

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



“Caracterización fisicoquímica y microbiológica de cubiertas comestibles a base de mucílago de chía (*Hyptis suaveolens*) aplicadas en manzana para prolongar la vida de anaquel”

Presentado por:

GERMÁN CUAPIO MORALES

Que se somete a consideración de H. jurado Examinador Como Requisito
Parcial Para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO, ABRIL DE 2012.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Caracterización fisicoquímica y microbiológica de cubiertas comestibles a base de mucílago de chía (*Hyptis suaveolens*) aplicadas en manzana para prolongar la vida de anaquel.

Presentado por:

GERMÁN CUAPIO MORALES

Que se somete a consideración de H. jurado Examinador Como Requisito Parcial Para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Asesor Principal



Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez

Sinodal



Dr. Mario Alberto Cruz Hernández

Sinodal



Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez.

Suplente



MC. Emilio Ochoa Reyes



Dr. Ramiro López Trujillo

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO, ABRIL DE 2012.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por darme la vida, la oportunidad de vivir, acompañarme en cada instante de mi vida y por darme las fuerzas para seguir adelante para culminar esta etapa de mi vida.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, **mi Alma Mater**, por haberme brindado la oportunidad de obtener una formación profesional.

A la **Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez**, por darme la oportunidad de realizar este proyecto, por su disposición, tiempo, confianza y su cooperación para la elaboración de esta investigación.

A los Doctores: **Mario Alberto Cruz Hernández y Ana Verónica Charles Rodríguez**, por su colaboración y apoyo para con esta investigación.

Al **Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, así como a todos mis maestros que me brindaron sus conocimientos, que contribuyeron en mi formación profesional. En especial a la **Dra. María de Lourdes Morales Caballero** y a la **MC. María Hernández González**.

A el Departamento de producción animal, en especial a la **LCN Laura Maricela Lara López** y **T.L.Q. Carlos Arévalo Sanmiguel** gracias por su tiempo, disposición y apoyo en la realización de esta tesis.

Al Departamento de Química Orgánica, en especial a la **Dra. Aidé Sáenz Galindo** y **M. C Emilio Ochoa Reyes** por su apreciable tiempo y enseñanzas ofrecidas para la elaboración y avance de este trabajo.

A mis amigos y compañeros: Florencio Rodríguez, Jesús Inocente, Saira Villar, María Rosalía García, Angélica Velázquez, Luz Fuentes, Víctor Sánchez, Norma Butrón, Brenda Vázquez, Raymundo Larios, Blanquita, Gloria Angélica, Javier López, Daniel Siller, Jorge Alejandro Siller, Paul, Gaby, Viki, Cony, Betty Negrete, Mary Cruz por brindarme su amistad incondicional, apoyo y por los momentos inolvidables que pasamos juntos a lo largo de nuestra estancia en la universidad.

*Nunca pongas en duda que un pequeño
grupo de ciudadanos preocupados y
comprometidos puedan cambiar el mundo;
de hecho, es lo único que lo ha cambiado.*

Margaret Mead

DEDICATORIAS

A Dios por iluminar mi camino, darme salud y la fuerza para seguir adelante; por haberme permitido culminar esta etapa de mi vida.

A mis padres:

A mi padre: Paulino Cuapio Zamora

A mi madre: Francisca Morales Rosete

Con cariño y afecto a mis padres por creer en mí, por darme la vida, por sus sabios consejos de luchar y seguir a delante, por darme la oportunidad de tener una formación profesional, ya que para mí representa la mejor herencia que los padres pueden otorgar; pero sobre todo, por el gran apoyo y sacrificio durante mi formación como profesionista, gracias por estar a mi lado siempre y en todo momento dios los cuide y los colme de bendiciones. Mis más sinceras gracias, admiración y respeto, los amo.

A mis hermanos:

Cecilio, Marcelo, Alberto, Cándido, René, Uswaldo, Omar, me faltan palabras para decirles lo muy agradecido que estoy con ustedes, ya que formaron parte de mi formación profesional, gracias por todo su apoyo, comprensión y por estar conmigo, además de su apoyo económico que me brindaron a lo largo de mi carrera, gracias a ustedes he alcanzado grandes metas, lo cual les estaré eternamente agradecido por todo lo que recibí de ustedes.

A mi novia *Beatriz del Carmen Coutiño Laguna*, gracias por todo tu cariño y amor, por estar a mi lado, por todos aquellos momentos felices y apoyo incondicional que me has brindado, gracias amor soy muy feliz a tu lado.

¡Si puedes! Todo es posible al que cree.

San Marcos 9:23

ÍNDICE GENERAL

Página

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1 Antecedentes	3
1.2 Justificación	4
1.3 Hipótesis	6
1.4 Objetivo general	6
1.5 Objetivos específicos	6
2. REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1 La chía	7
2.1.1 Fruto	7
2.1.2 Mucílago	9
2.1.3 Composición	10
2.1.3.1 Fuente de Ácidos Grasos Esenciales	10
2.1.3.2 Fuente de Antioxidantes	10
2.1.3.3 Fuente de Proteínas y Aminoácidos	11
2.1.3.4 Fuente de Vitaminas del grupo B y Minerales	12
2.1.4 Aplicaciones	12
2.2 Recubrimientos Comestibles	13
2.3 Componentes de los recubrimientos comestibles y aplicaciones	14
2.3.1 Polisacáridos	15
2.3.1.1 Quitosano	15
2.3.1.2 Mucílago	16
2.3.2 Lípidos	16
2.3.3 Hidrocoloides	17
2.3.4 Proteínas	17
2.4 Técnicas de aplicación del recubrimiento	17
2.4.1 Por inmersión	18
2.4.2 Por aspersión	18
2.4.3 Por frotación	18
2.5 Agentes antimicrobianos	18
2.5.1 Agentes antimicrobianos naturales	19
2.5.2 Plantas con actividad antimicrobiana	20
2.6 El reino de los hongos	21
2.6.1 Especies de <i>Penicillium spp</i>	21
2.6.2 <i>Aspergillus niger</i>	22
2.7 Generalidades de la manzana	23
2.7.1 Origen y variedades	23
2.7.2 Características	24
2.7.3 Propiedades nutritivas	25
3. MATERIALES Y METODOS	26
3.1 Obtención del mucilago de chía (<i>Hyptis suaveolens</i>)	26

3.2 Análisis Físicoquímico	27
3.2.1 Determinación de materia seca total o sólidos	27
3.2.2 Determinación de cenizas totales (minerales)	27
3.2.3 Determinación de proteína cruda	28
3.2.4 Determinación de extracto etéreo o grasa total (Método Soxleth)	29
3.2.5 Determinación de fibra cruda	30
3.2.6 Determinación de contenido de pectina	31
3.2.7 Determinación de viscosidad	33
3.2.8 Elaboración y aplicación del recubrimiento	33
3.3 Análisis Microbiológico	34
3.3.1 Conteo total de esporas por ml	34
3.3.2 Determinación de la concentración de inhibición en hongos filamentosos	36
3.3.3 Crecimiento en medio sólido	36
3.4 Aplicación del recubrimiento para la evaluación sensorial y vida de anaquel	37
3.4.1 Evaluación sensorial	37
3.4.2 Índice de deterioro del fruto, aplicado en manzanas	38
4. ANÁLISIS Y RESULTADOS	39
5. CONCLUSIONES	53
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
7. ANEXOS	58

ÌNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Clasificación de aminoácidos esenciales y no esenciales en la semilla de Chía.	12
Cuadro 2. Plantas utilizadas como saborizantes en alimentos y con actividad antimicrobiana (López, 1995).	20
Cuadro 3. Composición nutritiva de la manzana (Roja – Golden – Granny Smith).	25
Cuadro 4. Solución de recubrimiento.	33
Cuadro 5: % de obtención de mucílago de chía (<i>Hyptis suaveolens</i>).	40
Cuadro 6. Resultados Obtenidos del análisis Bromatológico Realizado en la semilla Chía (<i>Hyptis suaveolens</i>).	40
Cuadro 7. Cantidad de esporas obtenidas/ml de cada cepa de hongo.	43
Cuadro 8. Resultados de un análisis sensorial en el que 40 jueces ordenaron por rangos a dos series de muestras (1 = menor, 2 = intermedio, 3 = mayor preferencia). n = 40.	48
Cuadro 9. Diferencia absoluta entre suma de rangos.	49
Cuadro 10. Resultados de un análisis sensorial en el que 40 jueces ordenaron por rango para la segunda serie de muestras (1 = menor, 2 = intermedio, 3 = mayor preferencia). n = 40.	49
Cuadro 11. Diferencia entre la suma de rangos.	50
Cuadro 12. Resultados expresados como % índice de deterioro.	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1. Micrografías obtenidas por SEM de núculas de chía; (A) Sección longitudinal, estructura interna (x187), P: pericarpio; T: testa; E: endosperma; C: cotiledones; B: vista lateral (x145); C: superficie del pericarpio (x1500); D: sección transversal del pericarpio (x 3000), c: cutícula; epi: epicarpo; meso: mesocarpio; lc: capa de esclereidas; endo: endocarpio.	8
Figura 2. Micrografías obtenidas por SEM de núculas de chía hidratadas durante diferentes tiempos (x80); E: 5; F:15; G:30 y H:60 minutos.	8
Figura 3. Conidióforos del genero <i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i>	22
Figura 4. Estructura del ácido poligalacturónico.	32
Figura 5. Espectro FT-IR (ATR).	33
Figura 6. Determinación de viscosidad del recubrimiento utilizando un Reómetro rotatorio, MCR-301 de Antón Paar. Temperatura 20 °C.	33
Figura 7. Solución de recubrimiento de mucilago de Chía.	34
Figura 8. Preparación del medio.	35
Figura 9. Extracción de esporas.	36
Figura 10. Siembra de alícuotas de 10 µl de esporas en cajas Petri.	37
Figura 11. Aplicación del recubrimiento en manzanas.	39
Figura 12. Resultados Obtenidos del Análisis espectro FT-IR (ATR), Determinación de contenido de Pectina.	42
Figura 13. Comportamiento reológico de un fluido Newtoniano a diferentes concentraciones de Glicerina (3%, 4% y 5%).	43

Figura 14. Velocidad de crecimiento de <i>A. Níger</i> en medio específico encubados a temperatura de 30 °C.	44
Figura 15. (%) de Inhibición de <i>A. níger</i> en medio envenenado a temperatura de 30°C.	45
Figura 16. Velocidad de crecimiento de <i>Penicillium spp.</i> En medio envenenado encubados a temperatura de 30 °C.	46
Figura 17. (%) de Inhibición de <i>Penicillium spp.</i> en medio envenenado a temperatura de 30°C.	47
Figura 18. Índice de deterioro de manzana sin cubiertas y almacenados durante 7 días a 37°	52
Figura 19. Índice de deterioro de manzana con cubiertas y antimicrobiano almacenados durante 15 días a 37°.	52

ÍNDICE DE ECUACIONES

	Página
Ecuación 1	35
Ecuación 2	38

RESUMEN

El desarrollo y caracterización de películas y recubrimientos comestibles ha atraído la atención de muchos investigadores debido a la gran variedad de aplicaciones que ofrecen en general a la industria alimentaria, y en particular a la conservación de frutas y hortalizas frescas por su selectiva funcionalidad para regular la pérdida de vapor de agua, la migración de lípidos y el transporte gaseoso (CO₂, O₂) lo que permite mejorar la calidad y extender la vida útil de estos productos.

La presente investigación fue evaluar el efecto del recubrimiento a base de mucílago de Chía (*Hyptis suaveolens*) aplicada en manzanas, para prolongar la vida de anaquel.

En esta investigación se evaluaron las características fisicoquímicas del mucílago de la variedad violeta, para su posible utilización en la industria alimentaria como recubrimiento comestible.

Para la extracción del mucílago se aplicó el método de Gowda, (1984) modificando la temperatura, velocidad y tiempo de extracción y recuperando el mucílago por filtración a través de una bomba al vacío. El rendimiento obtenido para la variedad "Violeta" fue 16 %. El mucílago se obtuvo en forma líquida color blanco o ligeramente gris, con un contenido de cenizas de 5.08 %, extracto etéreo 2.95 %, proteína 19.29 y un contenido de fibra dietaria total de 31.66 % respectivamente.

En esta investigación se analizó el uso de la canela como inhibidor de crecimiento antifúngico natural. La canela se añadió junto con el mucílago y fue utilizado en diferentes concentraciones, 0.25 %, 0.5%, 0.75% y 1% para conocer el comportamiento de los hongos ante este antimicrobiano.

Palabras claves: recubrimientos comestibles, mucílago, inhibidores, canela.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Hay evidencia científica que muestra que la semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) comenzó a usarse en la alimentación humana unos 3,500 años antes de Cristo y se convirtió en un cultivo básico en el centro de México entre 1,500 y 900 años antes de Cristo. La semilla de chía fue utilizada como alimento por los indios del oeste y del sur de México. Los aztecas la consumían debido a su aporte energético. Los indios del oeste de Norteamérica comían sólo el equivalente de una cucharada para resistir un viaje de 14 horas.

La Chía (*Salvia hispánica* L.), es una planta anual de verano que pertenece a la familia de las Labiadas (*Labiatae*). Fue uno de los cultivos principales de las sociedades precolombinas, superado sólo por el maíz y el frijol en cuanto a relevancia. Durante mucho tiempo fue un elemento básico en la dieta de dichas sociedades. Sin embargo, con el paso del tiempo su uso cayó en el olvido (Salgado-Cruz *et al.*, 2005), y no fue sino hasta finales del siglo XX que el interés por la Chía resurgió, ya que los resultados de algunos estudios la consideran una buena fuente de fibra, proteína y antioxidantes (Bushway *et al.*, 1981).

“Chía” o “Chan” es un vocablo náhuatl que agrupa varias especies botánicas de los géneros *Salvia*, *Hyptis*, *Amaranthus* y *Chenopodium*; su cultivo y utilización fueron considerados por Kirchoff (1960) como un elemento esencial de la cultura mesoamericana. Debido a que su denominación es en lengua indígena y a que existen descripciones precisas de sus formas de uso, es probable que el conocimiento y la domesticación de estas plantas se remonte a una etapa previa a la época prehispánica (Gillet, 1981).

