



## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Isaac Andrade González por la confianza depositada en mí, por su apoyo incondicional en todos sentidos y por los conocimientos compartidos como maestro y director de tesis, además de la amistad brindada durante todo este tiempo.

A la Dra. Vania Sbeyde Farías Cervantes por su valiosa contribución y conocimientos como maestra y co-directora en el desarrollo del proyecto, además de su amistad y apoyo moral en este trabajo.

Al Dr. Arturo Moisés Chávez Rodríguez, por su apoyo, dirección y amistad como catedrático y durante el desarrollo del proyecto.

A la Dra. Mayra I. Montero Cortés, por su apoyo, dirección y amistad como catedrática y durante el desarrollo del proyecto.

Al personal de la Planta Piloto de Proceso Agroindustriales del ITTJ especialmente al Ing. Genaro Meza, Ing. Evelia Ríos, Dra. Alejandra Chávez y M.C. Eduardo Figueroa García por su amistad y apoyo durante mi estancia en la planta piloto.

A los catedráticos de la maestría en Agrobiotecnología del ITTJ. Dr. Martín Ávila, Dr. Héctor Flores, Dra. Alejandra Mancilla, Dr. Carlos A. Dr. Carlos Serratos, Dr. Juan Florencio y Dra. Irma López M. Por todos sus conocimientos compartidos

A mis compañeros de generación del ITTJ; Hilda y Cristian, y a mis compañeros de clases; Cristina, Jair, Salvador, Rodrigo, Nancy, José, Guadalupe, Juan, Rolando, Carlos, David y Nicolás por brindarme su apoyo y amistad en todo momento.

Al CONACYT, por su valiosa contribución económica para el desarrollo del proyecto.

Pero sobre todo y especialmente agradecer a mi familia y a Dios.

A mis padres, por su amor y disciplina durante toda mi formación personal y profesional.

A mis hijas e hijos Naomi, Galia, Nicolás y Tadeo por el tiempo que no conviví con ustedes por realizar este proyecto.

A mi esposa M. Liliana Miranda M. por tu apoyo siempre incondicional, por tu confianza en mí, por tu comprensión, por coincidir....

A Dios... por estar conmigo.

## **RESUMEN**

El color del pericarpio es una importante preferencia visual de los consumidores al comprar cítricos.

En México el limón persa es un cultivo de exportación que ve discriminada hasta en un 60% su producción de primeras tallas exportables, quedando estas para el mercado nacional y disminuyendo considerablemente su valor solo por presentar coloraciones amarillas que sobrepasen el 15% del limón.

La clorofila es el pigmento vegetal más ampliamente distribuido en la naturaleza, y el más común en las células vegetales. Actualmente los pigmentos clorofílicos poseen gran importancia comercial, pues debido a sus propiedades físicas, fisicoquímicas y posiblemente biomédicas tienen utilidades como aditivos alimenticios y farmacéuticos.

Aplicar recubrimientos comestibles en frutas a partir de las fuentes renovables, como lípidos, polisacáridos y proteínas, así como mezclas de éstos, disminuyen su tasa de respiración. Retrasan su pérdida de peso por deshidratación, prolongan su pérdida de firmeza y pigmentación.

El objetivo de este trabajo es desarrollar un sistema de impregnación de clorofila al pericarpio del limón persa durante el proceso postcosecha.

Con un diseño experimental factorial fraccionado  $3^{5-1}$  se realizaron 81 tratamientos con tres repeticiones evaluando tres métodos de impregnación, aspersión, inmersión y combinado. Tres tipos de clorofila, clorofila Zn, clorofila Cu, y clorofila base aceite en tres concentraciones al %, 3.5% y 5%, con tres recubrimientos, goma arábica, inulina y mucilago de nopal.

Se logró un proceso de producción de clorofila Cu con pureza del 54%. Con rendimiento de 64 gr/kg. Los recubrimientos evaluados indicaron diferencia significativa en vida de anaquel quedando el mucilago como el menos recomendable.

Se identificó al recubrimiento goma arábica, en el método de impregnación combinado en las temperaturas de 40 a 50°C, a concentraciones del 2 y 3.5% de clorofila Cu, como el proceso que más elevó los valores colorimétricos evaluados, pero sin lograr incrementar al 95% la uniformidad de color en el limón.

## SUMMARY

The color of the pericarp is an important visual preference for consumers when buying citrus fruits.

In Mexico, the Persian lemon is an export crop that is discriminated by up to 60% of its production of first exportable sizes, leaving them for the national market and decreasing its value only by presenting yellow colorations that exceed 15% of the lemon.

Chlorophyll is the most widely distributed plant pigment in nature, and the most common in plant cells. Currently, chlorophyll pigments have great commercial importance, because due to their physical, physicochemical and possibly biomedical properties they have utilities as food and pharmaceutical additives.

Applying edible coatings in fruits from renewable sources, such as lipids, polysaccharides and proteins, as well as mixtures of these, decrease their respiration rate. They delay their weight loss by dehydration; prolong their loss of firmness and pigmentation.

The objective of this work is to develop a system of impregnation of chlorophyll to the pericarp of the Persian lemon during the post-harvest process.

With a fractional factorial experimental design  $3^{5-1}$ , 81 treatments were performed with three repetitions, evaluating three methods of impregnation, aspersion, immersion and combined. Three types of chlorophyll, chlorophyll Zn, chlorophyll Cu, and chlorophyll oil base in three concentrations at 2%, 3.5% and 5%, with three coatings, gum arabic, inulin and cactus mucilage.

A chlorophyll Cu production process with a purity of 54% was achieved. With performance of 64 gr/kg. The coatings evaluated indicated significant difference in shelf life leaving the mucilage as the least recommended.

The gum arabic coating was identified, in the combined impregnation method at temperatures of 40 to 50 ° C, at concentrations of 2 and 3.5% of chlorophyll Cu, as the process that increased the colorimetric values evaluated, but failed to increase the 95% color uniformity in the lemon.

INDICE

INDICE DE FIGURAS .....	6
INDICE DE TABLAS.....	8
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>9</b>
<b>2.0 ANTECEDENTES.....</b>	<b>12</b>
2.1 LA NATURALEZA Y EL COLOR .....	12
2.2 EL LIMÓN Y EL COLOR .....	13
<b>3. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>14</b>
<b>4. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
<b>4.1 LA RESPIRACIÓN DEL LIMÓN. ....</b>	<b>18</b>
4.1.2 ACTIVIDAD CATALASA Y PEROXIDASA EN EL LIMÓN .....	21
4.1.3 ACTIVIDAD ASCÓRBICO OXIDASA EN EL LIMÓN.....	21
4.1.4 ÓSMOSIS .....	22
4.1.5 POTENCIAL OSMÓTICO Y POTENCIAL DE PRESIÓN .....	23
4.1.6 POTENCIAL DE AGUA EN LAS CÉLULAS. ....	24
<b>4.2 LA CLOROFILA.....</b>	<b>25</b>
4.2.1 CLOROFILA COMO PIGMENTO.....	25
4.2.2 CLOROFILA CU Y CLOROFILA ZN .....	26
4.2.3 CLOROFILA ACEITE.....	27
<b>4.3 RECUBRIMIENTOS.....</b>	<b>29</b>
4.3.1 RECUBRIMIENTOS APLICADOS AL LIMÓN PERSA .....	32
<b>4.4 LA GOMA ARÁBIGA .....</b>	<b>32</b>
4.4.1 ESTRUCTURA DE LA GOMA ARÁBIGA .....	32
4.4.2 COMPORTAMIENTO REOLÓGICO. ....	33
4.4.3 SOLUBILIDAD.....	33
4.4.4 VISCOSIDAD .....	34
4.4.5 EFECTO DE PH .....	34
4.4.6 COMPATIBILIDAD .....	35
4.4.7 PROPIEDADES EMULSIFICANTES. ....	35
<b>4.5 INULINA .....</b>	<b>36</b>
4.5.1 ESTRUCTURA DE LA INULINA.....	37
4.5.2 COMPORTAMIENTO REOLÓGICO. ....	37
4.5.3 SOLUBILIDAD.....	38
4.5.4 VISCOSIDAD .....	38
4.5.5 EFECTO DE PH .....	39
<b>4.6 MUCILAGO .....</b>	<b>39</b>
4.6.1 ESTRUCTURA DEL MUCILAGO.....	40
4.6.2 COMPORTAMIENTO REOLÓGICO .....	41
4.6.3 VISCOSIDAD. ....	42

4.6.4 SOLUBILIDAD .....	42
4.6.5 EFECTO DE PH .....	43
4.6.6 PROPIEDADES EMULSIFICANTES .....	43
<b>4.7 MÉTODOS DE IMPREGNACIÓN .....</b>	<b>43</b>
4.7.1 INMERSIÓN .....	44
4.7.2 ASPERSIÓN .....	45
<b><u>5. OBJETIVOS.....</u></b>	<b><u>45</u></b>
<b>5.1 OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>45</b>
5.1.2 OBJETIVOS PARTICULARES. ....	45
<b><u>6.0 MATERIALES Y MÉTODOS.....</u></b>	<b><u>46</u></b>
<b>6.1MATERIALES Y REACTIVOS .....</b>	<b>46</b>
<b>6.2 OBTENCIÓN DE CLOROFILA CON LIGERA MODIFICACIÓN DEL MÉTODO DE FEMAT.....</b>	<b>46</b>
6.2.1 OBTENCIÓN DE CLOROFILA ZN, CLOROFILA CU Y CLOROFILA BASE ACEITE. ....	47
6.2.2 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA .....	53
<b>6.3 ÍNDICE DE MADUREZ.....</b>	<b>54</b>
6.3.1 SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES °BRIX .....	54
6.3.2 ACIDEZ TITULABLE (% ÁCIDO CÍTRICO) .....	54
6.3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	55
<b>6.4 CINÉTICA DE PÉRDIDA DE PESO DE LIMONES RESPECTO A SU RECUBRIMIENTO.....</b>	<b>55</b>
<b>6.5 IMPREGNACIÓN DE CLOROFILA EN EL PERICARPIO .....</b>	<b>56</b>
<b>6.6 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA METODOLOGÍA DEL SISTEMA DE IMPREGNACIÓN Y CONDICIONES DE TRABAJO.....</b>	<b>57</b>
<b>6.7 MÉTODO DE IMPREGNACIÓN.....</b>	<b>60</b>
6.7.1 INMERSIÓN .....	60
6.7.2 ASPERSIÓN .....	60
6.7.3 COMBINADO .....	60
<b>6.8 PREPARACIÓN DE LOS RECUBRIMIENTOS.....</b>	<b>60</b>
<b>6.9 SISTEMA DE IMPREGNACIÓN. ....</b>	<b>61</b>
<b>6.10 ANÁLISIS DE COLOR.....</b>	<b>62</b>
6.1.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	63
6.1.2 TRATAMIENTOS CON SONICADOR. ....	64
<b><u>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</u></b>	<b><u>64</u></b>
<b>7.1 OBTENCIÓN DE CLOROFILA.....</b>	<b>64</b>
<b>7.2 CINÉTICA DE PÉRDIDA DE PESO DE LOS LIMONES RESPECTO A SU RECUBRIMIENTO. ....</b>	<b>66</b>
<b>7.3 IMPREGNACIÓN DE CLOROFILA EN EL PERICARPIO .....</b>	<b>67</b>
<b>7.4 ÍNDICE DE MADUREZ.....</b>	<b>67</b>
.....	68
<b>7.5 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA METODOLOGÍA DEL SISTEMA DE IMPREGNACIÓN. ....</b>	<b>68</b>
<b>7.6 RESULTADOS EN RGB Y RCH .....</b>	<b>72</b>
7.6.1 LUMINOSIDAD .....	72

7.6.2 COLOR ROJO (A) .....	74
7.6.3 COLOR VERDE (B).....	75
7.6.4 MATIZ (C) .....	77
7.6.5 SATURACIÓN DE COLOR (L) .....	78
<b>7.7 TRATAMIENTOS DESTACADOS EN RGB Y LCH.....</b>	<b>79</b>
<b>7.8 TRATAMIENTO CON SONICADOR.....</b>	<b>82</b>
<b>8.0 CONCLUSIONES.....</b>	<b>84</b>
<b>9.0 BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>85</b>
<b>10.0 ANEXOS .....</b>	<b>88</b>

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 ESTADOS CON MAYOR PRODUCCIÓN DE LIMÓN PERSA EN EL PAÍS. ....	9
FIGURA 2 PRINCIPALES ENTIDADES PRODUCTORAS DE LIMÓN EN MÉXICO Y SU VOLUMEN DE PRODUCCIÓN DEL 2012 AL 2017.....	10
FIGURA 3 PROMEDIO DE LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS DE LA PRODUCCIÓN ANUAL DE LIMÓN. ....	10
FIGURA 4 VOLUMEN DE LA PRODUCCIÓN DE LIMÓN DEL 2012 AL 2018. ....	11
FIGURA 5 DESTINOS COMERCIALES DEL LIMÓN MEXICANO. ....	11
FIGURA 6 VOLUMEN DE PRODUCCIÓN DE LOS PRINCIPALES ESTADOS PRODUCTORES DE LIMÓN PERSA EN MÉXICO. ....	12
FIGURA 7 EL COLOR DEL PERICARPIO DEL LIMÓN DE ACUERDO A SU SENESCENCIA. ....	13
FIGURA 8 PATRÓN OFICIAL DE LA NORMA MEXICANA PARA EL COLOR, LOS LIMONES 1 Y 2 CORRESPONDEN A CALIDAD MÉXICO EXTRA, LOS LIMONES 2,3 Y 4 SON MÉXICO A, LOS LIMONES 4, 5 Y 6 SON MÉXICO B Y LIMONES 6 Y 7 MÉXICO C.....	16
FIGURA 10 CALIBRE DEL LIMÓN PERSA SEGÚN NORMA MEXICANA.....	16
FIGURA 11 LIMONES CALIDAD MÉXICO EXTRA.....	17
FIGURA 12 FENÓMENO DE LA DIFUSIÓN Y OSMOSIS. ....	22
FIGURA 13 RELACIÓN DE VISCOSIDAD CONCENTRACIÓN EN PORCENTAJES DE SOLUCIONES DE GOMA ARÁBIGA.	34
FIGURA 14 EFECTO DEL PH SOBRE SOLUCIONES DE GOMA ARÁBIGA. ....	35
FIGURA 15 DIAGRAMA DE FLUJO QUE MUESTRA LA MODIFICACIÓN AL PROCESO DE OBTENCIÓN DE CLOROFILA AL MÉTODO DE FEMAR EN EL 2005.....	47
FIGURA 16 ENJUAGADO MANUAL DE ALFALFA CON CARBONATO DE SODIO .....	47
FIGURA 17 ALFALFA LISTA PARA SU DESHIDRATACIÓN POR CONVECCIÓN EN SECADOR DE CHAROLAS.....	48

