Mitchell, D., A. Lanzl, G., Lopez De Almeida, A., y Berovič, M. 2003. Current Techniques for the Cultivation of *Ganoderma lucidum* for the Production of Biomass, Ganoderic Acid and Polysaccharides. En: *Food Technology and Biotechnology*. 41: 371–382.

Wan, I., Latif, N., A. Harvey, L., M. y McNeil, B. 2016. Production of exopolysaccharide by *Ganoderma lucidum* in a repeated-batch fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 6: 91-101.

Wootton-Beard, P., C. Moran, A., y Ryan, L. 2010. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin Ciocalteu methods. *Food Research International*, 44: 217-224.

Xu, P.; Ding, Z.Y.; Qian, Z.; Zhao, C.X.; ZhanG, K.C. Improved production of mycelial biomass and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* SB97 using complex media. En: *Enzyme and Microbial Technology*, No. 42 (2008). pp. 325–331.

Yang, F., C. Ke, Y., y Kuo, S. 2000. Effect of fatty acids on the mycelia growth and polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in shake flask cultures. En: *Enzyme and Microbial Technology*, No. 27: 295–301.

Yang, F., C. y Liao, C. B. 1998. Effects of cultivating conditions on the mycelial growth of *Ganoderma lucidum* in submerged flask cultures. En: *Bioprocess Engineering*. 19: 233 – 236.

Yuen J., W. M. y Gohel, M. D. I. 2005. Anticancer effects of *Ganoderma lucidum*: a review of scientific evidence. *Nutr Cancer*. 53:11-7.



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales

"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"



**CENTRO DE
INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS
UAEM**

Cuernavaca, Mor., a 28 de octubre de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA M.M.R.N.
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A PARTIR DEL HONGO *Humphreya coffeatum*** que presenta la alumna **Alma Rosa Agapito Ocampo**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

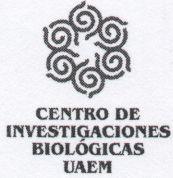
Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dra. Maura Téllez Téllez
Catedrática de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
POSGRADO



Maestría en Manejo de Recursos Naturales

"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 28 de octubre de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA M.M.R.N.
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A PARTIR DEL HONGO *Humphreya coffeatum*** que presenta la alumna **Alma Rosa Agapito Ocampo**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dra. Liliana Aguilar Marcelino (CENID-SAI,INIFAP)

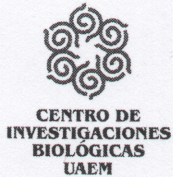


CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales

"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"



Cuernavaca, Mor., a 28 de octubre de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA M.M.R.N.
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A PARTIR DEL HONGO *Humphreya coffeatum*** que presenta la alumna **Alma Rosa Agapito Ocampo**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

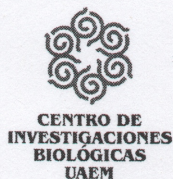
Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Gerardo Díaz Godínez (UAT)

Maestría en Manejo de Recursos Naturales

"1919-2019: en memoria del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 28 de octubre de 2019.

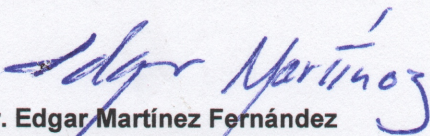


DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA M.M.R.N.
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado **ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A PARTIR DEL HONGO *Humphreya coffeatum***: que presenta la alumna **Alma Rosa Agapito Ocampo**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dr. Edgar Martínez Fernández
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas

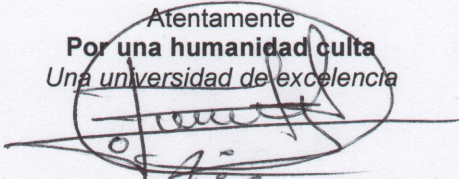
Cuernavaca, Mor., a 28 de octubre de 2019.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA M.M.R.N.
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
PRESENTE

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A PARTIR DEL HONGO *Humphreya coffeatum*** que presenta la alumna **Alma Rosa Agapito Ocampo**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedó de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dr. Edgar García Hernández