El género *Hyptis* tiene cerca de 400 especies en todo el mundo siendo Sudamérica quien concentra la mayor diversidad de especies, principalmente en el norte de Brasil (Aluri, *et al.* 1997). Pertenece a la familia *Lamiaceae* y se encuentra distribuida en los trópicos, sub-trópicos y lugares templados del mundo. En México

esta familia comprende 26 géneros y aproximadamente 512 especies, siendo las más abundantes la *Salvia polystachya* (chía, tepechía o chinetlaco), *Salvia hispánica* de la que se produce la chía comercial e *Hyptis suaveolens* (chía gorda, chía grande, chía de Colima, Chan) (INIFAP, 1995).

En el periodo de 1932-1935, el cultivo de la chía en México ocupaba una superficie promedio anual de 74 ha en los Estados de Jalisco, Puebla, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas (Rulfo, 1937). Actualmente, se cultivada en Acatic, Jalisco, en Atzitzihuacan, Puebla, y en Olinalá, Guerrero.

La forma tradicional de uso del chan como alimento es la elaboración de una bebida refrescante edulcorada con piloncillo conocida como “bate”; también se consume como agua fresca y en paletas. En algunos lugares se agrega al maíz para hacer pinole, el chan le da un mejor sabor al pinole, y no causa problemas de acidez en el estómago. También se usa como alimento para adelgazar o bajar de peso. (Malele, 2003) La harina de la semilla mezclada con sorgo o harina de trigo es usada para hacer pastelillos horneados, galletas y otras preparaciones. (Aluri, *et al.* 2003; Vergara-Santana y Madrigal-Ambriz, 2008).

En el presente trabajo se utilizará el mucílago de la chía para la elaboración de recubrimiento comestible en manzanas para evitar la pérdida de humedad, color, textura e impedir el crecimiento microbiano, proporcionándole una mejor calidad al producto y prolongar su vida de anaquel.

1.2 Justificación

El estilo de vida de los consumidores modernos, unido al deseo de adquirir productos naturales y beneficiosos para la salud, ha hecho que la producción y consumo de frutas con proceso mínimo se hayan visto incrementados en los últimos años. Sin embargo, las operaciones de procesado resultan costosas y en ocasiones alteran la integridad de la fruta acarreado una serie de cambios que pueden ir en detrimento de la calidad del producto final.

Las coberturas comestibles están siendo consideradas como una estrategia para reducir los efectos perjudiciales que inflige el procesado mínimo en los tejidos vegetales de frutas frescas cortadas. Así, la barrera artificial semipermeable que constituye una cobertura polimérica, contribuye a la extensión de la vida útil del producto al reducir la migración de humedad y de solutos, el intercambio de gases, la respiración, y otras reacciones oxidativas, disminuyendo así los desórdenes fisiológicos. Además, las coberturas pueden servir como soporte de algunos aditivos, tales como antioxidantes, antimicrobianos, colorantes, saborizantes, nutrientes y hasta organismos benéficos.

Muchos investigadores concuerdan en señalar que el interés en el desarrollo y uso de empaques, a base de biomateriales para prolongar la vida de anaquel y mejorar la calidad de los productos alimenticios, ha venido aumentando debido a la necesidad cada vez mayores de reducir el impacto de la contaminación ambiental que se ha producido debido al uso de plásticos y envases sintéticos o no degradables.

Otro factor importante en la actualidad que ha llevado a la elaboración de películas y recubrimientos comestibles es el incremento en las expectativas del consumidor por una mayor variedad de productos frescos con mayor vida útil. Por tal razón las películas o recubrimientos comestibles resulta una forma innovadora y efectiva de proteger al alimento, además de contribuir con técnicas novedosas que

permitan ser aplicadas con la finalidad de mejorar la calidad y vida post-cosecha de los productos.

Por lo anterior, este proyecto fue planteado y desarrollado como una contribución en la investigación de los materiales biodegradables utilizados para prolongar la vida de anaquel de alimentos frescos, así como incrementar las propiedades nutricionales del mismo debido a la formulación química de la cubierta comestible elaborada.

1.3 Hipótesis

La aplicación del recubrimiento de mucílago de la semilla de chía (*Hyptis suaveolens*) con canela, aplicada en manzana elimina y/o inhibe el crecimiento de hongos (*A. niger* y *Penicillium spp.*). Prolongando la vida de anaquel del fruto en estudio.

1.4 Objetivo general

Evaluar el efecto inhibitorio de crecimiento de hongos (*A. niger* y *Penicillium spp.*) mediante el empleo de mucilago de chía (*Hyptis suaveolens*) y canela, aplicado como recubrimiento en manzana.

1.5 Objetivos específicos

- Realizar el método de extracción del mucílago de chía (*Hyptis Suaveolens*) método de Gowda (1984) modificado.
- Realizar un análisis Fisicoquímico para establecer su composición nutrimental.
- Determinar el efecto de la aplicación del recubrimiento de mucílago de Chía con extracto de canela y evaluar el efecto de la inoculación de hongos *A. niger* y *Penicillium* en medio sólido.
- Realizar la aplicación del recubrimiento comestible sobre la manzana para su evaluación sensorial y la vida de anaquel.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 La Chía

La Chía (*Salvia hispánica L.*) es una planta de la familia de las *Lamiaceae* (familia de las mentas). Es una herbácea anual, que puede alcanzar hasta dos metros de altura. Las hojas miden de 4 a 8 cm. de largo y de 3 a 5 cm. de ancho. Las flores son hermafroditas, de color violeta. Florece entre julio y agosto y se cultiva, sobre todo, en México, Guatemala y Bolivia. La planta de Chía requiere un clima tropical o sub-tropical. Al cabo del verano, las flores dan lugar a un fruto en forma de "aqueno indehiscente".

La semilla es rica en mucílago, fécula y aceite; tiene unos 2 mm de largo por 1,5 mm de ancho. Es ovalada y lustrosa, de color pardogrisáceo a marrón oscuro.

La ciencia actual explica por qué las antiguas civilizaciones consideraban a la chía un componente básico de su dieta. La composición química de la chía y su valor nutricional, le confiere un gran potencial para la alimentación. Estas semillas ofrecen ahora al mundo una nueva oportunidad para mejorar la nutrición humana, siendo una fuente natural de ácidos grasos Omega-3, antioxidantes, proteínas, vitaminas, minerales y fibra dietética.

2.1.1 Fruto

El fruto de chía consiste en cuatro pequeñas núculas, similares a un aquenio indehiscente, cada una de las cuales contiene una única semilla. Cada una de estas núculas tiene un pericarpio claramente estratificado: cutícula, epicarpio, mesocarpio, capa de esclereidas y endocarpio, el cual está en contacto con la testa de la semilla. La Figura 1 muestra las micrografías obtenidas por SEM de las núculas oscuras: glabras, de forma elipsoidal, compuestas por la semilla verdadera y el pericarpio que la rodea. La semilla verdadera consta de una cubierta seminal (testa), el endosperma y el embrión, compuesto principalmente por los cotiledones.

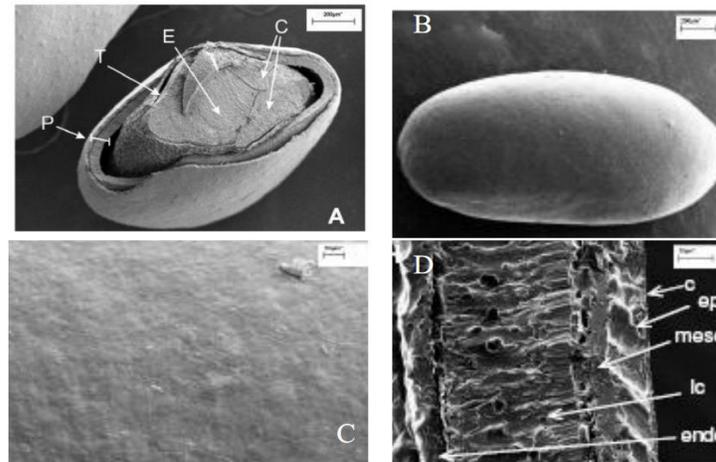


Figura 1. Micrografías obtenidas por SEM de núculas de chía; (A) Sección longitudinal, estructura interna (x187), P: pericarpio; T: testa; E: endosperma; C: cotiledones; B: vista lateral (x145); C: superficie del pericarpio (x1500); D: sección transversal del pericarpio (x 3000), c: cutícula; epi: epicarpio; meso: mesocarpio; lc: capa de esclereidas; endo: endocarpio.

En el epicarpio (Figura 1D) se encuentran células que producen mucílago cuando se las humedece. Las paredes anticlinales de las células que lo forman llevan refuerzos de fibrillas celulósicas espiraladas acompañadas de inclusiones de morfología y composición variada. Cuando las núculas entran en contacto con el agua, el epicarpio se hincha, la cutícula se rompe al agotar su elasticidad y el contenido de las células se derrama como mucílago rodeando toda la superficie del fruto, quedando adherido a la misma con notable tenacidad (Figura 2).

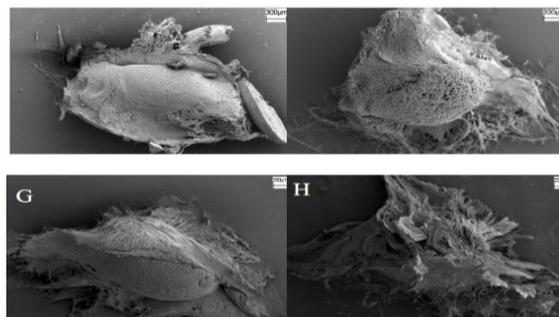


Figura 2. Micrografías obtenidas por SEM de núculas de chía hidratadas durante diferentes tiempos (x80); E: 5; F:15; G:30 y H:60 minutos.

2.1.2 Mucílago

La semilla de *Hyptis Suaveolens* (L.) Poit., al ponerse en contacto con el agua forma una barrera gelatinosa en su superficie a la cual se le llama mucílago, constituido principalmente por fibra dietaría.

El gran interés por la fibra dietaría se remonta a los años 70, cuando se empezaron a realizar estudios epidemiológicos que relacionaron la deficiencia de fibra dietaría con enfermedades que se presentan principalmente en países occidentales, como la constipación, pólipos, cáncer al colon, y trastornos metabólicos como obesidad y enfermedades coronarias (Pascal, 1996).

El uso de gomas, mucílagos y pectinas como aditivos en los alimentos es de uso cada vez mas común en la industria de los alimentos por sus diversos usos; agente espesante, emulsificante, gelatinizante y estabilizante. (Sánchez, *et al.* 1995)

La fibra dietaría se define como los carbohidratos complejos de las plantas que los seres humanos no digieren porque carecen de las enzimas necesarias. La fibra se divide en dos categorías: soluble e insoluble. Mientras que la fibra insoluble pasa a través de la zona digestiva relativamente sin cambios, la fibra soluble se disuelve para formar un gel suave. Las pectinas, las gomas, y los mucílagos son ejemplos de la fibra soluble. Algunos alimentos funcionales que contienen la fibra soluble son albaricoques, fruta cítrica, avena, lentejas, y alubias secas y guisantes (Jenkins, *et al.* 2000).

El mucílago de la semilla de Chía, no solamente tiene importancia por su valor nutricional, sino además, porque tiene una naturaleza hidrocoloide y gelificante, lo cual es una propiedad importante no solamente en la industria de alimentos, sino también en la industria de la cosmetología (Tosco G., 2004).

Se ha demostrado que el mucílago de Chía (*Salvia hispánica* L.), ingerido solo o en combinación con la semilla, Interactúa sobre el metabolismo de lípidos, disminuyendo la absorción intestinal de ácidos grasos, colesterol y el arrastre de sales biliares, aumenta la pérdida de colesterol a través de las heces, además de

inhibir la síntesis endógena de colesterol y desaceleración de la digestión, la absorción de nutrimentos; el mucílago de la Chía forma geles de alta viscosidad que producen distensión gástrica, enlentecimiento del vaciado gástrico y sensación de saciedad, Todo ello convierte al mucílago en un alimento nutritivo (Hentry, H. S., 1990).

2.1.3 Composición

2.1.3.1 Fuente de Ácidos Grasos Esenciales

Las semillas de Chía representan la fuente vegetal con más alta concentración de Omega 3. Poseen un 33% de aceite, del cual el ácido alfa-linolénico (omega 3) representa el 62% y el linoleico (omega 6) el 20%. La Chía es el cultivo con mayor porcentaje de ácidos grasos esenciales (AGE) al tener el 82% de sus lípidos con dicha característica.

Se denominan ácidos grasos esenciales (AGE) a un grupo de ácidos grasos que el organismo no puede fabricar y que tienen que ser ingeridos a través de los alimentos o de los complementos. Se diferencian de los no esenciales (ácidos grasos saturados y monoinsaturados) en que estos últimos se pueden obtener a partir de otros nutrientes.

Los ácidos grasos esenciales (AGE) tienen funciones muy importantes en el organismo: ayudan a prevenir enfermedades cardiovasculares, a normalizar la tensión arterial elevada, a mantener la flexibilidad de las membranas celulares, reducen el nivel de colesterol, protegen el corazón, mejoran la salud del sistema nervioso e inmunológico, etc.

2.1.3.2 Fuente de Antioxidantes

Además de ácidos grasos esenciales, las semillas de Chía poseen una importante cantidad de antioxidantes, especialmente, flavonoides. Su riqueza en antioxidantes permite que el aceite y la harina de Chía se conserven durante largos períodos de tiempo sin enranciarse, por lo que los Mayas almacenaban estos

productos sin ningún tipo de conservante. Los antioxidantes más importantes que podemos encontrar en estas semillas son: el ácido clorogénico, el ácido cafeico, la miricetina, el kaempferol, la quercitina, el betacaroteno (vitamina E) y el tocoferol (vitamina E).

Los antioxidantes aportan múltiples beneficios al organismo; su función principal es eliminar los radicales libres que se producen como resultado de la oxidación celular. Un número limitado y controlado de estos elementos resulta beneficioso para el organismo, por el papel que desempeñan en el organismo dentro del sistema inmunológico, dado que son capaces de eliminar microorganismos patógenos. Cuando el número de radicales libres aumenta y se inestabiliza produce resultados negativos. Así, por ejemplo, se ha visto la relación que existe entre estas moléculas y ciertas enfermedades de carácter degenerativo, como alteraciones del aparato circulatorio, del sistema nervioso y otras enfermedades graves o el envejecimiento precoz. Estos resultados negativos se producen porque los radicales libres alteran el ADN de las células, impidiendo la renovación celular o alterando su normal funcionamiento.