FIGURA 18 ALFALFA DESHIDRATADA A PUNTO DE SER PULVERIZADA EN PULVERIZADOR. ....	48
FIGURA 19 ALFALFA PULVERIZADA EN CONSTANTE MOVIMIENTO, IMPULSADA POR UNA PROPELA INTERNA. ...	49
FIGURA 20 PROCESO DE REDUCCIÓN DEL JUGO DE ALFALFA MACERADA, EL ETANOL Y AGUA SE EVAPORAN POR TEMPERATURA, MOVIMIENTO Y PRESIÓN DE SUCCIÓN. ....	49
FIGURA 21 AJUSTE DE LA SOLUCIÓN A PH 12 Y PH 2.7 DEMANDA MANIPULAR CALENTADOR, TERMÓMETRO, PH METRO, SOLUCIÓN EN MOVIMIENTO Y PIPETA .....	50
FIGURA 22 APARIENCIA DE LA SOLUCIÓN DE CLOROFILA LIQUIDA AJUSTADA CON SULFATO DE COBRE. LISTA PARA EL PRECIPITADO Y SEPARACIÓN DEL SEDIMENTO .....	51
FIGURA 23 SEDIMENTO DE CLOROFILA EN EL PROCESO DE LAVADO POR SUCCIÓN DE VACIO. ....	51
FIGURA 24 POLVOS DE CLOROFILA ZN, DE COLOR MÁS CLARO A LA IZQUIERDA Y CLOROFILA CU, DE COLOR MÁS OSCURO A LA DERECHA.....	52
FIGURA 25 OBTENCIÓN DE JUGO DE CLOROFILA BASE ACEITE, FILTRADO EN MANTA.....	52
FIGURA 26 SOBRENADANTE DE CLOROFILA BASE ACEITE LOS SEDIMENTOS SE PRECIPITAN AL FONDO A PARTIR DE 12 HORAS.....	53
FIGURA 27 LIMONES RECUBIERTOS EN EL PROCESO DE PESAJE EN BÁSCULA GRANATARIA .....	55
FIGURA 28 PERICARPIO AJUSTADO A UN GRAMO PARA SU POSTERIOR MACERACIÓN. ....	56
FIGURA 29 MUESTRAS ANALIZADAS DE LOS DIFERENTES TIPOS DE RECUBRIMIENTOS, TESTIGO, GOMA ARÁBIGA, MUCILAGO E INULINA.....	57
FIGURA 30 RECUBRIMIENTOS GOMA ARÁBIGA, MUCILAGO E INULINA LLEVADOS A 50°BRIX. AGITACIÓN MANUAL.....	61
FIGURA 31 FIGURA 29 EJEMPLO DE VALORES COLORIMÉTRICOS DE L A B Y L C H EXPRESADOS POR EXCEL ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO .....	63
FIGURA 32 DIFERENCIAS DE COLOR, A LA IZQUIERDA DE COLOR VERDE OSCURO LA CLOROFILA CU Y A LA DERECHA DE COLOR VERDE CLARO CLOROFILA ZN .....	65
FIGURA 33 DIFERENCIAS DE COLOR DE DOS PRODUCCIONES DE CLOROFILA ZN, A LOS EXTREMOS Y CLOROFILA CU AL CENTRO.....	65
FIGURA 34 CLOROFILA BASE ACEITE, AL OXIDARSE ADQUIERE COLOR MARRÓN INTENSO. ....	66
FIGURA 35 CINÉTICA DE LA PÉRDIDA DE PESO DE LOS LIMONES RESPECTO A SU RECUBRIMIENTO. ....	66
FIGURA 36 EL RECUBRIMIENTO A BASE DE MUCILAGO, FAVORECIÓ LA OXIDACIÓN DEL LIMÓN.....	68
FIGURA 37 GRÁFICO DE VALORES DE LOS TRATAMIENTOS DE LUMINOSIDAD (L). LOS MARCADOS EN COLOR ROJO SON LOS TRATAMIENTOS DESEABLES. LOS DE COLOR AZUL POR EL CONTRARIO, AUMENTARON SU LUMINOSIDAD. ....	73
FIGURA 38 GRÁFICO DE VALORES DE LOS TRATAMIENTOS EN ROJO (A). SOLO CUATRO TRATAMIENTOS, MARCADOS EN COLOR ROJO OBTUVIERON DIFERENCIA IMPORTANTE.....	75

FIGURA 39 GRÁFICO DE VALORES DE LOS TRATAMIENTOS EN VERDE (B). MARCADOS CON COLOR ROJO, OCHO TRATAMIENTOS, HICIERON MÁS INTENSO EL COLOR VERDE AL BAJAR SUS VALORES. ....	76
FIGURA 40 GRÁFICO DE VALORES DE TRATAMIENTOS EN MATIZ (C), MARCADOS EN COLOR ROJO LOS TRATAMIENTOS CON DIFERENCIA COLORIMÉTRICA .....	77
FIGURA 41 GRÁFICO DE VALORES DE TRATAMIENTOS EN SATURACIÓN (H). LOS MARCADOS EN AZUL SON DESEABLES PUES SUBIERON SUS VALORES ESTADÍSTICOS, LOS MARCADOS EN COLOR ROJO POR EL CONTRARIO BAJARON LA SATURACIÓN DE COLOR.....	79
FIGURA 42 LIMONES SOMETIDOS AL TRATAMIENTO CON SONICADOR.....	83
FIGURA 43 VALORES DE GOMA ARÁBIGA (EN COLOR ROJO) E INULINA (EN COLOR AZUL) EN L, A, B, C Y H ANTES Y DESPUÉS DE LOS TRATAMIENTOS CON SONICADOR.....	83

## INDICE DE TABLAS

TABLA 1 PORCENTAJE DE DECOLORACIÓN PERMITIDO POR LA NORMATIVIDAD CODEX STAN 213-1999.....	17
TABLA 2 TRATAMIENTOS .....	53
TABLA 3 RECUBRIMIENTOS ANTES Y DESPUÉS DE LA IMPREGNACIÓN DE CLOROFILA.....	61
TABLA 4. MATRIZ GENERAL DE DESVIACIONES ESTÁNDAR, EN DONDE DESTACA ESTADISTICAMENTE EL TRATAMIENTO 5.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
TABLA 5 VALORES COLORIMÉTRICOS DEL TRATAMIENTO 5 CON UN SISTEMA DE IMPREGNACIÓN A BASE DE INMERSIÓN, CLOROFILA Cu, 2%, 40°C, GOMA ARÁBIGA.....	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
TABLA 6 TRATAMIENTOS DESCRITOS CON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS.....	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
TABLA 7 VALOR COLORIMÉTRICO DE LOS TRATAMIENTOS LLEVADOS A RGB Y HSL DE EXCEL QUE MOSTRARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS EN L, A, B, C Y H. ....	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
TABLA 8. TRATAMIENTOS CON DIFERENCIAS EN ( L ) LUMINOSIDAD Y SUS DESCRIPCIONES. .	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
TABLA 9 TRATAMIENTOS CON DIFERENCIAS EN ROJO (A) MATIZ, DESCRITOS.	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
TABLA 11 TRATAMIENTOS CON DIFERENCIAS EN VERDE (B) Y SUS DESCRIPCIONES. ....	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
TABLA 11 TRATAMIENTOS CON DIFERENCIAS EN MATIZ (C). Y SUS DESCRIPCIONES. ....	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
TABLA 12 TRATAMIENTOS CON DISMINUCIONES Y AUMENTOS EN SATURACIÓN (H). ....	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
TABLA 13 TRATAMIENTOS DESTACADOS EN L, A , B, C Y H .....	74

TABLA 14 VALOR COLORIMÉTRICO DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS TANTO EN ANOVA Y CONFRONTACIÓN DE DESVIACIONES ESTÁNDAR LLEVADOS A RGB Y HSL DE EXCEL QUE MOSTRARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS EN VERDE (B). ..... **¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.5**

## 1. INTRODUCCIÓN

El limón es el segundo cítrico más importante en nuestro país, tanto por su consumo en fresco como por su uso industrial. Dentro del contexto mundial México está considerado como el principal país productor en dos variedades. (*Citrus latifolia*, sin semilla y *citrus aurantifolia* con semilla). En el año comercial 2016/17 (agosto - julio) el país participó en el 33.8 por ciento de la producción mundial (7 millones de toneladas) y en la última década, el país se ubicó como el principal exportador mundial. (USDA/FAS, 2017).

La producción nacional de limón en 2017, fue de 2.5 millones de toneladas, representando un crecimiento de 3.4% respecto al año previo. (SE 2018) El mayor porcentaje del valor de la producción de limón por entidad federativa se ubica en tres estados Michoacán, Veracruz y Oaxaca, entre ellos suman el 66.1 % de la producción nacional, figura 1.



Figura 1 Estados con mayor producción de limón persa en el país.

El limón se produce en la mayoría de los estados del país, siendo Michoacán, Veracruz, Oaxaca, Colima, Tamaulipas, Jalisco, Tabasco, Guerrero, Yucatán y San Luis Potosí los que destacan del resto por su volumen de producción figura 2.

Rank	Entidad federativa	Volumen (toneladas)		Variación (%) 2012-2017
		2012	2017	
<b>Total nacional</b>		<b>2,055,209</b>	<b>2,513,391</b>	<b>22.3</b>
1	Michoacán	475,568	711,181	49.5
2	Veracruz	558,130	658,282	17.9
3	Oaxaca	199,535	274,564	37.6
4	Colima	354,705	242,400	-31.7
5	Tamaulipas	43,817	123,169	181
6	Jalisco	40,777	89,003	118
7	Tabasco	84,106	83,971	-0.2
8	Guerrero	75,016	79,275	5.7
9	Yucatán	126,924	74,244	-41.5
10	San Luis Potosí	10,461	40,596	288
	Resto	86,169	136,706	58.6

Figura 2 Principales entidades productoras de limón en México y su volumen de producción del 2012 al 2017.

Desde el 2008 al 2017 este cultivo a reflejado un promedio de producción anual de 2, 184,000 toneladas anuales pero es a partir del 2012 a la fecha cuando comienza una tendencia sostenida a la alza en la producción de aproximadamente 100,000 ton. Anuales, figura 3



Figura 3 Promedio de los últimos 10 años de la producción anual de limón.

En la producción mundial de limón, la agricultura mexicana es una de las más productivas, tiene un aporte de 14% al volumen de cosecha internacional. India

obtiene un volumen anual del fruto que representa 17.2% del total generado en el planeta. De las frutas que México exporta, este limón ocupa la cuarta posición por el valor de sus ventas, durante el 2017, el volumen ofertado al exterior alcanzó 729 mil 650 toneladas figura 4.



Figura 4 Volumen de la producción de limón del 2012 al 2018.

El mayor importador del fruto en el orbe es Estados Unidos, el cual adquirió de México 665 mil toneladas durante 2017. En el referido año, el limón nacional se comercializó con 28 países, figura 5.



Figura 5 Destinos comerciales del limón mexicano.

Hablando exclusivamente del cultivo de limón persa o "sin semilla", (*Citrus latifolia*) en México se dedica casi exclusivamente a la exportación, este cítrico en los últimos años ha tenido un importante auge, lo que ha permitido elevar la superficie cosechada y la producción. Cuatro estados exportan en su conjunto 81.9 % del total de limón persa producido en el país, figura 6.

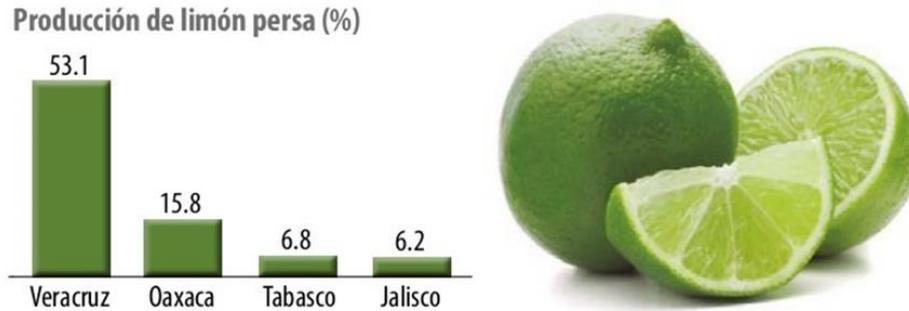


Figura 6 Volumen de producción de los principales estados productores de limón persa en México.

## 2.0 ANTECEDENTES

### 2.1 La naturaleza y el color

La naturaleza se basa en una variedad de compuestos para impartir colores a organismos vivos y para llevar a cabo diversas funciones. Los colores pueden ser rojo, morado, naranja, marrón, amarillo, verde, azul o sus diferentes tonos. En el caso de los alimentos crudos no procesados, estos compuestos o pigmentos naturales mejoran su atractivo visual para consumidores que asocian los colores de los alimentos con la calidad y frescura. Estos compuestos naturales están muy extendidos en los animales, plantas y microorganismos (incluyendo algas, hongos y levaduras).

En todos estos organismos, estos compuestos muestran varios tonos de colores negro, azul, marrón, verde, naranja, rosa, rojo o amarillo. Ejemplos de alimentos frescos con colores verdes incluyen espárragos, limones, aguacate, brócolis, coles de Bruselas, repollo, apio, pepino, judías verdes, kiwi, lechuga, espinaca y calabacín; ejemplos de los tipos con colores amarillos son pimientos amarillos, mangos, limón, calabaza, piña, calabaza; Aunque es su atractivo visual lo que primero atrae a los consumidores la atención a los alimentos, estos compuestos también llevan a cabo una gran cantidad de funciones clave en organismos vivos. (Simpson 2012).