2.1.3.3 Fuente de Proteínas y Aminoácidos

Los aminoácidos son pequeñas moléculas cuya unión forma a las proteínas, por lo tanto, podemos decir que las proteínas están compuestas por cadenas de aminoácidos. En el ser humano algunos aminoácidos son sintetizados por el propio organismo mientras que otros deben ser ingeridos a través de los alimentos. A los aminoácidos que pueden ser sintetizados por el propio organismo se les llama aminoácidos no esenciales, mientras que aquellos que deben obtenerse de fuentes externas se los denomina aminoácidos esenciales. Cabe mencionar que la Chía esta certificada como un alimento libre de gluten, por lo tanto, apto para pacientes celíacos.

Por su alto contenido en proteínas, la semilla de Chía ayuda a construir y regenerar músculos y tejidos, es ideal para deportistas y para las etapas del crecimiento.

Las semillas de Chía contienen un 23% de proteínas y en su composición están presentes los aminoácidos presentes en el cuadro 1:

Cuadro 1. Clasificación de aminoácidos esenciales y no esenciales en la semilla de Chía.

Aminoácidos esenciales	Aminoácidos no esenciales
Fenilalanina	Alanina
Metionina	Acido aspártico
Histidina	Glicina
Triptófano	Serina
Treonina	Acido glutámico
Leucina	Arginina
Isoleucina	Tirosina
Lisina	Cisteína
Valina	Glutamina
	Prolina

2.1.3.4 Fuente de Vitaminas del grupo B y Minerales

La semilla de Chía es una buena fuente de vitaminas del complejo B (B1, B2, B3, B6 y B8), vitamina E y vitamina A. Además contiene calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro, zinc, selenio, boro y cobre. Otra ventaja es el muy bajo contenido en sodio que tiene esta semilla.

2.1.4 Aplicaciones

En la actualidad, mucha gente utiliza esta milenaria semilla en la preparación de una bebida refrescante y popular llamada “chía fresca”, que se consume tanto en México y América Central como en California y Arizona (Eatchia, 2002).

La semilla de la chía tiene un alto contenido proteínico por lo que se utiliza principalmente como alimento para el ganado. El mucílago de la semilla puede ser útil como aditivo alimenticio.

Debido al alto contenido proteínico y de ácidos grasos omega 3, así como su gran resistencia a las sequías, este cultivo resulta atractivo para los países en vías de desarrollo. En Argentina, por ejemplo, la chía es una cosecha más provechosa que la cosecha tradicional de habas (Ayerza y Coates, 1999).

Fuera de los países de donde es nativa, la chía se dio a conocer para la gran mayoría como la novedosa semilla usada en alimentos para animales con el producto denominado chía Pet™. Poco se sabe, sin embargo, del enorme valor alimenticio de las semillas y de sus características medicinales (Coates y Ayerza, 1996a).

Existen también varias aplicaciones industriales para la chía. Debido a que contiene hasta un 60% de fibra y de ella el 5% aproximadamente representa la fracción mucilaginoso, hace que la chía presente una “naturaleza espesante”, muy apreciada dentro de la industria de la cosmetología. (Bushway y Belya, 1981).

Además de ser comestible, el aceite de las semillas se puede utilizar para las pinturas o como sustituto para el aceite de linaza. Los aceites de la hoja de chía pueden ser útiles en condimentos o fragancias y, posiblemente como pesticidas, porque muchos insectos parecen evitar a la planta (Pascual-Villalobos *et al.*, 1997).

2.2 Recubrimientos Comestibles

Un recubrimiento comestible (RC) es una película que envuelve al alimento y que puede ser consumida como parte del mismo (Pastor *et al.*, 2005), y cuya función es mantener la calidad de los productos recubiertos retrasando las principales causas de alteración a través de diferentes mecanismos (Kester y Fennema, 1986, Debeaufort, 1998):

- Evitando ganancia o pérdida de humedad, que puede provocar una modificación de la textura, turgencia.

- Ralentizando cambios químicos que pueden afectar al color, aroma o valor nutricional del alimento.
- Actuando como barrera al intercambio de gases que puede influir en gran medida en la estabilidad de los alimentos sensibles a la oxidación de lípidos, vitaminas y pigmentos.
- Mejorando la estabilidad microbiológica.
- Mejorando la integridad mecánica en el caso de las frutas y hortalizas.

2.3 Componentes de los recubrimientos comestibles y aplicaciones

Los recubrimientos más comunes son aquellos que se aplican a las frutas para sustituir la cera natural que se ha eliminado durante el lavado y cepillado de las mismas. Este tipo de recubrimientos están compuestos, en general, por mezclas de diferentes resinas o ceras, naturales o sintéticas, y se aplican a frutas enteras (cítricos y manzanas, entre otros) para alargar su vida útil durante su almacenamiento. En cuanto a los recubrimientos comestibles el campo de aplicación se amplía enormemente ya que esta tecnología permite diseñar y formular productos que se adapten según la forma de aplicación (directamente en campo, durante la confección en almacén o en el envasado) y el tipo de producto al que vayan destinados (entero, troceado, mínimamente procesado).

Así los materiales utilizados en la formulación de recubrimientos comestibles son hidrocoloides como proteínas y polisacáridos, lípidos como ceras, acilglicéridos y ácidos grasos y la mezcla de hidrocoloides y lípidos. Plastificantes, emulsionantes, antioxidantes, colorantes, saborizantes y antimicrobianos pueden ser adicionados en la formulación para mejorar las propiedades mecánicas, o proveer al recubrimiento de cualidades específicas adecuadas a un producto determinado (UDLAP, 2011).

2.3.1 Polisacáridos

Los recubrimientos comestibles a base de polisacáridos presentan fuertes propiedades de barreras a los gases y puede adherirse a superficies de frutas y vegetales. La desventaja al utilizar este tipo de películas es que las propiedades de barrera a la humedad son muy bajas a la naturaleza hidrofílica de las mismas (Guilbert, 1986). Se han elaborado películas a partir de celulosa, pectina, almidón, carragenina, gomas y mezclas (Guzmán, 2003). Estas películas, la mayoría de las veces son fuertes, de color claro, resistentes relativamente al paso del agua, no se ven afectadas por aceites, grasas o solventes orgánicos no polares (Guilbert, 1986).

En la formulación de los RC se pueden incorporar productos naturales con actividad antimicrobiana procedentes de plantas, organismos marinos, insectos o microorganismos como alternativas viables al uso de los químicos de síntesis (Cowan, 1999; Tripathi y Dubey, 2004). Algunos compuestos naturales con actividad antimicrobiana son:

2.3.1.1 Quitosano

Este polisacárido, normalmente obtenido de la quitina proveniente de crustáceos, se ha utilizado como RC (Jiang y Li, 2001; Zhang y Quantick, 1998) para prolongar la vida útil y mejorar la calidad de frutas enteras y cortadas ya que presenta una permeabilidad selectiva frente a los gases, una ligera resistencia al vapor de agua, y propiedades antifúngicas y antibacterianas (Krochta y De Mulder-Johnston, 1997).

El quitosano ha sido utilizado en el control de la podredumbre azul en manzanas de la (Capdeville *et al.*, 2002). La efectividad del quitosano también ha sido probada en rodajas de mango (Chien *et al.*, 2007) y en fresas (Vargas *et al.*, 2005; Vargas *et al.*, 2006), donde se observó la mejora de algunas propiedades físico-químicas del fruto, y la ralentizando de la senescencia y deterioro fúngico.

2.3.1.2 Mucílagos

Los mucílagos son polisacáridos heterogéneos, formados por diferentes azúcares y en general ácidos irónicos. Se caracterizan por formar disoluciones coloidales viscosas: geles en agua. Los mucílagos son constituyentes normales de las plantas y su uso en el recubrimiento de frutas cortadas no ha sido muy estudiado. De la planta de sábila se puede extraer un gel cristalino conocido como Aloe vera el cual esta libre de aroma y sabor (Ni *et al.*, 2004). Serrano *et al.* (2006) emplearon un gel elaborado a partir de Aloe vera para el recubrimiento de uvas de mesa, observando una extensión de la vida útil de las frutas de hasta 35 días comparado con uvas sin recubrir. Además, dicho recubrimiento permitió retener la concentración de ácido ascórbico de las uvas. Por otra parte, Martínez-Romero *et al.* (2006) estudiaron el efecto de un RC a base de Aloe vera aplicado en cerezas, obteniendo una disminución de los cambios en los diferentes parámetros responsables de la pérdida de calidad de la fruta, además de excelentes propiedades sensoriales en los recubrimientos.

Otro mucílago recientemente empleado en la elaboración de RC es el extraído de cactus. Este tipo de mucílago tiene la capacidad de absorber grandes cantidades de agua, disolverse y dispersarse por sí mismo y formar soluciones viscosas (Domínguez-López, 1995). Así, Del-Valle *et al.*, (2005) desarrollaron un recubrimiento comestible a partir de mucílagos de cactus (*O. ficus indica*) con el fin de extender la vida útil de fresas. Este recubrimiento no afectó la calidad sensorial de las frutas recubiertas, manteniendo además su color y firmeza original durante el almacenamiento.

2.3.2 Lípidos

El recubrimiento con grasa de algunos productos tiene una larga historia en la industria de los alimentos. Una variedad de componentes lipídicos se ha utilizado como cubiertas protectoras, incluyendo las ceras naturales y surfactantes. Debido a la baja polaridad de estas películas la función principal es la de barrera contra el

paso de humedad. Las ceras y los lípidos incluyendo, la lecitina, cera de abejas y glicéridos son sumamente usados para el recubrimiento de frutas, pero antes de ser consideradas como películas se consideran como simples cubiertas. Las grasas también son utilizadas para recubrir confitería, pero una de las desventajas es que puede ocurrir rancidez o la superficie se puede poner grasosa (UDLAP, 2011).

2.3.3 Hidrocoloides

Estas películas poseen buenas propiedades de barrera para el oxígeno, dióxido de carbono y lípidos. Son utilizadas donde el control de la migración de vapor de agua no es el objetivo. La mayoría de estas películas tienen propiedades mecánicas deseables para trabajar con productos frágiles, no aportan sabor y son sensibles al calentamiento. Los hidrocoloides usados para películas pueden ser clasificados de acuerdo a su composición molecular, carga y solubilidad en agua (UDLAP, 2011).

2.3.4 Proteínas

Las películas de proteínas se adhieren fácilmente a superficies hidrofílicas pero en la mayoría de los casos no son resistentes a la difusión del agua. Las fuentes más comunes son: caseína, zeína, soya, albúmina de huevo, lactoalbúmina, suero de leche, gluten de trigo y colágeno. Otra desventaja de las películas de proteínas es su sensibilidad a los cambios de pH por lo que deben delimitarse a las condiciones óptimas de su formación. Las películas de zeína actúan como barreras a la humedad, pueden restringir el transporte de O₂ y sirven como vehículos para los antioxidantes; las películas de gluten de trigo son buenas barreras al O₂ y al CO₂, sin embargo tienen alta permeabilidad al agua (UDLAP, 2011).

2.4 Técnicas de aplicación del recubrimiento

Existen tres métodos comunes para la aplicación de las cubiertas comestibles, los cuales se describen brevemente a continuación.

2.4.1 Por inmersión

Sumergir el alimento o producto por 30 segundos o más en el contenedor del recubrimiento, esto el caso de productos que requiere una capa uniforme en una superficie irregular, la inmersión es la técnica que proporcionara mejores resultados, además que es una de las más utilizadas en recubrimiento de frutas, vegetales y productos cárnicos (García, 2009).

2.4.2 Por aspersión

La aplicación de cubiertas por aspersión es el método convencional usado generalmente en muchos de los casos. Debido a la alta presión, un menor gasto de solución formadora de la cubierta es requerida para obtener recubrimientos uniformes (García, 2009).

2.4.3. Por frotación

El método de la frotación se utiliza aire comprimido (menor de 5 psi o 35 Kpa), esté es aplicado generalmente en líneas de empaque que poseen rodillos en movimiento para lograr una dispersión uniforme. El exceso de cubierta es removido con cepillos colocados por debajo de los rodillos. La cubierta espumosa contiene un poco de agua para facilitar el proceso de secado (García, 2009).

2.5 Agentes antimicrobianos

Con la evolución de la ciencia de alimentos han surgido muchos compuestos químicos con actividad antimicrobiana. El agente antimicrobiano del que se tiene el registro mas antiguo es la sal de mesa, la cual se sigue utilizando en la actualidad para conservar productos cárnicos. En el siglo XX se dieron grandes avances en la conservación de alimentos por medio de agentes químicos. Fue entonces cuando empezaron las revisiones de daños a la salud que cada agente podría causar (López, 2000).

2.5.1 Agentes antimicrobianos naturales

El principal objetivo del procesamiento de alimentos es proveer bienestar al ser humano por medio de alimentos seguros, nutricionalmente adecuados y cubrir las expectativas de sabor, aroma, apariencia y mayor comodidad. Es por esto el deseo de la sociedad moderna de consumir alimentos frescos, por lo que ha incrementado la popularidad de los alimentos “mínimamente o parcialmente procesados”. Este tipo de alimentos siguen los pasos mínimos de preparación, tratando de cambiar lo menos posible las cualidades de “alimento fresco” en la medida que sea posible, pero al mismo tiempo haciéndolo un alimento seguro y con una vida de anaquel suficiente para su transporte hasta el consumidor (Alzamora, 1997).

Los sistemas antimicrobianos naturales pueden clasificarse por su origen:

Origen animal: incluye proteínas, enzimas líticas tales como lisozima, hidrolasas tales como lipasas y proteasas (Beuchat, 2001) y polisacáridos como el quitosán (Davidson y Zivanovic, 2003).

Origen vegetal: incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Beuchat, 2001).

Origen microbiano: incluye compuestos producidos por microorganismos. Día a día se está aumentando el uso en la Unión Europea de antimicrobianos naturales que refuerzan la seguridad en los alimentos y prolongan la vida útil de estos frente a las bacterias, hongos y virus. El apio, la almendra, el café y el arándano son antimicrobianos naturales que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos (Beuchat, 2001).

2.5.2 Plantas con actividad antimicrobiana

Muchas hierbas y “especias” (cuadro 2) contienen aceites esenciales que son antimicrobianos: se menciona que cerca de 80 productos de origen vegetal contiene alto niveles de antimicrobianos con uso potencial en alimentos por ejemplo: clavo, ajo, cebolla, salvia, romero, cilantro, perejil, orégano, mostaza y vainilla entre otros (Ismail y Pierson, 1990).

Cuadro 2. Plantas utilizadas como saborizantes en alimentos y con actividad antimicrobiana (López, 1995).

Ajedrea	Cebollines	Jengibre	Pimienta de cayenne
Ajo	Cilantro	Laurel	Pimienta de jamaica
Albahaca	Clavo	Mejorana	Pimentón
Alcaravea	Comino	Menta	Romero
Anís	Cúrcuma	Mostaza	Salvia
Azafrán	Eneldo	Nuez moscada	Té limón
Canela	Estragón	Perejil	Tomillo
Cardamomo	Hinojo	Pimienta	Vainilla

Los aceites esenciales de canela, romero, pimienta negra y clavo evitan la colonización de *Aspergillus* y otros mohos (W.L.Wendorff, Wisconsin USA, 1997).

La esencia de orégano y tomillo inhibe el crecimiento de *Aspergillus* en los granos de trigo almacenados (Nachaman, Israel, 1995).

La esencia de la canela inhibe el 78 % de la formación de aflatoxina (K. Sinha, 1993).

- **Extracto de canela**

El aldehído cinámico es un compuesto fenólico de algunas especies, incluyendo la canela, es generalmente admitido como seguro para su uso en alimentos y es usado en muchos alimentos como saborizante (Petroni, 2002).

El aldehído cinámico (3- fenil-2 propenal) es el principal componente antimicrobiano en la canela, no solo exhibe actividad antibacterial sino que también inhibe el crecimiento de mohos y la producción de micotoxinas, Hitokoto et al., (1978) reportan que la canela tiene un fuerte efecto inhibitorio en mohos, incluyendo *Aspergillus parasiticus*, Bullerman (1974) también observa un efecto inhibitorio de la canela en *Aspergillus parasiticus*, reporta que de 1 a 2% de concentración de canela puede permitir algún crecimiento de *Aspergillus parasiticus*, pero también puede disminuir la producción de aflatoxinas en un 99%.

2.6 El Reino de los hongos

Los hongos son un importante grupo de seres vivos que pueden ser encontradas en casi todos los nichos ecológicos. Hasta la fecha se han descrito cerca de 70000 especies, estimando que existe en las especies del planeta aproximadamente 1,5 millones. Este gran discrepancia y debido principalmente a la gran ignorancia que si ha de zonas tropicales y subtropicales, así como la inadecuada toma de muestras para estudios micológicos. A pesar de esta situación desfavorable, hay una descripción de aproximadamente 1200 nuevas especies por año.

2.6.1 Especies de *Penicillium spp*

Los penicillios son mohos comunes que desarrollan sobre los más diversos substratos: granos, paja, cueros, frutas, etc. Su identificación en base a las características morfológicas fue caótica hasta que Pitt (1980) normalizó las condiciones de cultivo y Frisvad (1981) consideró la formación de los metabolitos secundarios en la descripción de las especies. La importancia de estos mohos en la alimentación humana y animal se debe a que, además causar deterioro, producen toxinas (Pitt & Leistner, 1991).

2.6.2 *Aspergillus niger*

Los mohos del género *Aspergillus* causan el deterioro de muchos productos alimenticios. Los productos metabólicos de la invasión fúngica suelen ser muy tóxicos, tanto para el hombre como para otros animales. También producen la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, amohosado, apelmazado y finalmente podredumbre de las semillas. Algunas especies, por ejemplo *A. niger* o *A. oryzae*, son de interés industrial o se emplean en la fermentación de alimentos en ciertas regiones (Kozakiewicz 1989).

El color es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de *Aspergillus*. Poseen distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro. Las cabezas conidiales presentan bajo el microscopio cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme (fig. 3) y a simple vista las más grandes suelen parecer diminutas alfileres sobre el substrato (Kozakiewicz 1989).

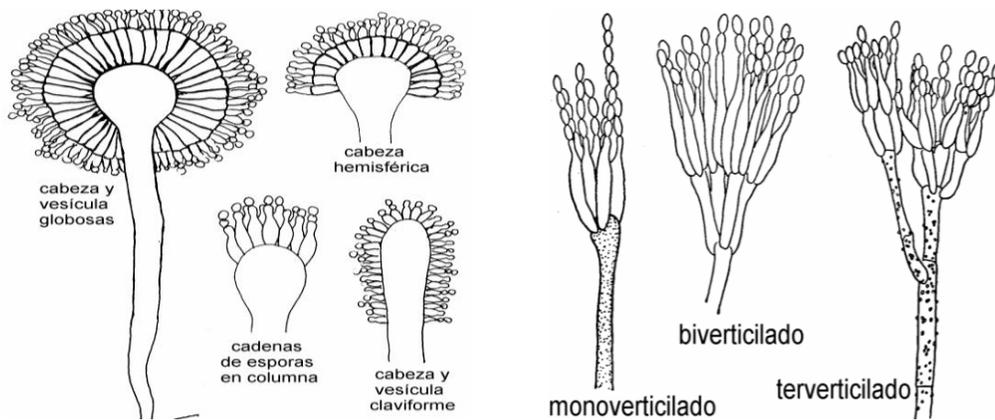


Figura 3: Conidióforos del genero *Aspergillus* y *Penicillium*.

2.7 Generalidades de la manzana

La manzana es el fruto del manzano, árbol de la familia de las Rosáceas. Esta familia incluye más de 2.000 especies de plantas herbáceas, arbustos y árboles distribuidos por regiones templadas de todo el mundo.

Dadas las numerosas variedades de manzanas, podemos encontrar la mayoría de ellas en el mercado desde septiembre hasta junio, excepto la Golden Supreme que está disponible desde agosto a noviembre o la Golden Delicious que se encuentra prácticamente todo el año.

En México los estados con mayor superficie y producción de manzana son en orden de importancia Chihuahua, Durango y Coahuila. Las tendencias nacionales son estables en superficie pero inestables en cuanto a la producción dado a factores climáticos como lo pueden ser las heladas tardías y el granizo entre otros.

2.7.1 Origen y variedades

Se desconoce el origen exacto del manzano. Unos autores señalan que procede de las montañas del Cáucaso, mientras que otros indican que el *Malus sieversii* (Ledeb.) Roem. es una especie silvestre que crece en las regiones montañosas de Asia media y podría ser el manzano del que se habrían originado hace 15.000 ó 20.000 años las primeras especies cultivadas de este árbol.

Existen más de mil variedades de manzanas en todo el mundo, si bien, la gama que nos ofrece el mercado es limitada, ya que tan sólo podemos elegir entre poco más de media docena de variedades.

Granny Smith: procede de Australia y es fácil de reconocer porque tiene la piel de un color verde intenso con algunos puntitos blancos. Es muy redonda y de carne blanca, muy crujiente y jugosa con sabor ligeramente ácido.

Red Delicious: es una variedad estadounidense que proporciona frutos grandes y alargados, de piel color rojo brillante. Su pulpa es jugosa, muy blanda, de sabor dulce, nada ácido y muy aromático.

Golden Supreme: es la que se recolecta primero, se encuentra en el mercado desde agosto hasta noviembre. Es de color verde con tonalidades rosadas y de forma globosa. Su carne crujiente y jugosa es algo ácida y poco aromática.

Golden Delicious: variedad de origen americano, una de las más cultivadas en todo el mundo. Su piel es amarilla verdosa con pequeños puntos oscuros que se llaman lenticelas y que son los órganos respiratorios de la fruta. Su forma es redonda y regular. La carne es jugosa, crujiente, dulce y aromática. Se encuentra en las fruterías a partir del mes de septiembre y durante todo el año hasta finales del agosto siguiente.

2.7.2 Características

 Forma: son pomos por lo general de forma ovoide, a veces alargados o redondos, que esconden numerosas semillas de color pardo en su interior. Su piel es casi siempre brillante y lisa.

 Tamaño y peso: las manzanas más comercializadas son aquellas cuyo calibre va desde los 75 milímetros hasta los 85 o más. Y su peso oscila desde 170 gramos hasta 250 gramos.

 Color: los diferentes colores de la piel hacen que se diferencien las frutas en cuatro grupos: verdes, rojas, amarillas y bicolors. Todas ellas con sabores, aromas y calidad de su carne diferentes.

 Sabor: la pulpa puede ser dura o blanda, pero siempre refrescante y jugosa, y su sabor va desde el muy dulce al muy ácido pasando por toda una mezcla de gustos acidulados y azucarados. La carne es más o menos aromática según la variedad.

La manzana es una fruta que llama la atención en los mercados porque se puede encontrar casi todo el año en unas magníficas condiciones de calidad y lista para ser consumida. Esto es posible gracias a las buenas prácticas de manipulación y conservación del alimento que existen hoy en día. Después de su recolección, a las

manzanas que van a ser almacenadas se les aplican diversos métodos de conservación, como el enfriamiento rápido de la fruta, el almacenaje en cajas con películas plásticas y la refrigeración controlada, que reducen la pérdida de agua y evitan que la piel de la manzana se arrugue.

2.7.3 Propiedades nutritivas

Desde el punto de vista nutritivo la manzana es una de las frutas más completas y enriquecedoras en la dieta (cuadro 3). Un 85% de su composición es agua, por lo que resulta muy refrescante e hidratante. Los azúcares, la mayor parte fructosa (azúcar de la fruta) y en menor proporción, glucosa y sacarosa, de rápida asimilación en el organismo, son los nutrientes más abundantes después del agua. Es fuente discreta de vitamina E o tocoferol y aporta una escasa cantidad de vitamina C. Es rica en fibra, que mejora el tránsito intestinal y entre su contenido mineral sobresale el potasio. La vitamina E posee acción antioxidante, interviene en la estabilidad de las células sanguíneas como los glóbulos rojos y en la fertilidad. El potasio, es un mineral necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso y para la actividad muscular normal, interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula.

Cuadro 3. Composición nutritiva de la manzana (Roja – Golden – Granny Smith).

Composición por 100 gramos de porción comestible (Roja - Golden - Granny Smith)	
Calorías	46 - 40,6 - 41, 5
Hidratos de carbono (g)	11,7 - 10,5 - 10,5
Fibra (g)	1,7 - 2,3 - 1,5
Potasio (mg)	99 - 100 - 110
Magnesio (mg)	5 - 5,6 - 4
Provitamina A (mcg)	4 - 4 - 1,5
Vitamina C (mg)	3 - 12,4 - 4
Vitamina E (mg)	0,5 - 0,4 - 0,5
mcg = microgramos	

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en las siguientes instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro: Laboratorio del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, el Laboratorio de Producción Animal y el laboratorio de Nutrición y Alimentos del departamento de Nutrición Animal.

3.1 ETAPA I: Obtención del mucílago de chía (*Hyptis suaveolens*)

Para la extracción del mucílago se aplicó el método de Gowda, (1984) modificando la temperatura, velocidad y tiempo de extracción y recuperando el mucílago por filtración a través de una bomba al vacío.

En un vaso de precipitado marca Pyrex de 1000 ml, se agregó 1000 ml de agua destilada y 50 gr de semilla de Chía (*Hyptis suaveolens*), colocándolo sobre una parrilla termo-agitador marca (Nuova II), calentando hasta llegar a 37 °C, hidratando la semilla por 1 hora.

Posteriormente se procedió a molerla empleando una licuadora y enseguida se extrajo el mucílago utilizando un matraz Erlenmeyer, un embudo büchner, tela muselina y una bomba al vacío DUO SEAL VACUUM PUMP modelo (1402) serial No. 51826.

Para la precipitación del mucílago se utilizaron 4 volúmenes de etanol, y utilizando una Centrifuga W. H. Cortin Co. Modelo K4410 a (4000 rpm, por minuto). Posteriormente las muestras fueron colocadas en una estufa marca (Thelco modelo 27) a una temperatura de 80-110°C durante 24hrs.

Transcurrido el tiempo fueron sacadas y molidas con un mortero de porcelana para su posterior análisis Fisicoquímico.

3.2 ETAPA II: Análisis Fisicoquímico

3.2.1 Determinación de materia seca total o sólidos

Se utilizó el método Termo gravimétrico del manual de técnicas químicas oficiales, A.O.A.C., (1990).

Se colocan crisoles limpios en la estufa (Thelco modelo 27) a una temperatura de 80-110°C durante 24hrs para que se encontraran a peso constante e identificándolos. Transcurrido el tiempo los crisoles fueron retirados de la estufa con ayuda de una pinza y colocándolos en un desecador con silica gel, dejándolos enfriar durante 20 minutos; una vez fríos se continuo pesándolos y agregándoles 2 g de muestra y colocándolos en la estufa durante 12hrs. Transcurrido el tiempo se sacaron los crisol con ayuda de unas pinzas, se colocó en el desecador dejando enfriar durante 20 minutos y respectivamente se procedió a pesar, registrar y realizar cálculos.

$$\%MST = \frac{\text{Peso del crisol con muestra seca} - \text{Peso del crisol solo} * 100}{\text{Gramos de muestra}}$$

$$\%H = 100 - \%MST$$

3.2.2 Determinación de cenizas totales (minerales)

El término de cenizas se refiere a los residuos de la combustión total de una muestra formada por compuestos orgánicos e inorgánicos. Los residuos o cenizas están formados por diversos minerales resultantes de la incineración de la materia orgánica.

Para calcular las cenizas se utiliza el método seco, donde la muestra se incinera sin producir flama, para ello se utiliza la muestra resultante de la determinación de la materia seca total, la cual se pre incinera en una parrilla eléctrica, a baja temperatura, retirando el crisol de incineración hasta que deje de emitir humo, después se lleva a la mufla a una temperatura de 600°C por un periodo

de 2 a 3 horas, enseguida seguir enfriando en el desecador y pesar. Para calcular el porcentaje de cenizas se utiliza la siguiente fórmula:

$$\%C = \frac{\text{Peso del crisol con cenizas} - \text{peso del crisol solo}}{\text{Gramos de muestra}} * 100$$

3.2.3 Determinación de proteína cruda

Para obtener la cantidad de proteína cruda se utilizo el método Micro Kjeldhal modelo (Labconco) del manual de técnicas químicas oficiales, A.O.A.C., (1990). Este determina el nitrógeno tota de la muestra orgánica y se convierte a proteína cruda multiplicando por el factor 6.25.