En el caso de los limones, algunos compuestos que participan en procesos metabólicos (ej. clorofilas o carotenoides, en reacciones biosintéticas y generación de energía); algunos otros sirven como antioxidantes y protegen biomoléculas vulnerables de daño

oxidativo; mientras que otros juegan un papel en la visión o tienen la función de proteger pieles y membranas contra los efectos dañinos de la luz del sol y la radiación. Por lo tanto, no es sorprendente que el interés en estos compuestos se extiendan más allá del atractivo visual y las preferencias del consumidor en alimentos que abarquen también otros aspectos tales como los beneficios de salud que brindan. (Reina 1995). Los cítricos, alteran o ajustan su comportamiento fisiológico como respuesta obligada de sus células, tejidos y órganos a las nuevas condiciones, tratamientos y manipulación a las que son sometidas, a partir del momento mismo de la cosecha, siendo retiradas de su fuente y medio natural de producción. Estas respuestas se manifiestan a través del cambio, en los procesos bioquímicos normales entre ellos la respiración (Gallo, et al 1996).

## **2.2 El limón y el color**

El color del pericarpio (cascara) es una importante preferencia visual de los consumidores al comprar los cítricos. A medida que los cítricos maduran, una disminución en la concentración de clorofila desenmascara la presencia de pigmentos. (Vázquez y Briones 2013). Figura 7



Figura 7 El color del pericarpio del limón de acuerdo a su senescencia.

Desde que el limón adquiere su forma y contextura, lo que consideramos que hace cuando su peso es generalmente de 8 a 10 gramos, consta de tres zonas bien definidas

a) La corteza, o flavedo, también llamado exocarpo o pericarpio o cascara, donde están contenidos los pigmentos porfirínicos y los sacos donde se guardan los aceites esenciales.

b) El albedo, mesocarpo, o parte blanca, de espesor variable con la clase del fruto y con la etapa de su vida.

c) La zona de los carpelos, también conocida como endocarpo, constituida por sacos donde se almacena el jugo ácido, conforme se desarrolla el fruto, estos sacos están rodeados por las membranas carpelares que los aíslan de las zonas exteriores del fruto.

El color de la corteza (flavedo o pericarpio) es una importante preferencia cosmética de los consumidores al comprar los cítricos. A medida que los cítricos maduran, una disminución en la concentración de clorofila desenmascara la presencia de pigmentos carotenoides seguida de una síntesis adicional de carotenoides, dando como resultado la aparición inicial del color amarillo o naranja característico de los cítricos maduros.

(Sabater 1997).

El color es la parte más sensitiva de cualquier mercancía (commodity) tanto por su atracción como por la aceptación que este genera sobre el consumidor final. Los colores de los alimentos crean expectativas psicológicas, fisiológicas y actitudes que son desarrolladas por experiencia, tradición, educación y ambiente. (Dharmaraj et al 2009).

Los requerimientos de los consumidores son altos y como alimentos pueden contener colores placenteros y pueden contener ingredientes “naturales”. También hay una fuerte preferencia por pigmentos producidos biológicamente (ej. Carotenoides) en lugar de los pigmentos sintetizados. Otro punto principal respecto a los pigmentos es su actividad biológica – antioxidante. (Agócs y Deli, 2011).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

En México el limón persa ve discriminada hasta en un 60% su producción de primeras tallas exportables, quedando estas para el mercado nacional y disminuyendo considerablemente su valor, solo por presentar coloraciones amarillas que sobrepasen

el 15% del limón. Aunque la *NORMATIVIDAD CODEX STAN 213-1999 ENMIENDA 2005, 2011*. En sus *DISPOSICIONES RELATIVAS A LA CALIDAD* establece como *REQUISITOS MÍNIMOS* en todas las categorías, a reserva de las disposiciones especiales para cada categoría las tolerancias permitidas, en estas especificaciones los limones deberán:

- estar enteros.
- estar sanos, y exentos de podredumbre o deterioro que hagan que no sean aptos para el consumo.
- estar limpios, y prácticamente exentos de cualquier materia extraña visible.
- estar prácticamente exentos de plagas que afecten al aspecto general del producto.
- estar prácticamente exentos de daños causados por plagas.
- estar exentos de humedad externa anormal, salvo la condensación consiguiente a su remoción de una cámara frigorífica.
- estar exentos de cualquier olor y/o sabor extraños.
- ser de consistencia firme.
- estar exentos de daños causados por bajas temperaturas.
- estar prácticamente exentos de magulladuras.
- estar sin semillas.

La norma mexicana también establece las especificaciones mínimas de calidad que debe cumplir el limón para ser comercializado, en estado fresco y envasado, en territorio nacional. Según el Atlas Agroalimentario de 2018 Se clasifica del verde al amarillo, de acuerdo con su Patrón Oficial de color y tamaño. Para considerar que un lote es de las calidades México extra, México A, México B y México C, debe corresponder con uno de los colores, figura 8.

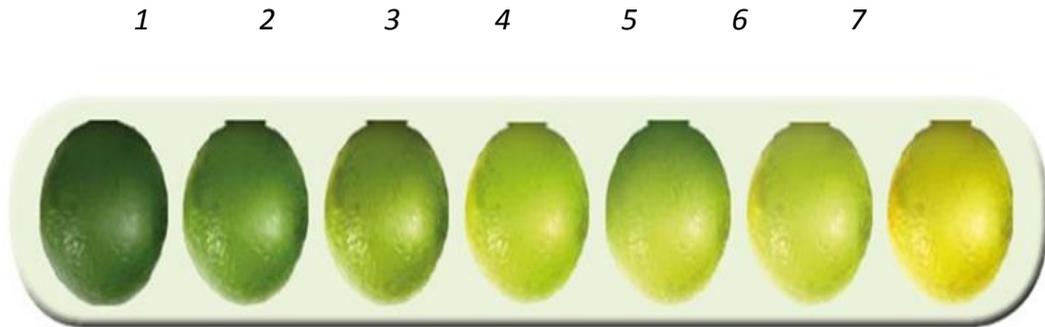


Figura 8 Patrón oficial de la norma mexicana para el color, los limones 1 y 2 corresponden a calidad México Extra, los limones 2,3 y 4 son México A, los limones 4, 5 y 6 son México B y limones 6 y 7 México C.

Se contemplan ligeras variaciones de color de acuerdo a la variedad del limón y al tamaño o calibre del fruto, El calibre se determina por el diámetro máximo de la sección ecuatorial del fruto, de acuerdo con el siguiente cuadro, Figura 9.

### Limón persa según la norma mexicana

Calibre	Milímetros (mín - máx)	Piezas por kilogramo
1	58 - 67	6 - 7
2	53 - 62	8 - 9
3	48 - 57	10
4	46 - 52	11 - 12
5	43 - 46	13
6	38 - 43	14

Figura 9 Calibre del limón persa según norma mexicana.

Los mismos limones a comercializar en México deben cumplir con las tolerancias mínimas de limones decolorados del Patrón Oficial de color y tamaño si se pretende exportarlos, según la normatividad internacional, figura 10.

Tabla 1 Porcentaje de la decoloración permitido por la normatividad CoDEX STAN 213-1999.

TIPO DE LIMÓN	GRADO DE CALIDAD	TOLERANCIA EN COLORACION (% DE LIMONES DECOLORADOS)
PERSA ( <i>Citrus latifolia</i> )	MÉXICO EXTRA	5 %
	MÉXICO A	10%
	MÉXICO B	20%

Figura 10. Porcentaje de decoloración permitido por la NORMATIVIDAD CODEX STAN 213-1999.

En categoría Extra, el color debe ser homogéneo, la parte visible del contenido del envase deberá ser representativa de todo el contenido. No deberán tener defectos, salvo defectos superficiales muy leves siempre y cuando no afecten al aspecto general del producto. Figura 10



Figura 10 Limones calidad México Extra

En las categorías siguientes, se permiten defectos de coloración (leves en la categoría México Extra). Estas categorías comprenden los limones que no pueden clasificarse en las categorías superiores, pero satisfacen los Requisitos Mínimos especificados en las Disposiciones Relativas a la Calidad. Podrán permitirse, sin embargo, los siguientes defectos:

- defectos de forma.
- defectos de coloración.
- defectos de la cáscara que no excedan 1cm<sup>2</sup> en el calibre 2, y 2 cm<sup>2</sup> en el calibre 3.
- En ningún caso los defectos deberán afectar a la pulpa del fruto.

## **4. MARCO TEÓRICO**

### **4.1 La respiración del limón.**

La respiración es el proceso mediante el cual reservas orgánicas (carbohidratos, proteínas, grasas) son degradados a productos finales simples con una liberación de energía. El oxígeno (O<sub>2</sub>) es usado y el bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) es producido en este proceso. La pérdida de las reservas de materia orgánica en el producto durante la respiración significa:

Una aceleración de la senescencia conforme las reservas que mantienen vivo al producto se agotan.

2) Una reducción en el valor nutritivo (valor energético) para el consumidor.

3) Pérdida en la calidad del sabor.

4) Pérdida del peso seco vendible (especialmente importante para productos destinados a la deshidratación).

La energía liberada como calor conocida como calor vital, afecta las consideraciones en el uso de tecnología postcosecha, así como las estimaciones de los requerimientos de enfriamiento y ventilación.

La tasa de deterioro de productos cosechados es generalmente proporcional a la tasa respiratoria.

De acuerdo a su velocidad de respiración el limón presenta una tasa de 5-10 a 5°C, (mg CO<sub>2</sub>/kg hr) tasa de respiración considerada Baja.

Basados en su respiración y producción de etileno durante la maduración fisiológica y comercial, los frutos pueden ser climatéricos o no climatéricos. Los climatéricos muestran un fuerte aumento en la producción de CO<sub>2</sub> y etileno, los cuales coinciden

con el proceso de maduración comercial, mientras que los frutos no climatéricos como es el caso del limón no muestran estos cambios y, generalmente, producen bajo CO<sub>2</sub> y Etileno durante la maduración comercial. De acuerdo a la tasa de producción de Etileno medida a 20°C en un rango de ( $\mu\text{l C}_2\text{H}_4/\text{kg-hr}$ ) el limón presenta menos 0.1 una tasa considerada muy baja.

Los caminos catabólicos generales de la respiración de las plantas sintetizan monosacáridos, alcaloides, pigmentos y taninos en la fotosíntesis.

Sobre el limón, a varias concentraciones de oxígeno en la atmósfera, la velocidad de desprendimiento de CO<sub>2</sub> disminuye gradualmente con el tiempo. Un análisis de los gases producidos por el fruto muestra que el limón no produce CO<sub>2</sub> y tampoco etileno. Analizando en el fruto durante la maduración del limón, este produce sustancias tales como el ácido acético y el etanol, productos típicos de la respiración anaerobia, y observa la mayor acumulación de dichas sustancias durante la maduración.

En frutos almacenados, el potencial anaerobio se observa que cambia continuamente, aumenta durante las primeras semanas del almacenaje y después disminuye hasta el final de la vida del fruto.

En el flavedo aumenta hasta tres veces la respiración total y en el albedo hasta seis, mientras se observa con el tiempo una variación de dicha influencia, desde que hay frutos jóvenes, en los que sólo hay un ligero aumento, hasta el tiempo de la total madurez, en que la respuesta crece claramente. Llegando a la conclusión de que, al menos las variedades de limón más estables al almacenaje poseen un alto nivel de actividad oxidativa dinámica muy sensible a cualquier estímulo fisiológico.

1) En frutos adultos el flavedo es superior a las demás zonas en cuanto al consumo de oxígeno y el albedo superior a los sacos, los cuales casi no tienen capacidad para consumirlo- El dióxido de carbono desprendido también es mayor en el flavedo, pero no se observan diferencias notables entre el albedo y los sacos. El cociente respiratorio aumenta al penetrar en el interior, pero, incluso en el flavedo, es siempre superior a la unidad.

2) En frutos desarrollados cogidos el mismo día no se observa variación de la respiración del flavedo al pasar del color verde al amarillo reciente y sí un ligero descenso en el amarillo intenso.

3) En frutos jóvenes en las primeras etapas de desarrollo la capacidad respiratoria es extraordinariamente mayor en los sacos que en las demás zonas, tanto en el consumo de oxígeno como en el desprendimiento de dióxido de carbono, superioridad que al crecer el fruto va desapareciendo, pero no bruscamente, como lo hacen las actividades enzimáticas como la catalasa y peroxidasa, sino de una manera gradual.

Particularmente se observa un descenso mayor y definitivo cuando está acabando el desarrollo del fruto.

4) El cociente respiratorio de los sacos al principio del desarrollo vale siempre la unidad y va aumentando al crecer el fruto. En flavedo y albedo también va aumentando, pero en las primeras etapas es siempre menor que la unidad.

5) La presencia de iones  $\text{Cu}^+$  no demuestra afectar a la respiración durante el intervalo de 30 minutos; los iones  $\text{Fe}^+$  y  $\text{Mn}$  presentan, dentro de este intervalo, una inhibición progresiva, lo que se asigna a problemas de difusión en el tejido.

6) En flavedos de frutos adultos durante los primeros minutos la atmósfera de nitrógeno no influye sobre la cantidad de dióxido de carbono desprendido con respecto a medio aerobio, pero poco a poco va disminuyendo el desprendimiento y al cabo de una hora la respiración se hace muy pequeña.

Un poco antes de empezar la maduración el albedo, los sacos desprenden más  $\text{CO}_2$  en ausencia que en presencia de oxígeno. En los frutos muy jóvenes los sacos respiran extraordinariamente en el medio anaerobio, lo mismo que en el aerobio, mientras que el flavedo y el albedo casi son incapaces de respirar en el medio anaerobio.

7) Durante el almacenaje las actividades ascórbico oxidasa, catalasa y peroxidasa incrementan para luego descender al acercarse el momento en que el fruto pierde su vitalidad.

8) Los frutos que padecen clorosis demuestran siempre actividades catalasa y peroxidasa muy bajas. Su respiración no parece diferir mucho de la del fruto normal en cuanto a intensidad. (Sabater 1997).

#### **4.1.2 Actividad catalasa y peroxidasa en el limón**

1) Las actividades catalasa y peroxidasa, a partir de la etapa en que la zona de los sacos está bien definida (cuando el fruto pesa aproximadamente 10 gramos), se encuentran localizados, casi en su totalidad, en el flavedo.

2) En general, ambas actividades van disminuyendo en el flavedo durante el período del crecimiento. Con respecto a esta línea general la actividad catalasa presenta la excepción de un ascenso desde los 10 a los 26,5 - 45 gramos; en peroxidasa, en cambio, se observa una ligera depresión que corresponde a un peso del fruto entre 17,5 y 21 gramos.

3) Se observa una superioridad del albedo sobre los sacos en ambas actividades, pero en el caso de catalasa esto depende parcialmente de la época del año, mientras que en peroxidasa es un fenómeno general

4) Durante la maduración, desde el color verde hasta el amarillo intenso, no varía sensiblemente ninguna de estas actividades. En dicha etapa del fruto son frecuentes los casos de indudable, aunque pequeñísima actividad peroxidasa en sacos. (Sabater 1997).

#### **4.1.3 Actividad ascórbico oxidasa en el limón.**

1) Existe en el limón, una capacidad para oxidar el ácido ascórbico, que varía gradualmente desde un valor muy alto en frutos jóvenes hasta valores muy pequeños en frutos maduros.

2) Durante la mayor parte de la vida del fruto la actividad en los sacos es menor que en las demás zonas aunque la diferencia no es tan grande como en el caso de catalasa y peroxidasa. En los frutos de peso mínimo llega a ser mayor en los sacos que en las demás zonas, pero se observa un descenso muy brusco al definirse bien dicha zona (entre 10 y 15 gramos de peso total del fruto).

3) Nunca se observa aquí la gran superioridad del flavedo sobre el albedo, como ocurre con catalasa y peroxidasa, más bien puede deducirse una ligera superioridad del

albedo. En todas las zonas se observa un descenso gradual de la actividad al progresar la vida del fruto, descenso que se acentúa algo cuando el flavedo pierde su color verde. (Sabater 1997).

#### 4.1.4 Ósmosis

El término ósmosis (del griego *osmos*, que significa "empuje") se refiere al movimiento de agua o cualquier otro solvente a través de una membrana selectivamente permeable. Evidentemente, en el caso de las células, el disolvente siempre es agua. El agua fluye de manera espontánea desde una región de menor concentración a una de mayor concentración de solutos (mayor concentración de agua). Aunque el agua puede pasar directamente a través de la membrana, las proteínas transportadoras de nombre acuaporinas suelen facilitar la ósmosis formando canales que admiten específicamente el agua.

La ósmosis es similar a la difusión de solutos en tanto cada sustancia se mueve de forma espontánea hacia una región donde dicha sustancia está menos concentrada. Al igual que otras sustancias que se mueven a través de una membrana, el agua tiende a fluir para igualar su concentración. (Neyoy 2012), figura 11.

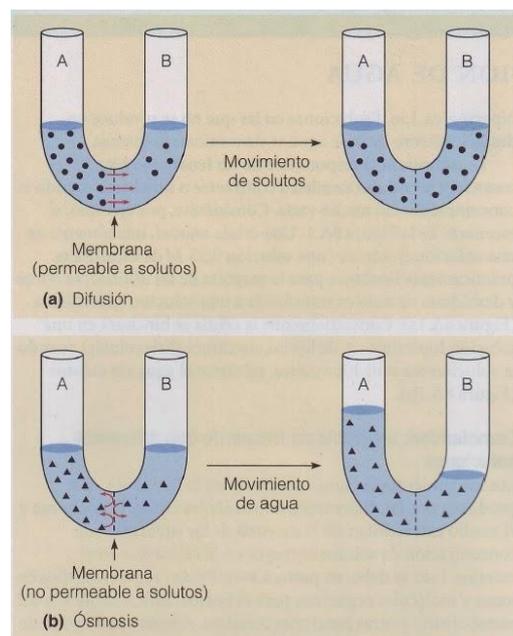


Figura 11 Fenómeno de la difusión y ósmosis.

Las células vegetales vivas contienen entre un 70% y un 80% de agua. Como el agua ocupa espacio, una célula que absorbe agua, incrementa su tamaño. Las células vegetales poseen paredes celulares rígidas que resisten la expansión. Por lo que el crecimiento celular implica que la cantidad de agua se incremente y que la pared celular se debilite. (A. Kader 1992)

El contenido celular absorbe agua debido a una fuerza denominada potencial osmótico, la medida de la tendencia del agua a moverse a través de una membrana como resultado de la concentración de solutos. El potencial osmótico también recibe el nombre de potencial de solutos. La dirección de movimiento de los solutos depende de la concentración de los mismos en el interior y exterior de la célula. La célula vegetal absorbe o pierde agua dependiendo del tipo de solución en que se encuentre. Cuando la célula vegetal solo absorbe agua, esto aumenta la presión de la célula y mantiene la turgencia de la planta, a esta condición se le conoce como hipertónica (del griego *hyper*, "sobre"). En condiciones en la que se da una entrada y salida de agua, encontramos que la célula no ocupa todo el espacio encerrado por la pared celular. (Murray 2005).

#### **4.1.5 Potencial osmótico y potencial de presión**

Por el hecho de que la ósmosis resulta en transferencia del agua a una solución concentrada. Supóngase que una solución está en el interior de un saco o "célula" hecho de una membrana artificial diferencialmente permeable. La célula artificial se sitúa entonces en un recipiente con agua pura, el agua difunde al interior de la célula por ósmosis hasta que la célula llega a su condición de hinchamiento (túrgida) y sus paredes distendidas ejercen una presión sobre los contenidos celulares, la presión ejercida sobre el líquido por las paredes de una célula túrgida se llama presión de turgencia. Cuando el agua penetra a la célula por ósmosis contra un gradiente de presión, está haciendo un trabajo. El potencial con que el agua pura difunde hacia una solución es el potencial osmótico de esa solución, puesto que el agua difunde de alto potencial (cero en el agua pura) a bajo potencial, el potencial osmótico de una solución

es siempre negativo. El potencial osmótico es, entonces, una medida de la presión real que puede generarse en una célula mediante difusión del agua por Ósmosis.

La consecuencia de la presión de turgencia es que el agua está siendo literalmente exprimida de la célula. Esta es otra manera de decir que el agua difunde al exterior de la célula hacia abajo de un gradiente de presión. Así pues, el agua de la célula posee un potencial de presión positivo y mayor que el potencial de presión del exterior. El potencial de presión del agua a presión atmosférica es, por definición, cero. Por tanto, los valores del potencial de presión pueden fluctuar desde negativos a altamente positivos. (Bidwell 1993).

#### **4.1.6 Potencial de agua en las células.**

Las membranas que rodean la célula son diferencialmente permeables, y la ósmosis tiene lugar a través de ellas. Si la célula se sitúa en una solución diluida o agua pura, cuyo potencial osmótico, es muy alto (esto es, cercano a cero) el agua difunde al interior y la célula se pone túrgida. La solución externa, cuya concentración de solutos es menor que la del jugo celular, se dice que es hipotónica (*hypo*, menor que). Si la célula se coloca en una solución potencial osmótico es igual a la del jugo celular, la solución es isotónica (*iso*, lo mismo), no tiene lugar la difusión neta de agua y la célula es flácida o carece de turgencia. Si la solución externa es más concentrada que el jugo celular, o hipertónica (*hyper*, más que) su potencial osmótico es menor que la del jugo celular y el agua difundirá al exterior. Puesto que la pared celular es relativamente rígida, el protoplasma se retrae de la pared a medida que se encoge y la célula llega a plasmolizarse. La plasmólisis no necesariamente daña en forma permanente a la célula. Si ésta se coloca de nuevo en una solución hipotónica recupera rápidamente el agua perdida y su turgencia mediante la ósmosis. Si el periodo y la severidad de la plasmólisis no son demasiado grandes, la célula probablemente no se dañe. En resumen, en una solución hipotónica el agua difunde al interior de la célula, en una solución isotónica no hay movimiento de agua, y en una solución hipertónica la célula se plasmoliza, fluye el agua al exterior. (Bidwell 1993).

## 4.2 La clorofila

La clorofila está presente en virtualmente todas las plantas excepto en las muy simples y en las formas más primitivas. Es el único pigmento verde natural que está presente en mayor proporción y su producción natural anual se estima en 1.2 billones de toneladas a nivel global de los cuales una cuarta parte se producen a nivel terrestre. Su papel base es la conversión del dióxido carbono y agua en carbohidratos con la liberación de oxígeno usando la luz del sol como fuente de energía. Su presencia en las plantas es confinada a los cloroplastos en los cuales esta acomplejada (pero no unida) con polipéptidos, fosfolípidos y tocoferoles, siendo retenida dentro de membranas hidrofóbicas como los tilacoides de los cuales puede ser extraída usando los solventes adecuados. (Humprey y Wrolstad, 2004).

La estructura química básica de la clorofila consiste de una molécula macrocíclica de cuatro anillos pirrolicos unidos por puentes de metileno y coordinados a un átomo de magnesio. La clorofila además tiene un quinto anillo (ciclopentano) y una larga cadena lateral hidrofóbica derivada del fitol ( $C_{20}H_{39}OH$ ), la cual confiere gran hidrofobicidad a esta molécula. Por lo menos se conocen seis diferente moléculas de clorofila: Clorofila *a*, *b* (ambas encontradas en plantas mayores), *c*, *d*, *e* (encontradas en algas) y bacterioclorofilas (encontrados en bacterias fotosintéticas). Cada molécula difiere en sus grupos funcionales; por ejemplo la clorofila “a” posee un grupo metilo, mientras que la clorofila *b* tiene un grupo aldehído. (Tumolo et al 2012).

### 4.2.1 Clorofila como pigmento

La clorofila es el pigmento vegetal más ampliamente distribuido en la naturaleza, y el más común en las células vegetales. La vasta mayoría de los organismos fotosintéticos contienen alguna forma de los pigmentos clorofílicos acarreadores de energía, se encuentran principalmente en los cloroplastos de las células de las hojas y otros tejidos vegetales.

Actualmente los pigmentos clorofílicos poseen gran importancia comercial, pues debido a sus propiedades físicas, fisicoquímicas y posiblemente biomédicas tienen utilidades como aditivos alimenticios y farmacéuticos. Estos pigmentos son

químicamente inestables y pueden ser fácilmente alterados o degradados, cambiando la percepción de la calidad del producto a los que son destinados. En general las clorofilas son relativamente inestables y sensibles a la luz, calor, el oxígeno y la degradación química.

Hay un creciente interés en la industria alimentaria por colorantes y sabores naturales, que produzcan sobre los alimentos características similares a las que poseen en condiciones naturales (Uhl, 1995).

Para considerar a un pigmento como colorante, su estabilidad, rendimiento y precio son las principales restricciones, a pesar de sus debilidades estructurales inherentes estos colorantes están ganando importancia por sus actividades farmacéuticas, además de salud, higiene y nutrición, moda e impacto ambiental. (Chattopadhyay et al 2008).

Los pigmentos vegetales con algunas excepciones son siempre susceptibles al metabolismo. Pero están protegidos contra degradaciones descontroladas mediante la existencia en ambientes biológicos específicos. Las moléculas de pigmentos no necesariamente necesitan ser sintetizadas de nuevo para compensar su degradación (Wissgott y Bortlik, 1996).

La clorofila es uno de los principales derivados del mundo vegetal que es permitido como un pigmento alimenticio verde. La clorofila es un pigmento estable en la naturaleza, pero cuando es extraído de tejidos vegetales puede ser degradado debido a calentamiento, luz, oxígeno, ácido y enzimas. (Manrique 2003).

#### **4.2.2 Clorofila Cu y clorofila Zn**

Sin embargo colorantes como la clorofila proveniente de fuentes naturales posee una forma inapropiada para usarse como colorante debido a su rápida degradación. Esta es rápidamente degradación por reacciones enzimáticas u otros factores como condiciones acidas, presencia de oxígeno, luz y calor, resultan así en derivados de la clorofila como

Cuando esta se degrada se da la formación de derivados de clorofila como feofitina, clorofilina y feofobidios. La feofitina es producida por la remoción acida del ion

magnesio (Mg) de la molécula de clorofila. La feofitina es convertida a feoforbidio a través de la pérdida de su cadena fitol. La conversión de feofitina a feoforbidio resulta en la formación de un pigmento amarillo olivo. Con la hidrólisis de la cadena lateral fitol por la enzima clorofilasa la clorofila suele llamarse como clorofilina.

Esfuerzos para preservar el color verde de la clorofila incluyen: inactivación térmica de la enzima clorofilasa para minimizar la conversión de clorofila en feofitina, la adición de sales de  $Mg^{++}$  para prevenir la pérdida de magnesio, la adición de sales de  $Cu^{++}$  o  $Zn^{++}$  para obtener nuevos complejos verdes de metalo-clorofila, así como control de condiciones de proceso como pH, temperatura, y fuerza iónica de los productos alimenticios, y la adición de antioxidantes para evitar la oxidación de la clorofila por la luz. (Özkan y Ersus Bilek, 2015).

La formación de moléculas estables de clorofila pueden ser generadas mediante el reemplazo del Ion magnesio en el anillo porfirinico por cationes divalentes como el zinc o el cobre cambiando la forma nativa a una estructura molecular de la clorofila a una más estable (Humphrey, 1980). Los derivados producidos presentan coloración verde como la clorofila nativa pero son más estable a condiciones acidas y de calor y se comportan más eficientemente como antioxidantes (Tonucciand von Elbe 1992). Hay un creciente interés en la industria alimentaria por colorantes y sabores naturales, que produzcan sobre los alimentos características similares a las que poseen en condiciones naturales (Uhl, 1995).

#### **4.2.3 Clorofila aceite**

Según la normativa europea (94/35/CE) no está permitida la adición de colorantes a aceites y grasas de origen animal o vegetal. Sin embargo, para otros productos alimentarios existen dos colorantes naturales autorizados relacionados estructuralmente con las clorofilas, son los denominados E-140 y E-141. Por el hecho de ser naturales (pigmentos obtenidos de una materia prima animal o vegetal) y a pesar de estar sometidos a exámenes muy minuciosos, por norma no deben obligatoriamente responder a criterios de pureza específicos. El E-140 se corresponde con derivados clorofílicos tal cual, y se comercializa según su solubilidad, como el E-

140i, liposoluble, que se corresponde con las clorofilas y el E-140 ii, hidrosoluble compuesto por clorofilinas. El E-140 i se obtiene a partir de fuentes naturales, alfalfa, ortigas, y otras materias vegetales comestibles, mediante una extracción con solvente y durante este proceso, parte de las clorofilas pueden transformarse en sus derivados libres de magnesio: las feofitinas. Este hecho supone un cambio drástico en la coloración del colorante que pasa de verde a marrón. El producto final puede contener otros pigmentos (como carotenoides), aceites y ceras, por lo que el aspecto final del colorante es ceroso. El colorante E-140 ii (también conocido como clorofilinas sódicas o potásicas) se obtiene por saponificación de los productos extraídos por solventes a partir de material vegetal comestible. La saponificación rompe el enlace éster con el fitole incluso puede llegar a romper el denominado anillo isocíclico. Tras la saponificación los ácidos son neutralizados para formar las sales de potasio y/o sodio. Este colorante se comercializa en polvo o solución acuosa a diferencia del E140i.