Está basada en la combustión de la muestra calentándola con acido sulfúrico concentrado, para efectuar la reducción de nitrógeno orgánico de la muestra en amoniaco, el cual es retenido en solución como sulfato de amonio. La solución de la digestión se hace alcalina y se destila con vapor para liberar el amoniaco que es atrapado en ácido bórico valorándose el ácido no neutralizado por medio de titulación con ácido sulfúrico.

Para la determinación de proteína se pesó 0.05g de muestra sobre un papel filtro No.41 sin cenizas con ayuda de la balanza analítica y fueron colocados en un matraz microkjeldahl al cual se le agregaron 4 ml de mezcla digestora.

El matraz se colocó en el digestor en la campana de extracción, hasta que se obtuvo una coloración de café oscuro a verde claro. Se dejó enfriar el matraz y colocado la muestra digerida al destilador asegurándose que un matraz con 30 ml de ácido bórico con 2 gotas de indicador mixto reciba la muestra destilada a través de la manguera posteriormente se tituló con ácido sulfúrico 0.026809 N. Para calcular el porcentaje de nitrógeno total se utilizó la siguiente formula.

$$\%N = \frac{(\text{ml gastados de la muestra} - \text{ml blanco})(N \text{ del ácido})(\text{mili eq N})}{\text{Gramos de muestra}} * 100$$

Mili equivalentes de nitrógeno= 0.14

% P= (%N) (6.25 factor de conversión)

3.2.4 Determinación de extracto etéreo o grasa total (Método Soxleth)

La grasa cruda es otro de los componentes químicos que representa la grasa y que algunas veces se le denomina extracto etéreo. La grasa cruda está formada principalmente por lípidos y por otras sustancias que no lo son, pero que son solubles en ciertos solventes de las grasa.

Al realizar el análisis del extracto etéreo, no solamente se encuentran en este las grasas y aceites, sino otros compuestos con las vitaminas liposolubles, pigmentos, fosfolípidos, glicolípidos, ceras, parafinas y xantofilias. El compuesto que más se emplea en la extracción de extracto etéreo es el hexano que mediante el calor extrae los compuestos solubles hasta que la muestra se seca.

Para este método se pesaron 4 gramos de muestra seca sobre un papel filtro, se deposita en un cartucho poroso, posteriormente se colocó en un sifón.

En un matraz redondo se adicionó hexano hasta la mitad del matraz, se une al sifón y se conecta al refrigerante del dispositivo Soxleth, se extrae por un periodo de 10 horas. Al término de este tiempo se evapora el solvente, después se pone a peso constante el matraz bola en una estufa con flujo de aire a una temperatura de 100°C por un periodo de 12 horas, transcurrido el tiempo con unas pinzas se coloca en un desecador con silica gel por un espacio de 15 a 20 minutos para que enfrié y poder pesar y realizar los cálculos con las siguientes formula;

$$\% \text{ Grasa} = \frac{(\text{peso del matraz con grasa} - \text{peso del matraz solo})}{\text{Gramos de muestra}} * 100$$

3.2.5 Determinación de fibra cruda

La fibra cruda es el residuo orgánico combustible e insoluble que queda después de que la muestra se ha tratado con una solución ácida y otra, alcalina diluida hirviendo. Este tratamiento proporciona la fibra cruda, que consiste principalmente del contenido de celulosa, lignina y hemicelulosa. La fibra proporciona propiedades físicas a los alimentos, y generalmente baja la densidad calórica de los alimentos.

Para determinar la cantidad de fibra cruda el material debe estar desengrasado, y se hace reaccionar con ácidos y álcalis en caliente; el residuo se seca y se calcina, la diferencia de pesos entre los residuos seco y calcinado corresponde a la fibra cruda.

Para este método se utilizó un aparato de reflujo y se empezó pesando 2 gramos de muestra de la cuela, ya se había desengrasado; posteriormente se colocó en un vaso de Berzelius y se le añadió 100ml de solución de ácido sulfúrico 0.0225N, se conectó al aparato de reflujo por un periodo de 30 minutos. Transcurrido el tiempo se retiró y se procedió a filtrar con tela de lino y lavando con porciones de 100ml de agua destilada caliente. La fibra obtenida en la tela como resultado de la filtración se coloca en un vaso de Berzelius con 100 ml de hidróxido de sodio a una normalidad de 0.313 N y se conecta nuevamente al aparato de reflujo por 30 minutos. Transcurrido el tiempo se filtra con ayuda de tela de lino se enjuaga con porciones de 100 ml de agua caliente. Escurrir perfectamente el exceso de agua de la tela de lino extenderla y retirar la fibra con ayuda de una espátula y depositarlo en un crisol de porcelana previamente identificado, posteriormente se pasó a una estufa con corriente de aire a una temperatura de 100°C por 12 horas, transcurrido el tiempo se retiró con ayuda de pinzas y se colocó en un desecador por un periodo de 15 a 20 minutos y se pesa.

Después se pre-incinera la muestra con ayuda de parrillas eléctricas a temperatura media y colocarla a la mufla a 600°C por 2 horas, transcurrido el tiempo se saca y se coloca en un desecador con silica gel dejando enfriar por 30 minutos y enseguida pesar. Para la determinación de Fibra cruda se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%FC = \frac{\text{Peso del crisol con fibra seca} - \text{peso del crisol fibra cenizas}}{\text{Gramos de muestra}} * 100$$

3.2.6 Determinación de contenido de pectina.

La pectina es un polisacárido de alta demanda en la industria de los alimentos como agente emulsificante, espesante y estabilizante. La pectina es uno de los principales componentes de la pared celular de tejidos vegetales parenquimatosos. Este polisacárido se encuentra en los espacios intercelulares de los tejidos vegetales y les confiere propiedades específicas de firmeza y textura (Braverman, 1980; Waldron y Faulds, 2007). Estructuralmente las pectinas se describen como alteraciones de regiones “lisas” (Ramnogalacturonanos tipo I, GRI) (Koubala *et al.*, 2008; Schols *et al.*, 2009). La región HG comprende una cadena lineal de enlaces (1-4) de D.ácido galacturónico parcialmente esterificado con alcohol metílico en el C₆ y posiblemente parcialmente acetilesterificado en el C₂ o C₃ en algunas especies vegetales. La región RGI contiene una cadena principal de alteraciones de -L-ramnosa unida a la posición C₄ de ácido -D-galacturónico (figura 4), el cual a su vez se une a la posición C₂ de la ramnosa. Entre el 20 y 80 % de la ramnosa está sustituida en el C₄ con cadenas laterales de azúcares neutros (principalmente arabinosa y galactosa) (Waldron and faulds. 2007; Koubala *et al.*, 2008; Schols *et al.*, 2009).

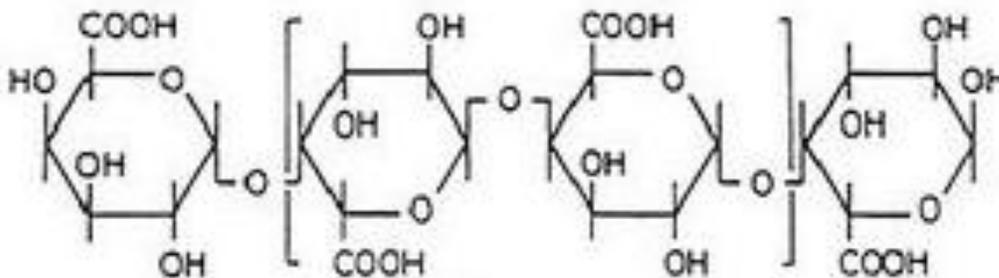


Figura 4: Estructura del ácido poligalacturónico.

Las pectinas de uso comercial se clasifican en pectinas de alto y bajo metoxilo según su porcentaje de grupos carboxilo metil esterificado. Las de alto metoxilo tienen más de 50 %; mientras que, las de bajo metoxilo tienen menos del 50 %. El grado de metoxilación influye en las propiedades funcionales de la pectina, por ejemplo en la capacidad para formar geles (Contreras- Esquivel *et al.*, 2006). Las pectinas de alto metoxilo gelifican en medio ácido y altas concentraciones de azúcar. Por otro lado las pectinas de bajo metoxilo lo hacen por su interacción con cationes divalentes, particularmente Ca^{2+} (Correa *et al.*, 1999).

El rendimiento, composición, grado de esterificación y fuerza de gelificación de las pectinas varía dependiendo de la fuente y las condiciones para su extracción (Lagther *et al.*, 2002; Contreras-Esquivel *et al.*, Fishman *et al.*, 2008; Koubala *et al.*, 2008).

El análisis se determinó para dos pares de muestras utilizando para un par 4 volúmenes de Etanol y para el otro par 4 volúmenes de alcohol Isopropílico para la precipitación del mucilago, secados a Temperatura ambiente y a 70°C utilizando una estufa marca (Thelco modelo) durante 24 horas.

Para su análisis se utilizó el equipo Spectrum GX marca (Perkín Elmer) colocando una pequeña cantidad de muestra seca en el Espectro FT-IR (ATR) (figura 5), para su determinación de pectinas de alto y bajo metoxilo.

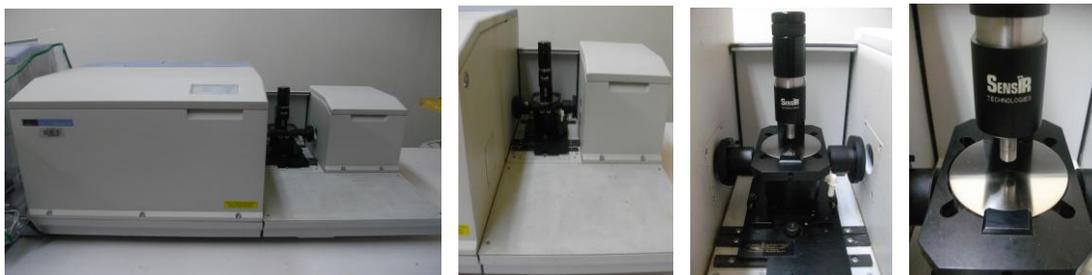


Figura 5: Espectro FT-IR (ATR)

3.2.7 Determinación de Viscosidad

Se prepararon 3 muestras de mucílago de Chía a diferentes concentraciones de glicerina (3%, 4% y 5%) para determinar la viscosidad del recubrimiento. El análisis se llevó a cabo Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), utilizando un Reómetro rotatorio, MCR-301 de Antón Paar (figura 6).



Figura 6: Determinación de viscosidad del recubrimiento utilizando un Reómetro rotatorio, MCR-301 de Antón Paar. Temperatura 20 °C.

3.2.8 Elaboración y aplicación del recubrimiento

Se preparo la película con la formulación presentada en el cuadro 4:

Cuadro 4: Solución de recubrimiento

Mucilago de Chía	
Canela	0.5 % y 1%
Glicerina	3 %

Se prepararon 200 ml de solución, agregando 194 ml de mucílago con agua, 6 ml de glicerina, 1 y 2 gramos de canela.

En vaso de precipitados marca Pyrex de 500 ml se agregaron los 194 ml de mucílago con agua (figura 7), la canela al (1% y 0.5%) y los 6 mililitros de glicerina. Posteriormente utilizando un agitador magnético y una parrilla termo-agitador marca Nuova II, Calentando a 37 °C se agito constantemente asta disolver por completamente formando el recubrimiento.



Figura 7: Solución de recubrimiento de mucílago de Chía.

3.3 ETAPA III: Análisis Microbiológico

3.3.1 Conteo total de esporas por ml.

El agar que se utilizó fue agar nutritivo (PDA). Se pesaron 0.78 g de agar para 20 ml de agua destilada que se mezclaron en dos matraz Erlenmeyer que fueron puesto a flama de mechero hasta disolver completamente y tomar un color cristalino (figura 8). En seguida se esterilizó el medio en una autoclave (PRESTO M.R) a 121°C y 15Lb de presión durante 15 minutos. Se dejó solidificar a temperatura ambiente. Una vez solidificado el agar a cada matraz se adicionó una alícuota de 100 µl de una cepa de Hongo (*A. niger*) y (*Penicillium spp.*) y fueron metidos a una incubadora orbital modelo (INO 650V-7). Para su posterior crecimiento.



Figura 8: Preparación del medio.

Transcurrido el tiempo de crecimiento de cada cepa, se extrajeron las esporas utilizando una parrilla termo-agitador marca (Nuova II) agregando 20 ml de solución Tween 80 al 0.1 % a cada matraz Erlenmeyer y un magneto previamente estériles (figura 9). En seguida se tomó 1 ml de esporas de cada cepa y se diluyeron en 19 ml de agua destilada para cuantificar el número de esporas obtenidas por ml de cada cepa, colocando una gota de la solución, en una cámara de Neubaver marca (Clay Adams) observadas en el microscopio y utilizando la siguiente fórmula se determinó el número de esporas por ml.

$$\# \text{ esporas/ml} = \text{promedio de esporas} \times (1 \times 10^4) \times (25) \times (20) \quad (1)$$

Donde:

Promedio de esporas = suma total de esporas, entre el número de los cuadros contados en la Cámara Neubaver

1×10^4 = cantidad de esporas diluidas en agua

25 = numero de cuadros de la cámara Neubaver.

20 = ml de agua.



Figura 9: Extracción de esporas.

3.3.2 Determinación de la concentración de inhibición en hongos filamentosos

Una vez obtenido el número de esporas por ml de cada cepa, se prepararon 5 matraz Erlenmeyer de 250 ml con 60 ml de agua destilada y 2.34 g de agar (PDA) para cada hongo (*A. niger* y *Penicillium spp*), se adicionó a cada matraz Erlenmeyer canela a diferentes concentraciones al (0%, 0.25%, 0.5%, 0.75%, y 1%), para evaluar su efecto como antimicrobiano natural. Posteriormente se pusieron en flama de mechero hasta disolver completamente y se esterilizó el medio con canela en una autoclave (PRESTO M.R) a 121°C y 15Lb de presión durante 15 minutos. Finalmente cada matraz fue vaciado en 4 cajas Petri de plástico estériles (S y M Laboratorios) en un medio estéril. Se dejó solidificar a temperatura ambiente, después se refrigeró para su posterior utilización.