El colorante E-141 se compone de complejos cúpricos de derivados clorofílicos, es decir, el correspondiente derivado cúprico del E-140. Paralelamente, existe en el mercado el E-141i, liposoluble, llamado “clorofilas de cobre” y el E-141ii, hidrosoluble, conocido como “clorofilinas de cobre”, resultantes ambas de adicionar sales de cobre a las respectivas soluciones de pigmentos. Además existe un colorante verde artificial (E-142), autorizado en Europa, aunque no en Estados Unidos, que al ser artificial, debe pasar estrictos controles toxicológicos. La FDA, en materia de colorantes verdes en alimentos, sólo permite el uso del E-141 en bebidas basadas en cítricos, siempre y cuando no exceda el 2%. (Roca et al 2009).

En casos de modificación del color en aceites de oliva el colorante generalmente utilizado es el E-141i, es decir, la forma liposoluble del derivado cúprico de clorofilas, que facilita la disolución del mismo en el aceite. Los cupro-derivados son preferentemente utilizados porque son mucho más estables que la clorofila original, ya que la inserción del ion  $\text{Cu}^{+2}$  en el macrociclo de la clorofila, genera un complejo muy estable que mantiene su coloración verde a pesar del procesado y almacenamiento del alimento. A diferencia, el ion magnesio del anillo de porfirina, que de forma natural se encuentra quelado en el macrociclo (clorofila), durante el almacenamiento o

procesamiento es sustituido fácilmente por hidrógeno (H<sup>+</sup>) generando otros derivados clorofílicos de coloración no verdosa (feofitinas a y b). (Roca et al 2009).

### **4.3 Recubrimientos**

El uso de recubrimientos comestibles es una tecnología que ha sido aplicada desde hace algunos años. Actualmente es una alternativa de investigación de gran alcance, debido a la necesidad del consumo de alimentos saludables como frutas con un mínimo procesamiento y libres de aditivos sintéticos. Aplicar recubrimientos comestibles en frutas a partir de las fuentes renovables, como lípidos, polisacáridos y proteínas, así como mezclas de éstos, disminuyen su tasa de respiración. Retrasan su pérdida de peso por deshidratación, prolongan su pérdida de firmeza y pigmentación. Los recubrimientos comestibles en frutas se basa en algunas características como costo, disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas (tensión y flexibilidad), propiedades ópticas (brillo y opacidad), su efecto frente al flujo de gases, resistencia estructural al agua y a microorganismos así como a su aceptabilidad sensorial.

Estas características son influenciadas por parámetros como el tipo de material empleado como matriz estructural (conformación), masa molecular, condiciones bajo las cuales se preforman los recubrimientos (tipo de solvente, pH, concentración de componentes, temperatura, tipo y concentración de los aditivos (plastificantes, agentes entrecruzantes, antimicrobianos, antioxidantes o emulgentes).

La calidad de los productos alimenticios depende de las características organolépticas, nutricionales e higiénicas, pero éstas evolucionan durante el almacenamiento y comercialización. Muchos procesos físicos y químicos tales como la esterilización, alta presión, irradiación, adición de agentes activos, etc., han sido desarrollados para estabilizar a los alimentos y de esta manera preservar su calidad. Sin embargo, el uso de envases preformados es necesario en muchos casos en la última etapa del proceso de conservación, para asegurar la calidad del alimento durante el almacenamiento. (Abraján 2008).

En el envasado de alimentos se utiliza una amplia variedad de materiales que incluyen metales rígidos y flexibles, vidrio, plásticos flexibles, papel, películas y recubrimientos biodegradables, etc. (McDowell, 2003). Con respecto a la fabricación de estos últimos, actualmente se usan materiales comestibles tales como amilosa, pectina, quitina, zeína, caseína y proteína de suero de leche, por ser materiales degradables y/o desintegrables (Brandenburg et al 1993).

La combinación de envases sintéticos y comestibles hace más eficiente la conservación de la calidad de los alimentos (Krochta, 1992). Además, los envases comestibles se consideran materiales no contaminantes por estar constituidos de sustancias naturales de origen agrícola, marino o subproductos industriales, renovables y biodegradables, por lo que contribuyen a la protección del medio ambiente. El entrecruzamiento y copolimerización de polímeros naturales con monómeros sintéticos es otra alternativa para la elaboración de películas y recubrimientos comestibles (Tharanathan, 2003).

Se considera envase comestible cuando el envase, como una película, una capa fina o una cubierta, es parte integral del alimento y se come con él (Debeaufort *et al.*, 1998).

Pueden contener uno o varios componentes, secos o húmedos, de una o más capas.

Los recubrimientos son los aplicados o hechos directamente en los alimentos y las películas son estructuras independientes que pueden envolver al alimento después de haber sido hechas. Ambas se localizan en la superficie del alimento o como una fina capa entre algunos componentes dentro del producto. Los recubrimientos y películas comestibles se pueden clasificar como alimento aunque la mayoría de las veces no contribuyen con un valor nutritivo significativo, por lo que se consideran más como un aditivo. Su sabor debe ser prácticamente inapreciable por el consumidor o si tiene un sabor característico, éste debe ser compatible con el alimento al que protegen (Biquet y Labuza, 1988).

Las películas y recubrimientos comestibles deben cubrir los siguientes requerimientos para poder ser utilizados en alimentos (McHugh y Kronchta, 1994)

- Buenas cualidades sensoriales
- Eficiencia mecánica y gran capacidad de barrera
- Suficiente estabilidad bioquímica, física y microbiológica
- Libre de tóxicos y seguros para la salud

- Tecnología simple de fabricación y aplicación
- No contaminante
- Bajo coste como materia prima y proceso.

Las propiedades funcionales de películas y recubrimientos comestibles son (Biquet y Labuza, 1988).

- Retardan la pérdida de humedad de los alimentos frescos o congelados.
- Retardan la absorción de humedad en otros casos como en alimentos en polvo o crujientes.
- Retardan la transferencia de gases (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) con lo que se puede controlar la respiración y por tanto la maduración de ciertos productos o la oxidación de ciertos compuestos contenidos en el alimento. Se considera que crean una atmósfera modificada.
- Retardan la migración de grasas y aceites o reducen la absorción de grasas durante el proceso de fritura de productos.
- Imparten integridad estructural a los alimentos y favorecen el manejo del mismo.
- Retienen compuestos volátiles asociados con el sabor.
- Son vehículos para la incorporación de aditivos como los compuestos aromáticos, antioxidantes, colorantes, sustancias nutritivas, iones y conservantes (Avena y Bustillos 1993).
- Ayudan a mejorar ciertas propiedades de apariencia del producto.
- Permiten la separación de piezas o dosis específicas contenidas en un mismo envase facilitando de esta manera su consumo. Retardan o previenen el crecimiento microbiano durante el almacenamiento.

La característica funcional más importante de las películas y recubrimientos comestibles para su aplicación en alimentos es su resistencia a la migración de humedad. La importancia de esta función radica en que los niveles de actividad del agua deben ser mantenidos en los alimentos de tal manera que exhiban una calidad óptima y seguridad aceptable (Avena-Bustillos 1993).

Generalmente las películas deben ser flexibles pero resistentes a la ruptura y a la abrasión. Las propiedades mecánicas de sustancias amorfas constituyentes de los recubrimientos son seriamente modificadas cuando se alcanzan temperaturas alrededor de su temperatura de transición vítrea (Tg). Por debajo de este valor, la estructura es rígida y por encima de ella se obtiene una estructura viscoelástica (Guilbert *et al.*, 1996).

#### **4.3.1 Recubrimientos aplicados al limón persa**

En cuanto al uso de recubrimientos aplicados al limón una de las ventajas es que prolongan la degradación de los pigmentos debido a la ausencia de CO<sub>2</sub> y en consecuencia el desarrollo de colorantes indeseables (Pérez-Guzmán 1999). Forman una barrera en la superficie lo cual disminuye la tasa de respiración y prolongan la vida postcosecha del producto (Pérez y Báez 2003), Además son biodegradables, por lo que reducen el impacto al medio ambiente (Du, Olsen *et al* 2011). También pueden ser acarreadores de agentes antimicrobianos (Ayana y Turhan 2010). Y acarreadores de agentes antioxidantes (Campos, 2011). Controlan el desarrollo microbiano, cambios fisiológicos y fisicoquímicos extendiendo la vida útil. (Vázquez y Briones 2013).

#### **4.4 La goma arábiga**

La más antigua y mejor conocida de todas las gomas naturales es la goma arábiga, es una exudación gomosa seca obtenida de varias especies de árboles de Acacia de la familia de las leguminosas. Existen alrededor de 500 especies de Acacia que se central y el suroeste de Norteamérica, pero sólo unas cuantas son comercialmente importantes. (Calvo 1991).

##### **4.4.1 Estructura de la goma arábiga**

La goma arábiga existe en la naturaleza como una sal neutra o ligeramente ácida de un polisacárido complejo conteniendo calcio, magnesio y potasio. Se trata de un material

heterogéneo y puede estar compuesto de varias especies moleculares ligeramente diferentes. Se presume que la característica estructural principal de la molécula es una cadena de unidades de B.Galactopiranosas a través de las posiciones 1-3, con cadenas laterales de unidades de Galactopiranosas 1-6 terminadas en residuos de ácido glucorónico o 4-O metil glucorónico. Algunos grupos adicionales se unen también a las posiciones C-3 sobre las cadenas naturales de D.Galactosa, L-Arabinosa, L-Ramnososa y D-Acido Glucorónico. Estos azúcares se encuentran en la goma arábiga proveniente de todas las especies de Acacia, pero las proporciones varían de una a otra. (Gracia 1998).

#### **4.4.2 Comportamiento reológico.**

A concentraciones de 40%, las soluciones de goma arábiga presentan un comportamiento típicamente newtoniano. Arriba del 40%, las soluciones pueden adquirir características pseudoplásticas, o sea, que se puede observar un decremento de la viscosidad con aumento en el esfuerzo cortante. (Gracia 1998).

#### **4.4.3 Solubilidad**

Bebido a su extremada solubilidad en agua, la goma arábiga es única entre los hidrocoloides naturales. La mayor parte de las gomas comunes no se pueden disolver en agua a concentraciones superiores a 50% debido a sus altas viscosidades. Sin embargo,

la goma arábiga puede producir soluciones hasta con 50% de concentración. En estos altos niveles, puede formar una masa gelatinosa altamente viscosa, similar en características a la de un gel fuerte de almidón.

Además de formar geles de alto contenido de sólidos de este tipo, la goma arábiga se puede utilizar a concentraciones menores con otras gomas, como espesantes y ligadores.

Los grados alimenticios de la goma arábiga dan soluciones que son esencialmente incoloras, y tampoco imparten sabor a las soluciones. La goma arábiga es insoluble en aceites y en la mayor parte de los solventes orgánicos. Es soluble en las soluciones

acuosas de etanol, hasta con un límite de aproximadamente 60% de etanol. Con glicerina y etilenglicol, también se puede tener una solubilidad limitada. (Gracia 1998)

#### 4.4.4 Viscosidad

Mientras que la mayor parte de las gomas forman soluciones altamente viscosas a bajas concentraciones, entre el 1 y el 5%, la goma arábica es excepcional por su extrema solubilidad y por no impartir viscosidad a bajas concentraciones. Las altas viscosidades que imparte la goma arábica sólo se consiguen hasta que la concentración es de aproximadamente 40% a 50%. Esta habilidad para formar soluciones altamente concentradas es responsable de las excelentes propiedades estabilizantes y emulsionantes de la goma arábica, cuando se incorpora con grandes cantidades de materiales insolubles, figura 13

Concentración (%o)	Viscosidad relativa (cps) *
1.22	1.65
2.10	2.00
2.70	2.30
3.85	2.92
3.95	2.93
4.77	3.23
5.54	3.59
7.33	4.87
8.55	5.50
11.73	8.84
15.68	11.90
16.48	17.50
18.69	23.70
34.92	300.00

Figura 12 Relación de viscosidad a concentración en porcentajes de soluciones de goma arábica.

Figura 13 Relación de Viscosidad (centipoises) a concentración en porcentajes de soluciones de goma arábica.

#### 4.4.5 Efecto de pH

Varios investigadores están de acuerdo en que el ácido arábico monobásico es fuerte. La viscosidad de la goma arábica se incrementa fuertemente con el incremento del pH hasta un punto máximo que se alcanza a un pH de 5 a 7; luego cae lentamente cuando el ph está entre 10 y 14. Normalmente, las soluciones de goma arábica son ligeramente ácidas, presentando un pH de 4.5 a 5.5, aproximadamente y por lo tanto están en el área de máxima viscosidad, (Gracia 1998) figura 14.

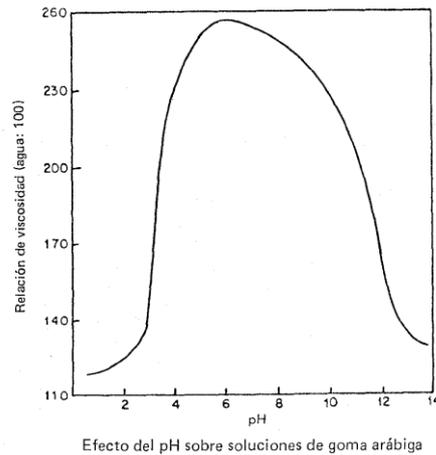


Figura 13 Efecto del pH sobre soluciones de goma arábica.

Figura 14 Efecto del pH sobre soluciones de goma arábica

#### 4.4.6 Compatibilidad

Las soluciones de goma arábica se precipitan con muchas sales, particularmente sales metálicas trivalentes. La goma arábica es incompatible con algunas gomas como la grenetina y el alginato de sodio, pero es bastante compatible con carboximetilcelulosa. En muchos casos, la compatibilidad está sujeta a la influencia del pH y de la concentración. La compatibilidad de la goma arábica con otros componentes se puede obtener mediante el ajuste adecuado de estos de estos parámetros. (Gracia 1998).