3.3.3 Crecimiento en medio sólido

Se sembró con un saca bocados el centro de cada caja Petri y tomando una alícuota de 10 μ l de esporas (figura 10). Las cajas fueron incubadas a una temperatura 30°C, se utilizó una incubadora (LAB-LINE INCUBATOR SHAKER), se monitoreaba su crecimiento midiendo el diámetro de la circunferencia remarcada en el centro de cada caja, cada 24 horas por 5 días.



Figura 10: Siembra de alícuotas de 10 μ l de esporas en cajas Petri.

3.4 ETAPA IV: Aplicación del recubrimiento para la evaluación sensorial y vida de anaquel.

3.4.1 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial se realizó con un panel de 40 jueces consumidores y semientrenados (18 a 22 años) de la Universidad Autónoma Agraria Antonia Narro.

La prueba se realizó por duplicado, proporcionándoles dos series de muestras a cada juez, etiquetadas con un número aleatorio y una hoja donde vaciarían sus respuestas y comentarios, mediante una prueba de análisis de ordenamiento por rango.

El análisis de los datos de prueba que se basan en ordenamiento por rangos (o escalas de rangos ordinales) pueden ser de dos tipos.

1. Comparación de todas las muestras (tratamientos) entre sí.
2. Comparación entre una referencia (o control) y varias muestras.

El primer tipo de análisis pretende discernir aquellas muestras que son “superiores” o “inferiores” a otras muestras.

El segundo tipo de análisis proba si una referencia es superior dentro de un grupo de muestras (diferencia direccional = una cola); puede probar si es inferior al

grupo de muestras (diferencia direccional = una cola) o simplemente si es diferente (diferencia no direccional = dos colas).

3.4.2 Índice de deterioro del fruto, aplicado en manzanas

El índice de deterioro se realiza de manera subjetiva de acuerdo a la escala visual descrita por Mercado-Silva *et al.* (1998).

1. Ningún deterioro
2. Ligero (Más del 5 % de la superficie afectada)
3. Moderado (5 – 20 % de la superficie afectada)
4. Severo (20 – 50 % de la superficie afectada)
5. Extremadamente severo (más del 50 % de la superficie afectada)

Resultados expresados como índice de deterioro y se calcularon de acuerdo a la siguiente ecuación establecida previamente:

$$I = \frac{1n \pm 2n \pm 3n \pm 4n \pm 5n}{N} \quad (2)$$

n = número de frutos que se encontraron en cada uno de los rangos establecidos en la escala hedónica por un tiempo de análisis dado.

N = número de frutos examinados.

Se utilizaron 21 manzanas compradas en el supermercado, las cuales fueron lavadas con jabón y desinfectadas con cloro a 500 ppm para eliminar cualquier microorganismo extraño y/o cera que pudiera tener.

Se utilizaron 7 manzanas con 3 repeticiones cada una, las cuales fueron las siguientes (testigo; MCC=manzana con cubierta; MCCA=manzana con cubierta y antimicrobiano; MCCHA=manzana con cubierta y hongo *A. níger*; MCCAHA=manzana con cubierta, antimicrobiano y hongo *A. níger*; MCCHP=manzana con

cubierta y hongo *Penicillium spp*; MCCAHP=manzana con cubierta, antimicrobiano y hongo *Penicillium spp*.)

Las manzanas se sumergieron en la solución del recubrimiento por 1 minuto, como se muestra en la figura 11, después se colocaron sobre una mesa, se mantuvieron media hora a temperatura ambiente y enseguida fueron colocadas en una estufa de secado a 30°C. Se monitoreó cada 24 hrs durante dos semanas.



Figura 11: Aplicación del recubrimiento en manzanas.

Para las siguientes manzanas (MCCHA, MCCAHA, MCCAHP, MCCHP) se mantuvieron media hora a temperatura ambiente y enseguida se aplicó a cada manzana dos mililitros de esporas de hongos, lo cual se mantuvieron otra media hora a temperatura ambiente.

4 ANÁLISIS Y RESULTADOS

4.1 ETAPA I: Porcentaje de extracción de mucílago

Para la extracción del mucílago se aplicó el método de Gowda, (1984) modificando la temperatura, velocidad y tiempo de extracción y recuperando el mucílago por filtración a través de una bomba al vacío.

Los resultados se presentan en el cuadro 5, donde se observa que con las modificaciones aplicadas al método de Gowda (1984), se incrementa el rendimiento de mucílago obtenido para la variedad violeta.

Cuadro 5: % de obtención de mucílago de chía (*Hyptis suaveolens*).

Método	Variedad de semilla “violeta”
Método Gowda (1984) modificado 37 °C	24 %
Método propuesto Tratamiento a 37 °C	21.5 %

Los resultados obtenidos en esta investigación utilizando el método Gowda (1984) modificado muestran que se extrajo un 2.5 % más de mucílago para la variedad “Violeta” similares a los obtenidos por Vázquez-Galindo *et al.*, (2010).

4.2 ETAPA II: Análisis Fisicoquímico proximal del mucílago

Al realizar cada uno de los análisis concernientes a las características físico-químicas buscadas se obtuvieron los datos presentados en el cuadro 6 donde podemos observar que estos resultados son similares a los obtenidos por Vázquez-Galindo *et al.*, (2010).

Sin embargo se observa una disminución de extracto etéreo y E.L.N con respecto a los valores para la semilla.

Cuadro 6: Resultados Obtenidos del análisis Bromatológico Realizado en la semilla Chía (*Hyptis suaveolens*).

	Método realizado Variedad de Semilla “Violeta”	Método Gowda (1984) Variedad de semilla “violeta”
Análisis	%	%
Humedad	2.3551	---
Materia Seca	97.6445	100
Cenizas	5.0833	2.09
Extracto Etéreo	2.9533	1.17
Proteína Cruda	19.2981	2.45
Fibra Cruda (FC)	31.6601	29.83
E.L.N	3.0877	64.46

Los datos obtenidos del análisis bromatológico realizado a la semilla de Chía (*Hyptis suaveolens*); nos indican su alto contenido de MST (materia seca total) haciendo que este sea un fruto con alta fuente de carbono y materia orgánica, por consecuencia es un alimento que aporta buena cantidad de energía. Cabe resaltar que posee un contenido de fibra cruda y proteína alto, tomando en cuenta que los frutos en su mayoría no poseen más del 2% (Hernández, 2000).

4.2.1 Caracterización de la semilla por espectroscopia FT-IR (Spectrum GX. Perkin Elmer).

En la figura 12 podemos observar que en la longitud de onda de 900 a 1200 cm^{-1} se presentan varios picos en el T1 y T2, ya que indican los enlaces C-O presentes en los mono y polisacáridos, como es el caso de la pectina. En los 1650 cm^{-1} absorben para los grupos carboxilos libres, mientras que para los 1750 cm^{-1} para los grupos carboilos esterificados. El T1 mostró ser el tratamiento con mayor contenido de grupos metoxilo, por lo que supone mayor contenido de pectina endógena. El T1 (Abs "1745") y T2 (Abs "1747"), respresenta una fuente alternativa de pectina de alto metoxilo, pectinas que puede ser aprovechada como materias primas de importancia comercial en la industria de pectina, desde la calidad y cantidad de los polisacáridos.

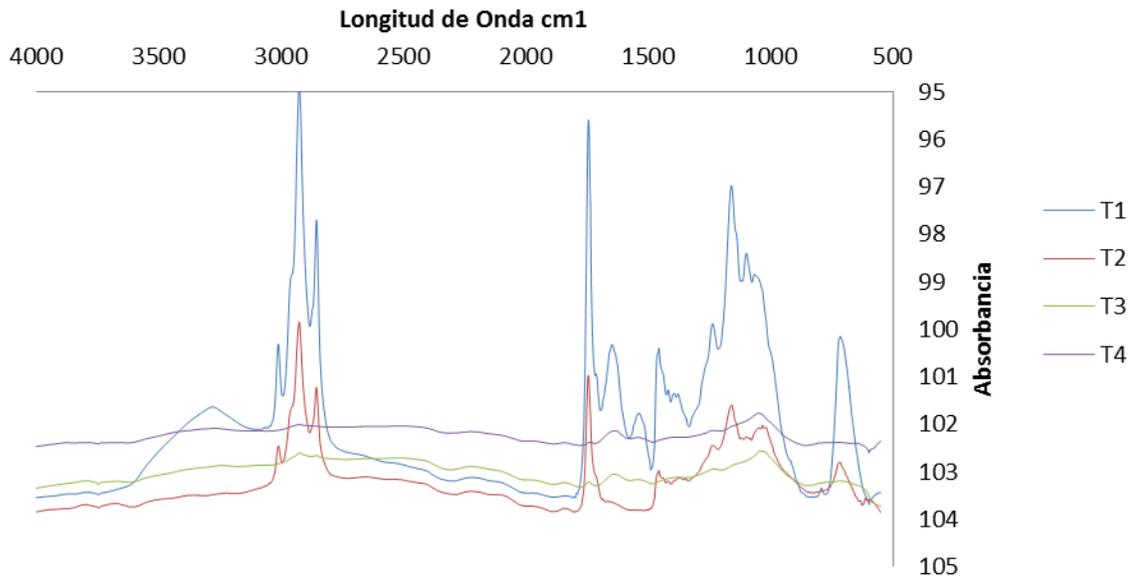


Figura 12: Resultados Obtenidos del Análisis espectro FT-IR (ATR), Determinación de contenido de Pectina.

4.2.2 Caracterización reológica del recubrimiento

Todas las soluciones formadoras de cubiertas presentaron un comportamiento reológico newtoniano (figura 13), con una viscosidad de 0.006Pa s (6 cp). En este caso en que la relación entre el esfuerzo de corte y la rapidez de deformación es lineal, se dice que el fluido es newtoniano para las tres concentraciones, por lo que para la formulación final de la cubierta, se eligió la de menor concentración de glicerina.

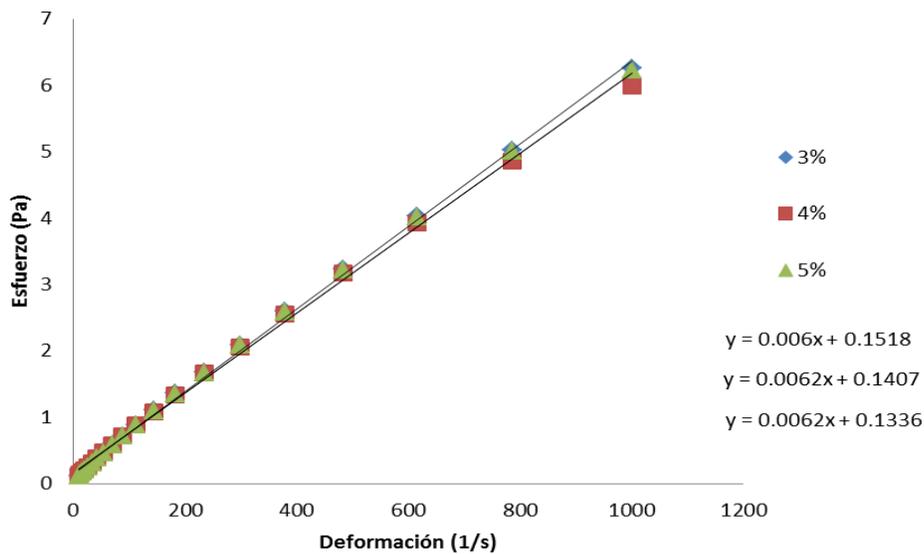


Figura 13: Comportamiento reológico de un fluido Newtoniano a diferentes concentraciones de Glicerina (3%, 4% y 5%).

4.3 ETAPA III: Derminacion de crecimiento de hongos en medio envenado

4.3.1 Cuenta total de Esporas *A. niger* y *Penicillium spp.*

El cuadro 7 presenta la cuenta total de esporas por mililitro de los dos diferentes tipos de hongos *A. niger* y *Penicillium spp.*, donde se puede observar que la cantidad de esporas de *Penicillium spp* presentó 1.23×10^8 esporas /ml más en comparación con la cepa de *A. niger*.

Cuadro 7: Cantidad de esporas obtenidas/ml de cada cepa de hongo.

Hongo \ Dilución	10^4
A. Níger	4.7×10^7 e/ml
Penicillium spp.	1.7×10^8 e/ml

4.3.2 Crecimiento de *A. niger* (24, 48, 72, 96 y 120 horas).

Los resultados que muestra la figura 14 indican el poder inhibitorio de la canela sobre el Hongo *A. niger* a diferentes concentraciones (0, 0.25, 0.5, 0.75 y 1%)

en medio envenenado. El trabajo presente demostro este que la concentracion optima para inhibir el crecimiento de *A. niger* con mayor eficacia se observo a una concentracion del 1%, ya que a esta concentracion tiene un efecto inhibitorio mayor que las demás concentraciones.

Sin embargo en las concentraciones (0, 0.25, 0.5 y 0.75) ocurre un crecimiento ascendente mayor hasta las 120 horas.

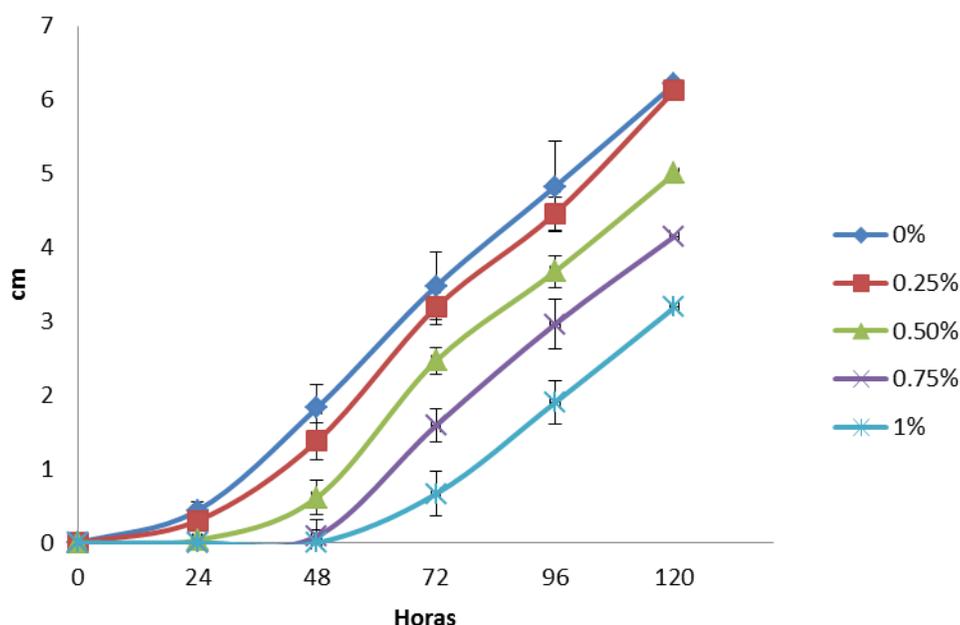


Figura 14: Velocidad de crecimiento de *A. Níger* en medio especifico encubados a temperatura de 30 °C.