#### 4.4.7 Propiedades emulsificantes.

La goma arábica es un agente emulsificante muy efectivo debido a su función de coloide protector que ha encontrado amplio uso en la preparación de emulsiones alimenticias de aceite en agua.

La goma arábica produce emulsiones estables con la mayor parte de los aceites en un amplio rango de pH y en presencia de electrolitos, sin la necesidad de un agente estabilizante secundario.

Se cree que la goma como agente formador de película, previene la coalescencia de los glóbulos de aceite, permitiendo así un alto grado de dispersión al disminuir el diámetro de los glóbulos. (Gracia 1998).

Los pigmentos vegetales con algunas excepciones son siempre susceptibles al metabolismo. Pero están protegidos contra degradaciones descontroladas mediante la existencia en ambientes biológicos específicos. (Wissgott y Bortlik, 1996).

#### **4.5 Inulina**

La inulina está compuesta por unidades de fructosa con uniones tipo  $\beta$  (2-1) con unidades de glucosa al final de la cadena (Bakowska y Barczak 2011). La inulina es un carbohidrato de almacenamiento que está presente naturalmente en más de 30,000 vegetales, de entre los cuales las raíces de achicoria (*Cichorium intybus*) y alcachofas de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) también figura para producción a escala industrial. *A. tequilana* Weber var. Azul, una planta endémica de México, un cultivo Mexicano importante porque es la única planta permitida para la producción de tequila.

Estudios realizados en la elaboración de películas de inulina mostraron degradación por parte de las bacterias fecales, sin embargo estos estudios tuvieron baja reproductibilidad. Con esto se describe el desarrollo de hidrogeles de inulina, lo cual constituye la primera parte del estudio del potencial de los hidrogeles de inulina como transportadores de fármacos con acción en el colon.

Por otro lado, la inulina mejora la estabilidad de emulsiones y espumas, por lo que se usa como estabilizante en diversos productos alimenticios. Además, muestra una sinergia con agentes gelantes como son la gelatina, alginatos, carragenatos, gomas y maltodextrinas. Debido a esto, la inulina y derivados se están usando en la industria farmacéutica como material excipiente en tabletas, coadyuvante en vacunas y también como ingrediente estructural en detergentes.

Actualmente en México existe gran cantidad de productos farmacéuticos, alimenticios y complementos que contienen polisacáridos como la inulina. (Bustamante 2006).

#### 4.5.1 Estructura de la inulina

La inulina está constituida por moléculas de fructosa unidas por enlaces  $\beta$ -(2-1) fructosil-fructosa, utilizando el término "fructanos" para denominar este tipo de compuestos. Los fructanos aportan un valor calórico reducido (1,5 kcal/g) si se comparan con los carbohidratos digeribles (4 kcal/g).

La estructura química de la inulina comprende de una cadena de moléculas de fructosa con una molécula terminal de glucosa por lo que se clasifica como un fructooligosacarido (Toneli et al 2010). *A. tequilana* Weber var. Azul es una planta endémica de México y un cultivo Mexicano importante porque es la única planta permitida para la producción de tequila. Los fructanos (FOS) de *A. tequilana* están altamente ramificados con enlaces tanto  $\beta$ -(2-1) como  $\beta$ -(2-6) con un rango de grados de polimerización de (DP) de 3 a 30 monosacaridos, mientras que los de la chicoria esta compuestos por fructanos con una estructura linear hecha por residuos Fructosil con enlaces  $\beta$ (2-1) terminando en su mayoría con un residuo glucosa, con un DP en un rango de las 3 a las 60 unidades de monosacáridos (Crispín et al 2015).

Se ha alentado la búsqueda de recubrimientos como la goma arábiga, encontrándose en primera instancia alternativas de materiales abundantes y de bajo costo como la inulina que además es benéfica para la salud humana (Peng Li, et al 2013).

#### 4.5.2 Comportamiento reológico.

Por otra parte la cristalización de la inulina y sus efectos en las propiedades reológicas de postres lácteos que cuentan con una red tridimensional en su estructura depende de la distribución de longitud de cadena. Consistencia, elasticidad y mayor presencia de agregados de inulina incrementaron con la proporción de moléculas de cadena larga (Tárreaga y Torres 2011).

Se ha visto que la inulina de cadena mediana adicionada en helados bajos en grasas a concentraciones de 5%, 7% y 9%, provoca un incremento en el índice de consistencia y la viscosidad aparente; así como en el grado de fusión, que disminuyó con un aumento en la concentración. Esto a consecuencia de que la inulina actúa como un estabilizador, debido

a su capacidad de captar agua; las moléculas de agua se inmovilizan y no es posible que se muevan libremente entre las moléculas de la mezcla de hielo (Meyer et al, 2011).

#### **4.5.3 Solubilidad**

En general, la solubilidad en medio acuoso de los fructanos está determinada por las características estructurales de los mismos; los fructanos lineales resultan los menos solubles, mientras que los más ramificados son los de mayor grado de solubilidad (López y Silvas 2007). El grado de polimerización y por ende el peso molecular, son factores importantes de la solubilidad en agua de los fructanos, a medida que aumenta el grado de polimerización y con ello el peso molecular, la solubilidad va disminuyendo gradualmente. Así mismo, (Espinoza et al. 2012) reportaron que los fructanos de agave mostraron una mayor capacidad de absorción de agua en comparación con los fructanos de achicoria, ya que las cadenas ramificadas y la presencia de restos de fructosa contienen una mayor cantidad de grupos hidroxilos disponibles para retenerla.

Actualmente la incorporación de fructanos de agave en diferentes tipos de alimentos es limitado, sin embargo, (Crispín et al. 2014) realizaron un estudio en donde evaluaron el efecto de la adición de fructanos de agave y de achicoria en un yogurt batido bajo en grasa, sobre la reología, la microestructura, y la aceptabilidad sensorial. Los resultados microestructurales y reológicos indicaron que los fructanos de agave participaron como un ingrediente activo en la red de caseína, depositándose sobre la superficie de las micelas de caseína, mientras que la inulina formó partículas gelificadas al exterior de los agregados de proteína.

#### **4.5.4 Viscosidad**

Sosa y Herrera et al. 2016 reportaron que el efecto de la concentración de fructanos sobre la viscosidad, en sistemas acuosos, fue similar a la de soluciones de fructosa o sacarosa. Sugiriendo que la dependencia del comportamiento reológico de los fructanos en función de la concentración, es más cercano al de los monosacáridos de bajo peso molecular que al de polisacáridos de alto peso molecular. Adicionalmente,

se reportan curvas de adsorción en interfase líquido-aire con una tendencia sigmoidea que está asociada con biopolímeros de superficie activa, donde las macromoléculas se difunden lentamente de la fase acuosa a la región debajo de la superficie seguida de la adsorción de segmentos de polímero en la interfase. La actividad superficial de los fructanos se atribuye a su naturaleza polar, que es causada por los grupos hidroxilo en su estructura.

#### **4.5.5 Efecto de pH**

De acuerdo a la fuente de donde se extraiga la inulina, hay variaciones en su estructura y composición fisicoquímica, también varían características como la solubilidad y viscosidad, pero no así el pH (Madrigal y Sangronis 2007).

#### **4.6 Mucilago**

Las pencas de nopal excretan una sustancia “viscosa” llamada mucílago, este es uno de los componentes más importantes ya que forma parte de la fibra dietética. El mucílago del nopal es un polisacárido fibroso, altamente ramificado, cuyo peso molecular oscila alrededor de  $13 \times 10^6$  g/mol. Contiene aproximadamente de 35 a 40 % de arabinosa, 20 a 25% de galactosa y xilosa cada una, y de 7 a 8% de ramnosa y ácido galacturónico cada uno. El mucílago de nopal se considera importante para la industria de alimentos debido a sus propiedades de viscosidad. Tiene la capacidad de formar redes moleculares y retener fuertemente grandes cantidades de agua, así como de modificar propiedades como viscosidad, elasticidad, textura, retención de agua, además de que es un buen gelificante, espesante, y emulsificante (Rodríguez et al 2011). Un componente de gran importancia fisiológica es el mucílago. Este compuesto se presenta tanto en los cladodios como en la piel y pulpa de la fruta, aunque en muy diversas proporciones. Estudios realizados por (Sáenz y Sepúlveda 1993), indican que el rendimiento en todos los casos es bajo, 0.5 por ciento en la cáscara y 1.2 por ciento en los cladodios.

El mucílago es un carbohidrato complejo. Entre los monómeros contenidos en la cadena se encuentran: Larabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-Xilosa y ácido galacturónico. La proporción de estos monómeros en la molécula varía de acuerdo a diversos factores como: variedad, edad, condiciones ambientales y estructura empleada para la extracción (fruto, cáscara, cladodio), entre otros factores.

La composición química del mucílago de *Opuntia ficus indica*, los monómeros presentes en el mucílago son diferentes a las de otras especies de *Opuntia* así como su peso molecular, según distintas referencias bibliográficas consultadas. El mucílago está presente como su sal de calcio en las células de mucílago del parénquima de la penca (Trachtenberg y Mayer, 1982).

El mucílago constituye un hidrocoloide que podría integrar la oferta de una gran gama de agentes espesantes de amplio uso en la industria de alimentos y farmacéutica, además de que tiene una gran capacidad de absorción de agua. Su poder espesante está siendo actualmente estudiado (Cárdenas et al 2008), con resultados interesantes, por lo que si se mejoran los rendimientos de extracción podría competir con gomas de gran uso como la goma garrofín, la goma guar u otros agentes espesantes. Una amplia revisión acerca de estos compuestos fue publicada recientemente por (Sáenz et al 2004).

#### **4.6.1 Estructura del mucilago**

El mucílago de nopal en general (*Opuntia* spp.), obtenido de cladodios, es una sustancia hidrocoloidal, heteropolisacárida (con residuos de arabinosa, galactosa, ramnosa y xilosa como azúcares neutros); sus estructuras moleculares son polielectrolitas (Majdoub, et al 2001), altamente ramificadas (MacGarvie et al 1979). Las Biopelículas comestibles de mucílago de *Opuntia ficus indica* para prolongar la vida de anaquel de las fresas ha sido de las aplicaciones más innovadoras para esta sustancia (Del Valle et al 2005).

Aun cuando existen diversos trabajos reportados con caracterizaciones químicas y físicas de esta sustancia del nopal, siguen siendo limitados e insuficientes. Entre otras razones, se exponen argumentos (McGarvie y Parolis, 1981 ) que el clima modifica el

contenido de mucílago en el nopal, reflejando rendimientos de extracción de mucílago sumamente bajos (0.06 % del nopal fresco), que obstaculizan las aplicaciones y el estudio del conocimiento. Adicionalmente, (Naod y Tsige 2012) discuten que la abundancia y la calidad (inherente de la composición) del mucílago del nopal varían con el tipo de especie, edad del cladodio, estación climática y la topografía del lugar de plantación (el tipo de suelo, lluvia, temperatura, etc.), dificultando esta multitud de factores la comparación o correlación de materiales mucilaginosos, incluso mostrándose algunas veces abruptamente diferentes. Otras razones más son la diversidad de especies y variedades de nopal a estudiar representativa de la sustancia y su mucilaginosidad en la penca (cladodio), esto llevado a través del indicador de la viscosidad.

#### **4.6.2 Comportamiento reológico**

Se han examinado las propiedades reológicas de las soluciones acuosas del mucílago aislado de *Opuntia ficus indica*. Se observaron viscosidades de cizallamiento constante en un intervalo de velocidad de cizallamiento de 1 a 300 s<sup>-1</sup> en función de la concentración de mucílago, la temperatura, el pH y la fuerza iónica. Se observó un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento no newtoniano. Se demostró un aumento bastante importante en la pseudoplasticidad (o adelgazamiento por cizalladura) debido al aumento en la concentración de mucílago, en el rango de 1 a 10% (p / p). En el rango de velocidades de corte examinadas, los valores de viscosidad de una solución de mucílago al 10% son similares a los mostrados por una solución acuosa de xantano al 3%, ambos a 25 ° C. La viscosidad era dependiente de la fuerza iónica, como en el caso de los polielectrolitos, y disminuía con la fuerza iónica. Este comportamiento fue más pronunciado cuando se usan cationes divalentes. (Torrestiana, 2000)

### 4.6.3 Viscosidad.

La viscosidad es la principal característica del mucílago, sobre la que se proyecta la aplicación como aditivo de alimentos, adhesivo de pinturas y recubrimiento de mucosa gástrica ulcerada, entre otras.

La *Opuntia spinulifera*, endémica de los valles Hidalgo, y México es una especie de la que se ha estudiado desde cosecha en plantación silvestre (Vargas et al 2012), y se ha encontrado un material con alta viscosidad y abundancia respecto al de otros nopales.

Las propiedades elásticas de cizallamiento constante se evaluaron como la diferencia de tensión primaria. Las soluciones acuosas de mucilago mostraron altas propiedades elásticas, similares a los polímeros sintéticos altamente elásticos como el poliisobutileno. En el estrés de cizallamiento constante, las tensiones normales disminuyeron a medida que aumentaba la concentración de mucílago.

Los espectros mecánicos en el rango de viscoelasticidad lineal se observaron en un rango de temperatura de 5 a 35 ° C. A baja concentración de mucílago (<3%) el comportamiento fue típico de una solución diluida. Sin embargo, al aumentar la concentración, la solución tendía a un comportamiento de gel débil, (Medina, 2000).

Se determinó que la viscosidad cinemática varía directamente proporcional con el aumento de la concentración e inversamente con las temperaturas. Por lo anterior y por la magnitud del máximo valor de viscosidad, este mucílago es un material promisorio para diversas aplicaciones (Torrestiana, 2000).

### 4.6.4 Solubilidad

Esta propiedad del mucílago es muy importante ya que se debe tomar en cuenta para elaboración de las películas de biopolímeros debido a que uno de los factores para su aplicación a nivel industrial dependerá del grado de resistencia al agua, por ejemplo, para películas con destino a alimentos necesitará un material resistente al agua e insolubilidad a la misma mantener estado de los alimentos, en otro extremo para aplicación en envasado una alta solubilidad en agua indica biodegradabilidad. Estos resultados nos ayudan a darnos una idea de la solubilidad que tendrá el mucílago ya integrado en una película (Vargas et al 2018).

#### **4.6.5 Efecto de pH**

También se observó una marcada dependencia de la viscosidad del pH, a medida que el pH aumentaba de las condiciones ácidas a alcalinas, la viscosidad aumentaba. (Torrestiana 2000).