García *et al* (2006) en su estudio con aceite de canela demostró que es un excelente antifúngico capaz de inhibir el crecimiento de colonias de *Aspergillus flavus*. Existen trabajos en donde se ha encontrado que la canela además de presentar un efecto antifúngico inhibe la producción de aflatoxinas (Bullerman., 1974; Bullerman *et al.*, 1977; Chalfoun *et al.* ,2004; Hitoko *et al.*, 1979; Mabrouk., 1980; Sinha *et al.*, 1993).

En comparación con los resultados obtenidos en esta etapa, se puede decir que la canela es un buen antifúngico cuando se maneja en las concentraciones adecuadas.

4.3.3 % de Inhibición de *A. niger* en medio envenenado

La figura 15 presenta el (%) de inhibición del hongo *A. niger*.

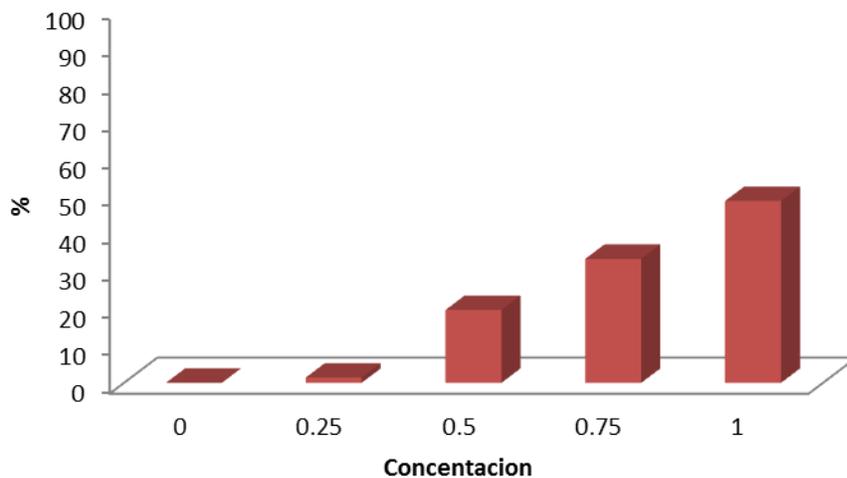


Figura 15: (%) de Inhibición de *A. niger* en medio envenenado a temperatura de 30°C.

Donde podemos observar que la concentración de canela al 1% presento un 50 % de inhibición para *A. niger*.

4.3.4 Crecimiento del hongo *Penicillium spp.* a las (24, 48, 72, 96 y 120 horas).

Los resultados que muestra la figura 16 indican el poder inhibitorio de la canela en el hongo *Penicillium* en medio envenenado a diferentes concentraciones de canela (0, 0.25, 0.5, 0.75 y 1%).

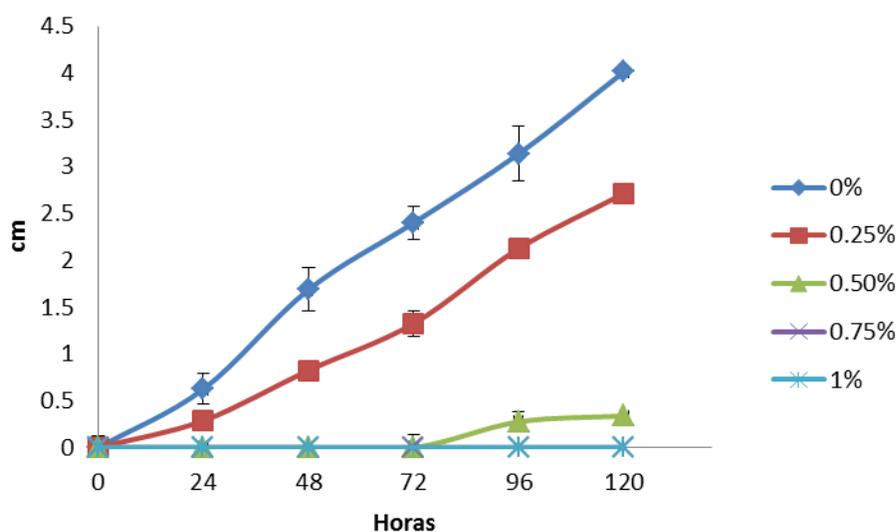


Figura 16: Velocidad de crecimiento de *Penicillium spp.* En medio envenenado encubados a temperatura de 30 °C.

En la figura 16 el comportamiento de los microorganismos con canela como inhibidor, al 0.75% y 1% el crecimiento ocurre más lentamente que en las demás concentraciones debido a los resultados son nulos. En este caso podemos decir que la concentración óptima para inhibir el crecimiento de *Penicillium spp.* con mayor eficacia se observó a una concentración de 0.5%, ya que a esta concentración el hongo no creció hasta las 72 hrs.

4.3.5 (%) de Inhibición de *Penicillium spp.* en medio envenenado

En la figura 17 podemos observar que la concentración de al 0.5% tiene poder inhibitorio del 93 % a las 72 horas.

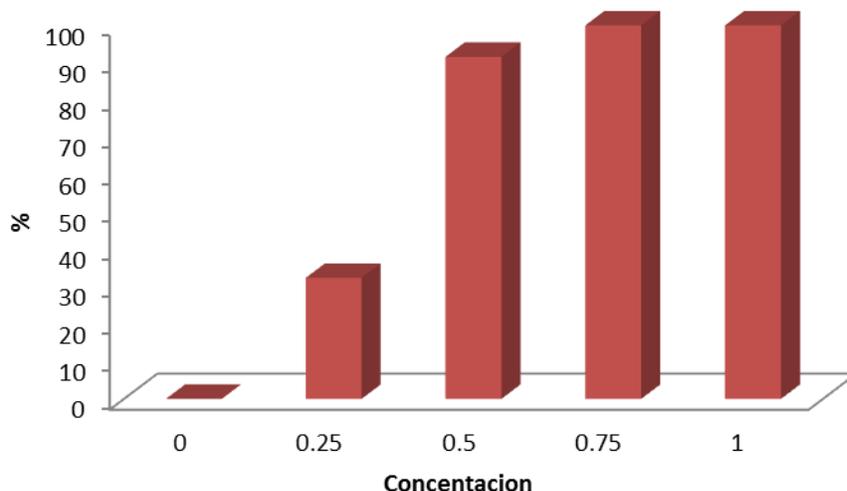


Figura 17: (%) de Inhibición de *Penicillium spp.* en medio envenenado a temperatura de 30°C

5 ETAPA IV: Porcentaje de Índice de deterior en manzanas

5.1 Evaluación sensorial

Se realizó una evaluación sensorial de preferencia, aplicada a manzana variedad (Smith) a 40 jueces por duplicado evaluando dos series (569, 201, 1879) y la serie (473, 880, 624), adicionando un antimicrobiano (canela) a nuestro recubrimiento donde a continuación se muestran los resultados (cuadro 8).

Cuadro 8: Resultados de un análisis sensorial en el que 40 jueces ordenaron por rangos a dos series de muestras (1 = menor, 2 = intermedio, 3 = mayor preferencia). n = 40.

EVALUACIÓN SENSORIAL			
Jueces	A	B	C
	569 (Testigo)	201 (Canela 5%)	187 (Canela 1%)
1	1	1	1
2	1	1	1
3	1	1	1
4	1	1	1
5	1	1	1
6	1	1	1
7	1	1	1
8	1	2	1
9	1	2	2
10	1	2	2
11	1	2	2
12	1	2	2
13	1	2	2
14	1	2	2
15	1	2	2
16	1	2	2
17	1	2	2
18	1	2	2
19	1	2	2
20	1	2	2
21	2	2	3
22	2	2	3
23	2	2	3
24	2	3	3
25	2	3	3
26	2	3	3
27	2	3	3
28	2	3	3
29	2	3	3
30	2	3	3
31	2	3	3
32	2	3	3
33	3	3	3
34	3	3	3
35	3	3	3
36	3	3	3
37	3	3	3
38	3	3	3
39	3	3	3
40	3	3	3
Suma de rangos	68	90	92

1.-De acuerdo a los resultados obtenidos al cuadro anterior se obtuvo la diferencia absoluta entre la suma de rangos menos la referencia “muestra A” (cuadro 9) donde el resultado es una diferencia direccional de (una cola).

Cuadro 9: Diferencia absoluta entre suma de rangos.

B - Control A = 90 - 68 = 22
C - Control A = 92 - 68 = 24

Con base en lo que demuestran las tablas G. 5 y G. 6 “valores críticos por rangos” (véase el apéndice. Tablas estadísticas ANEXOS), donde para 5% es 20 y para 1% es 25, los valores críticos de diferencia de suma de rangos, se concluye que la muestra C es superior y la muestra B superior al control A, a un nivel de significancia del 1%.

2.- En el cuadro 10 se muestran los resultados obtenidos para la segunda serie (473, 880, 624).

Cuadro 10: Resultados de un análisis sensorial en el que 40 jueces ordenaron por rango para la segunda serie de muestras (1 = menor, 2 = intermedio, 3 = mayor preferencia). n = 40.

EVALUACIÓN SENSORIAL			
Jueces	X	Y	Z
	473 (Canela 0.5%)	880 (Testigo)	624 (Canela 1%)
1	1	1	1
2	1	1	1
3	1	1	1
4	1	1	1
5	1	1	1
6	1	1	1
7	1	1	1
8	1	1	2
9	1	1	2
10	1	1	2
11	1	1	2
12	2	1	2
13	2	1	2
14	2	1	2
15	2	1	2

16	2	1	2
17	2	1	2
18	2	1	2
19	2	2	2
20	2	2	2
21	2	2	2
22	2	2	2
23	2	2	3
24	2	2	3
25	2	2	3
26	2	2	3
27	3	2	3
28	3	2	3
29	3	2	3
30	3	2	3
31	3	3	3
32	3	3	3
33	3	3	3
34	3	3	3
35	3	3	3
36	3	3	3
37	3	3	3
38	3	3	3
39	3	3	3
40	3	3	3
Suma de rangos	83	72	91

Con base en lo que demuestran las tablas G. 5 y G. 6 “valores críticos por rangos” (véase el apéndice. Tablas estadísticas ANEXOS), donde para 5% es 20 y para 1% es 25 (cuadro 11) los valores críticos de diferencia de suma de rangos, se concluye que la muestra Z es superior y la muestra X superior al control Y, a un nivel de significancia del 1%.

Cuadro 11: Diferencia entre la suma de rangos.

$$X - \text{Control Y} = 83 - 72 = 11$$

$$Z - \text{Control Y} = 91 - 72 = 19$$

5.2 % de Índice de deterioro del fruto

Se considera alimento dañado aquel daño por agentes microbianos, químicos o físicos de forma que es inaceptable para el consumo humano.

Los agentes causantes de deterioro pueden ser bacterias, mohos y levaduras; siendo bacterias y mohos los mas importantes.

De acuerdo a los resultados obtenidos (cuadro 12) en el presente estudio, se encontró que el índice de deterioro fue aumentando de acuerdo el tiempo; la temperatura de almacenamiento fue de 37°C.

Cuadro 12: Resultados expresados como % índice de deterioro.

% de Índice de deterioro del fruto, aplicado en manzanas							
Días	Testigo	MCC	MCCA	MCCHA	MCCAHA	MCCHP	MCCAHP
1	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
2	2 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
3	2.3 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
4	2.3 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
5	3 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
6	4.3 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
7	4.6 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
8	5 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %

En la figura 18 se muestra el Índice de deterioro de manzana sin cubiertas, almacenados durante 7 días a 37°, donde la pérdida del fruto fue total.

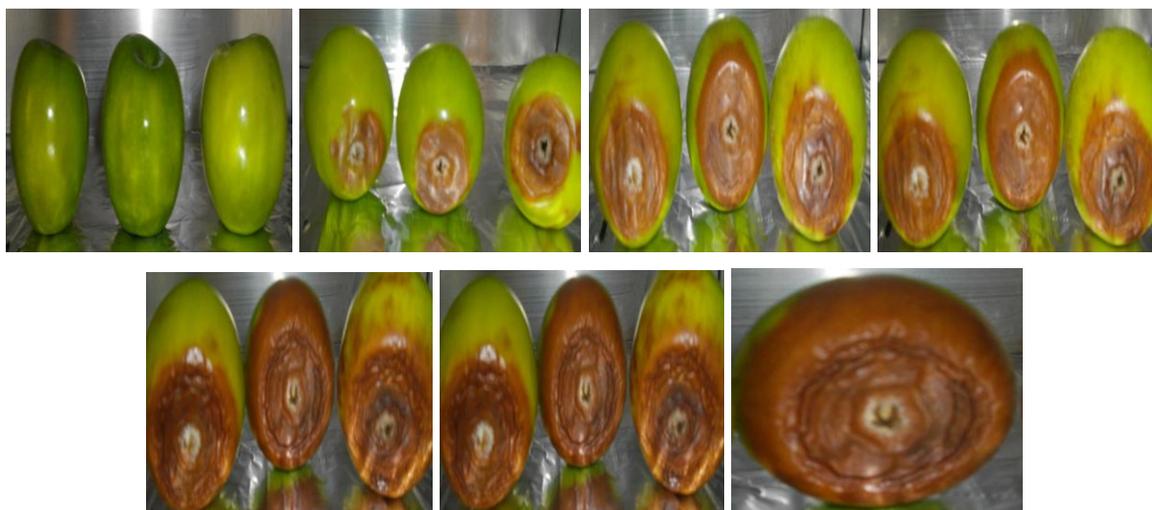


Figura 18. Índice de deterioro de manzana sin cubiertas y almacenados durante 7 días a 37°

Por consiguiente, la aplicación de cubiertas de mucílago de chía (*Hyptis suaveolens*) redujo considerablemente el deterioro de las manzanas, durante mas de 15 días a 37° C (figura 19). El índice de deterioro disminuyó significativamente al aplicar las concentraciones de canela.