#### **4.6.6 Propiedades emulsificantes**

Por su parte (Rwashda 2002) ha estudiado la capacidad como agente emulsionante de la goma o mucílago de *Opuntia ficusindica*.

El autor encontró que esta goma reduce la tensión superficial y estabiliza emulsiones del tipo aceite-agua, forma gotas pequeñas de aceite, los sistemas a los que se agrega no floculan. (Espinosa, 2002), estudió la adición de dispersiones de mucílago de nopal en distintas concentraciones (0.5 y 0.8 por ciento) a espumas elaboradas con clara de huevo, demostrando que la adición de mucílago de nopal se manifestaba en una menor sinéresis y un mayor volumen después de 48 h. Esta clase de ingredientes utilizados con frecuencia por su capacidad para mejorar la textura, también se emplean para estabilizar emulsiones, para controlar la cristalización, como estabilizadores de suspensiones, para inhibir la sinéresis y para crear películas comestibles. Algunos de ellos tienen la capacidad de formar geles.

#### **4.7 Métodos de impregnación**

Los métodos para realizar los recubrimientos son: pulverización, moldeado en cápsulas especiales, inmersión del producto en la dispersión formadora de recubrimiento o extensión de la misma sobre el producto con cepillos. La etapa de aplicación va seguida de una etapa de secado o enfriamiento (Gontard et al., 1994).

Para cada uno de los métodos señalados existen particularidades para conseguir un recubrimiento adecuado.

Cuando el material utilizado para el recubrimiento entra en contacto con el alimento, se establecen dos tipos de fuerzas, adhesivas y cohesivas. La adhesividad del recubrimiento sobre la superficie del producto depende principalmente de su naturaleza y uniones entre el soporte y la película, es decir, de su afinidad y no del método de aplicación, aunque el uso de aditivos, como los tensoactivos, puede permitir la adhesión del recubrimiento sin tener afinidad a la superficie del producto.

Los factores involucrados en el grado de cohesión son: la estructura de polímero, el tipo de solvente, la temperatura, la presión, la técnica de aplicación y eliminación del solvente y la presencia de otras moléculas como los plastificantes o lípidos y el tipo de unión entre las moléculas. El grado de cohesión afecta a algunas propiedades de la película o recubrimiento, tales como son: la resistencia, flexibilidad, permeabilidad, etc. Una cohesión fuerte reduce la flexibilidad, las propiedades de barrera a los gases y solutos.

El espesor de la película depende esencialmente del método de aplicación y de la viscosidad de la solución. Soluciones con viscosidad alta no pueden ser extendidas fácilmente y solamente se pueden aplicar por moldeado alrededor del producto o inmersión, dando recubrimientos gruesos.

Cuando ciertos alimentos son envueltos con películas formadas en solución acuosa o dispersa en agua, se puede requerir una cantidad pequeña de agente humectante para facilitar así la extensión uniforme.

Se pueden incorporar agentes cuando se trata de dar estabilidad a mezclas agua-aceite formadoras de películas. Tales aditivos afectan también a las propiedades de barrera de las películas.

Así mismo, las propiedades organolépticas, nutricionales y de conservación de los alimentos, pueden realizarse mediante la incorporación de agentes saborizantes, pigmentos, aditivos nutricionales y agentes antimicrobianos o conservadores a las películas comestibles que los envuelven (Baldwin *et al.*, 1995).

#### **4.7.1 Inmersión**

El método de inmersión se recomienda para productos que requieren la aplicación de varias capas de recubrimientos, tienen una superficie irregular o requieren un recubrimiento uniforme. Hay que recambiar la solución de inmersión ya que durante el proceso hay contaminación por microorganismos, sólidos u otros contaminantes. (Tharanathan 2003).

#### **4.7.2 Aspersión**

Hay que mantener la presión adecuada para conseguir el espesor del recubrimiento requerido (Tharanathan 2003). La aspersión es adecuada si se requiere obtener un recubrimiento de espesor muy fino.

## **5. OBJETIVOS.**

### **5.1 Objetivo General**

- Desarrollar un proceso de pigmentación en el manejo postcosecha que haga posible incrementar en un 95% la uniformidad de color del limón y su periodo de conservación.

#### **5.1.2 Objetivos particulares.**

- Evaluar qué tipo de clorofila es el más indicado para utilizar como pigmento.
- Determinar que concentración de clorofila es la que determina mejor coloración.
- Reportar el recubrimiento adherible al limón que más prolongue su vida de anaquel en fresco.
- Definir el método de impregnación más adecuado para pigmentar el limón.
- Implementar un sistema práctico de impregnación para el limón.

## 6.0 MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Materiales y reactivos

El trabajo se realizó en su etapa experimental y en la cuantificación de variables dentro de las instalaciones la planta piloto de procesos agroindustriales del Instituto Tecnológico de Tlajomulco (ITTJ).

Limonos que fueron separados de la calidad Extra y Primera calidad por mancha de color fueron donados por productores de San Martín Hidalgo, Jalisco.

El material vegetal utilizado para extraer la clorofila que es el pigmento objetivo de este estudio fue alfalfa fresca (*allium sativa*) conseguida con un proveedor local.

Los recubrimientos Goma arábica, Inulina y Mucilago más materiales y reactivos de técnicas de cuantificación, además de equipos de aplicación, medición, cuantificación y conservación fueron los del laboratorio de la planta de procesos agroindustriales del ITTJ.

### 6.2 Obtención de clorofila con ligera modificación del método de Femat.

Por las características particulares de nuestro estudio de la clorofila como pigmento modificamos el método descrito por Femat en el 2005 siendo en el lavado, secado y molienda y extracción por maceración hasta este paso similares, es hasta la estabilización y secado por aspersión en el caso de la metodología de Femat, que se cambiaron por concentrar, estabilizar, filtrar y secar. Cabe señalar que el autor mencionado hizo la extracción de clorofila a base de espinaca (*spinacia oleracea*) y el presente estudio se realizó con alfalfa (*allium sativa*) Se muestra en el diagrama de flujo, figura 15



Figura 14 Diagrama de flujo que muestra la modificación al proceso de obtención de clorofila al método de Femar en el 2005.

### 6.2.1 Obtención de Clorofila Zn, Clorofila Cu y Clorofila base aceite.

Se obtuvo alfalfa fresca 10 kilos, se les quitaron manualmente plantas extrañas y se enjuagaron en agua con 20 gramos de Carbonato de Sodio ( $\text{Na}_2 \text{Ca}_3$ ) para fijar el color y quitar residuos de tierra, se estiló la alfalfa durante 1 hora, figura 16.



Figura 15 Enjuagado manual de alfalfa con Carbonato de Sodio

Se llevó a secado por convección durante 20 horas a 60°C. Hasta llegar a un nivel de humedad de 3-5% en secador de charolas (Polinox TABML 094 D.F. México) la humedad se determinó con (secador y báscula PRECISA HA 30, SWISS QUALITY) figura 17



Figura 16 Alfalfa lista para su deshidratación por convección en secador de charolas.

Se redujo el tamaño de la alfalfa seca en un pulverizador VEYCO, México D.F dejando un tamaño aproximado de partícula de  $1\text{mm}^2$ . Figura 18



Figura 17 Alfalfa deshidratada a punto de ser pulverizada en pulverizador.

Se pesaron 500 gramos de esa alfalfa pulverizada en báscula ( ) pasaron a maceración en 4.5 litros de etanol (80% v/v) en cristalizador (Didatec Technology modelo c-vaporiz) durante 24 horas en agitación constante con 24 horas de reposo (figura 19).



Figura 18 Alfalfa pulverizada en constante movimiento, impulsada por una propela interna.

Después de un filtrado en manta, el jugo de alfalfa macerada se redujo a 400 ml en rotavapor (BÜCHI R-220, Alemania ). A una velocidad de reducción de 1 litro por hora, figura 20.



Figura 19 Proceso de reducción del jugo de alfalfa macerada, el etanol y agua se evaporan por temperatura, movimiento y presión de succión.

Apoyados con un pHmetro (modelo Hi 2211 c11 Hanna Instruments) Esta solución se ajustó a pH 12 con 140 ml de hidróxido de sodio (NaOH) al 20% Con temperatura controlada a 60°centígrados en agitación constante, después se ajusta la misma solución a pH a 2,7 con ácido clorhídrico al 38% (HCL) apoyados con pHmetro figura 21



Figura 20 Ajuste de la solución a pH 12 y pH 2.7 demanda manipular calentador, termómetro, pH metro, solución en movimiento y pipeta

También con temperatura controlada a 60°Centígrados en agitación constante. Para producir clorofila Zn se procede a la sustitución del átomo de Magnesio adicionando 300 mm de Acetato de Zinc al 10%  $Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$  para sustituir al Ion magnesio hasta obtener la separación de la clorofila de la solución y un marcado verde oscuro, para el caso de la Clorofila Cu se sustituye el Ion de magnesio con una solución de 300 mm Sulfato de Cobre ( $CuSO_4$ ) al 10 % 300, hasta obtener la separación de la clorofila de la solución y un marcado color verde oscuro, figura 22.



Figura 21 Apariencia de la solución de clorofila líquida ajustada con sulfato de cobre. Lista para el precipitado y separación del sedimento

Tanto para obtener el polvo de Clorofila Zn, (figura 10) y Clorofila Cu se precipitaron las soluciones separando el sedimento de la solución por filtración de succión (Siemens Bomba de Vacío FE 1600) lavando las soluciones con una solución de etanol al 10% tres veces, figura 23.



Figura 22 Sedimento de clorofila en el proceso de lavado por succión de vacío.

Los sedimentos recolectados se deshidrataron a temperatura ambiente hasta obtener polvos finos con humedades inferiores al 3 %, figura 24.



Figura 23 Polvos de clorofila Zn, de color más claro a la izquierda y clorofila Cu, de color más oscuro a la derecha

Para el caso de producir Clorofila Base Aceite, en una batidora industrial sometieron a maceración por separado 400, 700 y 1000 gramos de alfalfa seca pulverizada en 4 litros de aceite durante 8 horas, para lograr clorofila al 2, 3.5 y 5% respectivamente, después del filtrado en manta 120 X 120 figura 25.



Figura 24 Obtención de jugo de Clorofila base aceite, filtrado en manta.

La clorofila aceite obtenida se puso en recipientes de reposo transparentes para que las pequeñas partículas de fibra que pasaron el filtrado en manta se precipitaran al fondo, transcurridas 24 horas se recogió el sobrenadante figura 26.



Figura 25 Sobrenadante de clorofila base aceite los sedimentos se precipitan al fondo a partir de 12 horas.

### **6.2.2 Determinación de la concentración de clorofila**

De acuerdo a la técnica de la AOAC con modificaciones adaptadas al proceso específico de extracción realizado, se disolvió 0.01 gr de Clorofila Zn y =.01 gramos de clorofila Cu en 30 ml de acetona al 85% Posteriormente, una alícuota de 5 ml fue puesto dentro de un embudo separador conteniendo 20 ml de éter. Se añade agua en el separador hasta que todos los pigmentos liposolubles entren en la capa de éter. Después la capa de agua es drenada y descartada. La solución de éter que contienen los pigmentos son lavados hasta 5 veces dentro de los embudos de decantación hasta que toda la acetona es removida, después la solución de éter que contiene el pigmento se transfiere y se afora dentro de un matraz volumétrico de 3 ml, agitando por un minuto. Para realizar la medición espectrofotométrica se añadieron dos gramos de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro se añadieron dentro de un frasco de reacción de 50 ml llenando este con la solución de éter que contiene el pigmento. Una vez que la solución se torna ópticamente clara, se pipeteó una alícuota dentro de otro matraz seco, siendo esta la solución a medir espectrofotométricamente esta solución se diluyo lo suficiente para

dar valores de absorbancia de 0.2-0.8 que son las longitudes onda conocidas en la cuantificación tanto de clorofila a como de la b, y que operan en un rango de 642nm a 660nm. Sustituyendo los valores obtenidos de absorbancias generadas en estas longitudes de onda, el cálculo de la concentración de clorofila se llevó a cabo de acuerdo a las fórmulas para el cálculo de la concentración de clorofila total (a), clorofila a (b) y clorofila b (c) que a continuación se muestran:

$$(a) \text{ Clorofila total} = 7.12(A)_{660.0} + 16.8(A)_{642.5}$$

$$(b) \text{ Clorofila a} = 9.93 (A)_{660.0} - 0.777 (A)_{642.5}$$

$$(c) \text{ Clorofila b} = 17.6(A)_{642.5} - 2.81 (A)_{660.0}$$

*Fórmulas para el cálculo de la concentración de clorofila total (a), clorofila a (b) y clorofila b (c).*

### **6.3 Índice de madurez**

#### **6.3.1 Sólidos solubles totales °Brix**

El índice de madurez se realizó para determinar la afectación de los recubrimientos sobre la vida de anaquel del limón. La cantidad de sólidos solubles se determinó por triplicado del jugo extraído de la pulpa de los frutos mediante un refractómetro digital Atago pal-3 Japón. Los resultados obtenidos se reportan como (%) de sólidos solubles ó ° Brix. Según metodología (AOAC1990).

#### **6.3.2 Acidez titulable (% Ácido cítrico)**

El contenido de acidez se determinó por triplicado en % de ácido cítrico por gramo de jugo de la pulpa de los frutos. Se realizó por titulación con NaOH de 0.1 N de acuerdo al método establecido por la AOAC (1990). En donde a muestras diluidas por triplicado 1:2 con agua destilada, se le agregaron unas gotas de fenolftaleína, se homogenizó y se tituló con hidróxido de sodio 0.1 N hasta el punto de viraje de la fenolftaleína (pH 8.3). El porcentaje de acidez se expresó como porcentaje de ácido cítrico y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ acidez} = (N \times V \times 0.064 / v) \times 100$$

N = normalidad de la solución de NaOH usado para titular

V = volumen de la solución de NaOH usado para titular

v = volumen de la muestra

0.064 = meq del ácido cítrico

#### 6.3.4 Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los frutos se llevó a cabo mediante la comparación de medias

T- 0.05% utilizando el paquete estadístico MINITAB® 16, para Windows

#### 6.4 Cinética de pérdida de peso de limones respecto a su recubrimiento.

Con el fin de tener un parámetro que nos indicara si habría diferencias entre los recubrimientos a través del periodo de conservación del limón se recubrieron tres limones de cada tratamiento más un testigo y se tomaron observaciones promediadas de la pérdida de peso, con una báscula granataria (AS 220/c/2 RADWAG ELECTRONIZNE) figura 29. Tomándose siete observaciones con intervalo de un día para obtener una cinética de pérdida de peso (agua) de cada recubrimiento, considerándose que a mayor pérdida de agua a través del periodo de conservación de los limones, menor es la capacidad del recubrimiento para conservar su vida de anaquel.