Figura 19. Índice de deterioro de manzana con cubiertas y antimicrobiano almacenados durante 15 días a 37°.

3. CONCLUSIONES

- Los datos obtenidos en esta investigación con las modificaciones realizadas al método de Gowda (1984) muestran un mejor rendimiento, con una composición físico-química similar.
- Se demostró que el mucilago de chía representa una fuente alternativa de pectina endógena de alto metoxilo.
- El trabajo presente demostró que la espectroscopia FT-IR (ATR) podría ser usada como un instrumento eficiente para caracterizar la materia prima para industria de pectina, así como seleccionar al agente químico adecuado para liberar los polisacáridos.
- La presente investigación arrojó que adicionando un inhibidor de crecimiento de Hongos, como la canela, aplicado en Manzana Smith, prolonga la vida de anaquel del mismo.
- Se demostró que la canela, a concentraciones de 1% y 0.5% tienen un efecto inhibitorio antifúngico sobre las cepas de *A. niger* y *Penicillium spp*, respectivamente.
- Se demostró que los frutos con recubrimiento, mas la concentración de canela como antimicrobiano tiene una eficiencia significativa, para prolongar una mayor vida de anaquel en las manzanas.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Aguilar Méndez Miguel Ángel**; “Propiedades Físicas y Mecánicas de Películas Biodegradables y su Empleo en el Recubrimiento de Frutos de Aguacate”. Tesis para obtener el grado de Maestro en Tecnología Avanzada, Junio de 2005, México D. F. <http://www.cicata.ipn.mx/FILES/PDF/PTA_M_20050624_001.PDF>.
2. **Benexia**. La semilla de Chía es una excelente fuente de Fibra. 13 de Febrero de 2012. <<http://www.benexia.com/es/benexia-for-you/scientific-support>>.
3. **Bernáldez Camiruaga Aldo Iván**, Olgún Arredondo Héctor Armando. La semilla de Chía (Salvia hispánica L.). 12 de Febrero de 2012. <<http://www.uaemex.mx>>.
4. **Carrillo Leonor**. Aspergillus. 13 de febrero de 2012. <<http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/04htextoaspergilos.pdf>>.
5. **Charles-Rodríguez Ana Verónica**, Saucedo Pompa Saúl. “Formulación de biomasa para conservar alimentos.” Enero de 2009. Revista de divulgación científica. 12 de febrero de 2012. Posgrado Investigación. No: 17. <<http://www.postgradoeinvestigacion.uadec.mx>>.
6. **Contreras Esquivel Juan C.**, Espinoza Pérez Judith D. “Extraction and Characterization of Pectin from Novel Sources” 2002. Food Research Department, School of Chemistry, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila 25000, México.

7. **CONSUMER EROSKI.** “Frutas”. 22 de Marzo de 2012. consumer.es. 22 de marzo de 2012. <<http://frutas.consumer.es/documentos/frescas/manzana/intro.php>>.
8. **Del Pilar Cancela María.** “Chía para bajar el colesterol.” 12 de Marzo de 2010. [Plantasparacurar](http://www.plantasparacurar.com). 12 de febrero de 2012. <<http://www.plantasparacurar.com>>.
9. **Fernández Mosqueda Miguel.** [Semillas de chía un alimento completo](http://www.semillasdechia.com). 9 de Enero de 2012. <<http://www.semillasdechia.com>>.
10. **FMCONSULTORIA.** “MANZANAS: MEXICO, PROYECCION DE COSECHA 2011/12”. 5 de Noviembre de 2011. [Fmconsultoria](http://fmconsultoria.blogspot.mx/2011/11/manzanas-mexico-proyeccion-de-cosecha.html). 22 de marzo de 2012. <<http://fmconsultoria.blogspot.mx/2011/11/manzanas-mexico-proyeccion-de-cosecha.html>>.
11. **Hernández Gómez José Alfonso,** Miranda Colín Salvador. “CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CHÍA (*Salvia hispánica*).” Rev. Fitotec, 2008, Vol. 31 (2): pág. 105 – 113. México.
12. **Hernández García Blanca Estela;** “EVALUACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE APLICADO EN MELÓN MÍNIMAMENTE PROCESADO”. Tesis de Licenciatura, Diciembre 2011.
13. **Huezo Méndez Alejandro Norberto;** “Evaluación física y sensorial de un prototipo de bebida de maracuyá con semillas de chía (*Salvia hispánica* L.) y análisis químico de la semilla de chía”. Tesis de Licenciatura, Diciembre 2008, Zamorano, Honduras. <http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2008/T2600.pdf>.

14. **Marcen Letosa Juan José.** “Antimicrobianos naturales.” 2000. .unirioja. 7 de Enero de 2012. <dialnet.unirioja.es/servlet/dfichero_articulo>.
15. **Martínez López Nohemí Jocabet and Sañudo Barajas J. Adriana.** “Pectina de mango: perspectiva para su extracción.” 17 de Octubre de 2011. Youblisher. 13 de Febrero de 2012. <<http://www.youblisher.com/p/212268-CienciAcierta-27/>>.
16. **Orozco M. C. Beltrán, Romero, M. R.** La chía, alimento milenario. 12 de febrero de 2012. <<http://es.scribd.com>>.
17. **Pompa S. Saucedo, Aguilar C.N.** “Incremento en la calidad y vida de anaquel de manzanas recubiertas con cera natural a base de dos componentes bioactivos.” 2008. Smbb. 13 de Febrero de 2012. <http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_III/CIII-37.pdf>.
18. **Rodríguez Saucedo, Nereyda Elvia.** “Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas” Enero-abril, 2011. uaemex. 13 de febrero de 2012. <<http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=46116742014>>.
19. **Rojas-Grau M.A., Tapia M.S.** “Empleo de recubrimientos comestibles en frutas frescas cortadas: nuevo enfoque de conservación y desarrollo de productos.” 2007. Revista de tecnología e higiene de los alimentos. 12 de febrero de 2012. Ciens. N° 382. <<http://www.ciens.ucv.ve/icta/index.php>>.
20. **Vázquez-Galindo, J.*, Madrigal Ambriz, L. V.** “Extracción y caracterización físico-química del mucílago de dos variedades de chan (hyptis suaveolens (L.)

poit)” 27 y 28 de Mayo de 2010. Respyn. 5 de Marzo de 2011.
<www.respyn.uanl.mx/especiales/2010/ee-09-2010/.../OT158.pdf>.

21. **Stuart Bárbara.** INFRARED SPECTROSCOPY: FUNDAMENTALS. APPLICATIONS. John Wiley & Sons, Ltd ISBNs: 0-470-85427-8 (HB); 0-470-85428-6 (PB) 2004.

22. **Vázquez Ovando Alfredo, Rosado Rubio Gabriel.** “Propiedades Fisicoquímicas y Funcionales de un Producto Proteínico de Chía (*Salvia hispánica L.*)” IX CONGRESO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS y V FORO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS. Mérida, Yucatán, S/N. México.

7. ANEXO

Anexo I: Formato de evaluación sensorial

Nombre: _____ Fecha: _____			
Muestra: Rebanada de Manzana			
Ante usted tiene 6 muestras de manzana distribuidas en dos series, evalúe cada par ordenando de menor a mayor preferencia (donde el 1= menor , 2= intermedio y 3= mayor preferencia). Anote el código de la muestra en el casillero correspondiente según su preferencia. Recuerde no pasarse la muestra y enjuáguese la boca entre cada par.			
SERIE	PREFERENCIA		
	1	2	3
569, 201, 187			
473, 880, 624			
Comentarios _____			
! Muchas gracias ;			

TABLA G.5. Diferencia de sumatoria ordinal crítica para “tratamientos contra control” dos series. Comparaciones al nivel de significancia del 5%.

Jueces	Número de muestras (incluye control)									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
8	9	13	16	19	23	26	30	33	37	40
9	10	13	17	20	24	28	31	35	39	42
10	10	14	18	21	25	29	33	37	41	45
11	11	15	19	23	27	30	35	39	43	47
12	11	15	19	24	28	32	36	40	45	49
13	12	16	20	24	29	33	38	42	46	51
14	12	17	21	25	30	34	39	44	48	53
15	13	17	22	26	31	36	40	45	50	55
16	13	18	22	27	32	37	42	47	52	56
17	13	18	23	28	33	38	43	48	53	58
18	14	19	24	29	34	39	44	49	55	60
19	14	19	24	29	35	40	45	51	56	61
20	14	20	25	30	36	41	46	52	58	63
21	15	20	26	31	36	42	48	53	59	65
22	15	21	26	32	37	43	49	55	60	66
23	15	21	27	32	38	44	50	56	62	68
24	16	22	27	33	39	45	51	57	63	69
25	16	22	28	34	40	46	52	58	64	70
26	16	22	28	34	41	47	53	59	66	72
27	17	23	29	35	41	47	54	60	67	73
28	17	23	29	36	42	48	55	61	68	74
29	17	24	30	36	43	49	56	63	69	76
30	18	24	30	37	44	50	57	64	70	77
31	18	24	31	37	44	51	58	65	72	78
32	18	25	31	38	45	52	59	66	73	80
33	18	25	32	39	46	52	59	67	74	81
34	19	26	32	39	46	53	60	68	75	82
35	19	26	33	40	47	54	61	69	76	83
36	19	26	33	40	48	55	62	70	77	84
37	20	27	34	41	48	55	63	71	78	85
38	20	27	34	41	49	56	64	72	79	87
39	20	27	35	42	50	57	65	72	80	88
40	20	28	35	43	50	58	65	73	81	89
41	21	28	35	43	51	58	66	74	82	90
42	21	28	36	44	51	59	67	75	83	91
43	21	29	36	44	52	60	68	76	84	92
44	21	29	37	45	53	60	69	77	85	93
45	21	29	37	45	53	61	69	78	86	94
46	22	30	38	46	54	62	70	79	87	95
47	22	30	38	46	54	62	71	79	88	96
48	22	30	38	47	55	63	72	80	89	97
49	22	31	39	47	55	64	72	81	90	98

TABLA G.5. Continuación

Jueces	Número de muestras (incluye control)									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
50	23	31	39	47	56	64	73	82	91	99
55	24	32	41	50	59	68	77	86	95	104
60	25	34	43	52	61	71	80	90	99	109
65	26	35	44	54	64	73	83	93	103	113
70	27	36	46	56	66	76	86	97	107	117
75	28	38	48	58	68	79	89	100	111	121
80	28	39	49	60	71	81	92	104	115	125
85	29	40	51	62	73	84	95	107	118	129
90	30	41	52	63	75	86	98	110	122	133
95	31	42	54	65	77	89	101	113	125	137
100	32	43	55	67	79	91	103	116	128	140

TABLA G.6. Diferencia de sumatoria ordinal crítica para “tratamientos contra control” dos colas. Comparaciones al nivel de significancia del 1%.

Jueces	Número de muestras (incluye control)									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
8	12	16	19	23	27	31	35	39	44	48
9	12	16	21	25	29	33	38	42	46	51
10	13	17	22	26	31	35	40	44	49	53
11	14	18	23	27	32	37	41	46	51	56
12	14	19	24	29	33	38	43	48	53	58
13	15	20	25	30	35	40	45	50	55	61
14	15	20	26	31	36	41	47	52	58	63
15	16	21	26	32	37	43	48	54	60	65
16	16	22	27	33	39	44	50	56	61	67
17	17	22	28	34	40	45	51	57	63	69
18	17	23	29	35	41	47	53	59	65	71
19	18	24	30	36	42	48	54	61	67	73
20	18	24	30	37	43	49	56	62	69	75
21	19	25	31	38	44	51	57	64	70	77
22	19	26	32	38	45	52	58	65	72	79
23	19	26	33	39	46	53	60	67	74	80
24	20	27	33	40	47	54	61	68	75	82
25	20	27	34	41	48	55	62	69	77	84
26	21	28	35	42	49	56	63	71	78	86
27	21	28	35	43	50	57	65	72	80	87
28	21	29	36	43	51	58	66	73	81	89
29	22	29	37	44	52	59	67	75	83	90
30	22	30	37	45	53	60	68	76	84	92
31	22	30	38	46	53	61	69	77	85	93
32	23	31	38	46	54	62	70	78	87	95
33	23	31	39	47	55	63	71	80	88	96
34	24	32	40	48	56	64	73	81	89	98
35	24	32	40	48	57	65	74	82	91	99
36	24	32	41	49	58	66	75	83	92	101
37	24	33	41	50	58	67	76	84	93	102
38	25	33	42	50	59	68	77	85	94	103
39	25	34	42	51	60	69	78	87	96	105
40	25	34	43	52	61	70	79	88	97	106
41	26	35	43	52	61	70	80	89	98	107
42	26	35	44	53	62	71	81	90	99	109
43	26	35	44	54	63	72	82	91	100	110
44	27	36	45	54	64	73	82	92	102	111
45	27	36	45	55	64	74	83	93	103	112
46	27	37	46	55	65	75	84	94	104	114
47	28	37	46	56	66	75	85	95	105	115
48	28	37	47	57	66	76	86	96	106	116
49	28	38	47	57	67	77	87	97	107	117

TABLA G.6. Continuación

Jueces	Número de muestras (incluye control)									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
50	28	38	48	58	68	78	88	98	108	118
55	30	40	50	61	71	81	92	103	114	124
60	31	42	52	63	74	85	96	107	119	130
65	32	43	55	66	77	88	100	112	123	135
70	34	45	57	68	80	92	104	116	128	140
75	35	47	59	71	83	95	107	120	133	145
80	36	48	60	73	85	98	111	124	137	150
85	37	50	62	75	88	101	114	128	141	154
90	38	51	64	77	91	104	118	131	145	159
95	39	52	66	79	93	107	121	135	149	163
100	40	54	68	81	96	110	124	138	153	167