Figura 26 Limones recubiertos en el proceso de pesaje en báscula granataria

## **6.5 Impregnación de clorofila en el pericarpio**

Para determinar cuanta cantidad de clorofila se adhiere al pericarpio de los limones y las sus diferencias respecto a cada película, a tres limones de cada tratamiento más un testigo se les cortó un centímetro cuadrado ajustado a 1 gramo de la parte del pericarpio con la coloración amarilla objeto de su separación de la calidad Extra, después de haber permanecido estos a temperatura ambiente, en un lugar sin luz por un periodo de 7 días los trozos de pericarpio fueron macerados por separado en 30 ml de metanol, figura 27.



Figura 27 Pericarpio ajustado a un gramo para su posterior maceración.

Las muestras fueron analizadas en espectrofotómetro a medidas de absorbancia de 642 y 660 y aplicadas las fórmulas para la determinación de clorofila, los datos se sometieron a análisis estadístico.

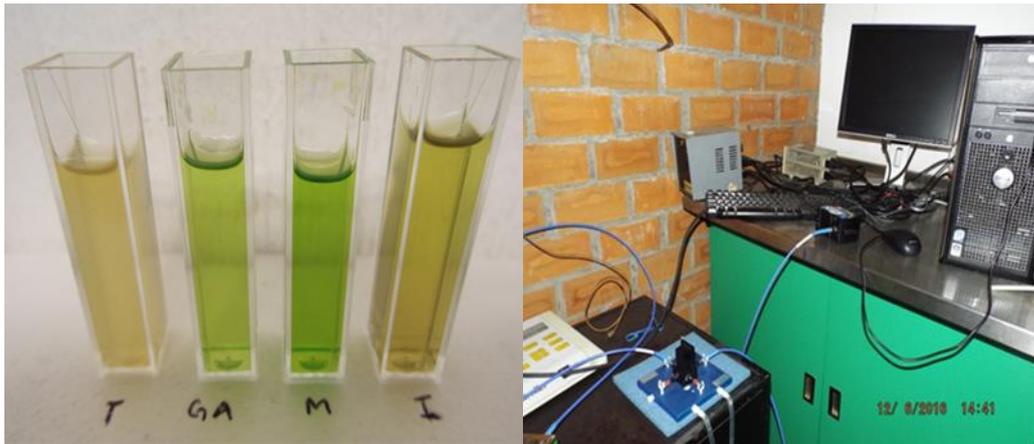


Figura 28 Muestras analizadas de los diferentes tipos de recubrimientos, testigo, goma arábica, mucilago e inulina.

### **6.6 Diseño Experimental para la metodología del sistema de impregnación y condiciones de trabajo.**

Se realizó un diseño experimental factorial fraccionado  $3^{5-1}$ . El programa estadístico utilizado fue INFOSTAT 2008 con el objetivo de realizar 81 tratamientos con tres repeticiones, como lo muestra la tabla 2.

Seleccionamos una cantidad de 3 limones con mancha de color para cada tratamiento. En donde las variables del experimento son los tipos de clorofila, clorofila Cu (Cuprate clorofila), clorofila Zn (Zn clorofilina) y extracto de clorofila oleaginosa (Base Aceite). Se diluyo la clorofila en los recubrimientos a concentraciones de 2% 3.5% y 5%. Los métodos de Impregnación fueron los siguientes; Inmersión, durante cinco minutos en dos litros de solución. Aspersión, durante un minuto con un gasto aproximado de solución de 500 ml por tratamiento, y Combinado (inmersión + aspersión) después de un tiempo de escurrido entre la inmersión y la aspersión de dos horas. Los recubrimientos seleccionados para los tratamientos son Goma Arábica, Inulina y Mucilago, elevados a una concentración de 50° Brix en el sistema de inmersión y 30° Brix en el sistema de aspersión. No se modificaron los °Brix en el sistema combinado. Fueron llevados los tratamientos a temperaturas de aplicación de 30, 40 y 50°C monitoreados con termómetro.

Tabla 2 Tratamientos.

NUM.	TRAT.	SISTEMA	TIPO DE CLOROFILA	CONCENTRACIÓN	TEMP.	RECUBRIMIENTO
1	4	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	Inulina
2	5	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	Goma arábiga
3	7	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	50°C	Inulina
4	9	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	50°C	Goma arábiga
5	11	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3%	30°C	Goma arábiga
6	12	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3%	30°C	Mucilago
7	14	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3%	40°C	Goma arábiga
8	16	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3%	50°C	Inulina
9	17	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3%	50°C	Goma arábiga
10	18	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3%	50°C	Mucilago
11	19	INMERSIÓN	Clorofila Cu	5%	30°C	Inulina
12	24	INMERSIÓN	Clorofila Cu	5%	40°C	Mucilago
13	25	INMERSIÓN	Clorofila Cu	5%	50°C	Inulina
14	31	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	2%	40°C	Inulina
15	32	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	2%	40°C	Goma arábiga
16	34	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	2%	50°C	Inulina
17	38	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	3%	30°C	Goma arábiga
18	39	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	3%	30°C	Mucilago
19	42	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	3%	40°C	Mucilago
20	48	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	5%	30°C	Mucilago
21	52	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	5%	50°C	Inulina
22	53	INMERSIÓN	Clorofila Aceite	5%	50°C	Goma arábiga
23	55	INMERSIÓN	Clorofila Zn	2%	30°C	Inulina
24	56	INMERSIÓN	Clorofila Zn	2%	30°C	Goma arábiga
25	57	INMERSIÓN	Clorofila Zn	2%	30°C	Mucilago
26	64	INMERSIÓN	Clorofila Zn	3%	30°C	Inulina
27	70	INMERSIÓN	Clorofila Zn	3%	50°C	Inulina
28	72	INMERSIÓN	Clorofila Zn	3%	50°C	Mucilago
29	73	INMERSIÓN	Clorofila Zn	5%	30°C	Inulina
30	75	INMERSIÓN	Clorofila Zn	5%	30°C	Mucilago
31	77	INMERSIÓN	Clorofila Zn	5%	40°C	Goma arábiga
32	84	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	2%	30°C	Mucilago
33	87	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	Mucilago
34	88	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	2%	50°C	Inulina
35	89	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	2%	50°C	Goma arábiga
36	90	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	2%	50°C	Mucilago
37	91	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	3%	30°C	Inulina
38	96	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	3%	40°C	Mucilago
39	98	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	3%	50°C	Goma arábiga
40	99	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	3%	50°C	Mucilago
41	107	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	5%	50°C	Goma arábiga
42	109	ASPERSIÓN	Clorofila Aceite	2%	30°C	Inulina
43	111	ASPERSIÓN	Clorofila Aceite	2%	30°C	Mucilago

---

44	113	ASPERSIÓN	Clorofila Aceite	2%	40°C	Goma arábica
45	120	ASPERSIÓN	Clorofila Aceite	3%	30°C	Mucilago
46	122	ASPERSIÓN	Clorofila Aceite	3%	40°C	Goma arábica
47	130	ASPERSIÓN	Clorofila Aceite	5%	40°C	Inulina
48	133	ASPERSIÓN	Clorofila Aceite	5%	50°C	Inulina
49	135	ASPERSIÓN	Clorofila Aceite	5%	50°C	Mucilago
50	138	ASPERSIÓN	Clorofila Zn	2%	30°C	Mucilago
51	141	ASPERSIÓN	Clorofila Zn	2%	40°C	Mucilago
52	145	ASPERSIÓN	Clorofila Zn	3%	30°C	Inulina
53	156	ASPERSIÓN	Clorofila Zn	5%	30°C	Mucilago
54	162	ASPERSIÓN	Clorofila Zn	5%	50°C	Mucilago
55	164	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	30°C	Goma arábica
56	165	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	30°C	Mucilago
57	167	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	40°C	Goma arábica
58	168	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	40°C	Mucilago
59	169	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	50°C	Inulina
60	170	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	50°C	Goma arábica
61	174	COMBINADO	Clorofila Cu	3%	30°C	Mucilago
62	175	COMBINADO	Clorofila Cu	3%	40°C	Inulina
63	176	COMBINADO	Clorofila Cu	3%	40°C	Goma arábica
64	179	COMBINADO	Clorofila Cu	3%	50°C	Goma arábica
65	182	COMBINADO	Clorofila Cu	5%	30°C	Goma arábica
66	184	COMBINADO	Clorofila Cu	5%	40°C	Inulina
67	187	COMBINADO	Clorofila Cu	5%	50°C	Inulina
68	189	COMBINADO	Clorofila Cu	5%	50°C	Mucilago
69	193	COMBINADO	Clorofila Aceite	2%	40°C	Inulina
70	194	COMBINADO	Clorofila Aceite	2%	40°C	Goma arábica
71	196	COMBINADO	Clorofila Aceite	2%	50°C	Inulina
72	205	COMBINADO	Clorofila Aceite	3%	50°C	Inulina
73	206	COMBINADO	Clorofila Aceite	3%	50°C	Goma arábica
74	210	COMBINADO	Clorofila Aceite	5%	30°C	Mucilago
75	214	COMBINADO	Clorofila Aceite	5%	50°C	Inulina
76	218	COMBINADO	Clorofila Zn	2%	30°C	Goma arábica
77	225	COMBINADO	Clorofila Zn	2%	50°C	Mucilago
78	230	COMBINADO	Clorofila Zn	3%	40°C	Goma arábica
79	232	COMBINADO	Clorofila Zn	3%	50°C	Inulina
80	235	COMBINADO	Clorofila Zn	5%	30°C	Inulina
81	242	COMBINADO	Clorofila Zn	5%	50°C	Goma arábica

## **6.7 Método de impregnación**

### **6.7.1 Inmersión**

En recipientes de aluminio se sumergieron totalmente los limones en una solución hipertónica del recubrimiento con el tipo de clorofila, la concentración y la temperatura señaladas en la aleatorización. Después se llevó a charolas de estilado durante 4 horas y a secado por convección a temperatura ambiente por 24 horas.

### **6.7.2 Aspersión**

Limones en constante movimiento se asperjaron con la solución indicada en la aleatorización con un equipo Swissmex con capacidad de 5 litros, boquilla Tee Jet 8005 horas a una presión entre 20 – 30 PSI durante un minuto ejerciendo un gasto aproximado de 500ml asperjados por tratamiento durante 2 minutos. Después se llevó a charolas de estilado por 1 hora y a secado por convección a temperatura ambiente por 12 horas.

### **6.7.3 Combinado**

Se repitió el proceso del método de inmersión sin variación en las condiciones de trabajo y se agregó después el sistema de aspersión sin variaciones de presión, tiempos de escurrido, secado, ni gasto.

## **6.8 Preparación de los recubrimientos**

Para cada tratamiento indicado en la aleatorización, se disolvieron en agua purificada suficiente, la goma arábica, la inulina y el mucilago en constante agitación, a una temperatura controlada a 50°Centigrados. En ellos se disolvieron soluciones al 2%, 3.5% y 5% de polvo de clorofila Zn o Clorofila Cu previamente disueltas en 100 ml de agua bidestilada. Se Ajustaron los recubrimientos a 50°Brix (figura 27) para los

tratamientos por inmersión, y a 30°Brix para los tratamientos por Aspersión, no se modificaron los grados Brix en el método Combinado.

Para los tratamientos de Clorofila Aceite se tomó como base en vez de agua el sobrenadante producto de la maceración al 2, 3.5 y 5% para disolver el Mucilago, la Goma Arábica y la Inulina. Después de la aplicación de los recubrimientos a los limones se monitoreo el tiempo en que se observó menos viscosidad al manipular el limón, fijándose este en 24 horas, en secador de charolas con ventilación a temperatura ambiente. Figura 27



Figura 29 Recubrimientos goma arábica, mucilago e inulina llevados a 50°Brix. Agitación manual.

### 6.9 Sistema de impregnación.

Se conceptualizó un sistema que pretende ser práctico, lo más parecido posible en formas y tiempos, y que pudiera adaptarse sin mayores inconvenientes al sistema que desarrollan en las máquinas seleccionadoras de limón instaladas en las líneas de empaque de limón de exportación. Figura 28



Figura 28. Diagrama de flujo del Sistema de Impregnación del limón

### 6.10 Análisis de color

Se efectuó promediando el triplicado de las mediciones de L A B y L C H a cada limón de cada tratamiento, apoyados con sobre la mancha de color amarillo del limón con colorímetro (X-rite Spectrophotometer mod. Sp62 EUA) antes y después de la impregnación. En donde:

I= Luminosidad

a= Rojo

b= Verde

c= Saturación

h= Matiz

Llevados a RGB, una sigla formada por los términos Red (“rojo”), Green (“verde”) y Blue (“azul”). Y al modelo HSL del inglés Hue, (“Matiz”), Saturación (“Saturación”),

Lighness (“Luminosidad”) en el programa Microsoft Excel de Windows 2008 para obtener visualmente la diferencia en el color, como se ejemplifica en la figura 29.

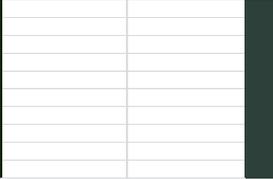
TRATAMIENTO 164							
L	48.15	56.39	L	48.15	56.39	L	
a	18.4	18.12	a	46.36	42.41	c	
b	42.55	38.34	b	113.4	115.3	h	
<b>limón 1</b>							
L	58.19	55.54	L	58.19	55.54	L	
a	18.9	17.6	a	49.22	40.44	c	
b	45.43	36.37	b	112.6	115.9	h	
<b>limón 2</b>							
L	58.96	59.47	L	58.96	62.41	L	
a	19.81	15.7	a	48.66	47.45	c	
b	44.45	39.24	b	114	111.6	h	
<b>limón 3</b>							
promedio de L	55.1	57.13	promedio de L	55.1	58.1		
promedio de a	19.03	17.14	promedio de c	48.08	43.43		
promedio de b	44.14	37.9	promedio de h	113.3	114.26		
<b>ANTES DEL TRATAMIENTO</b>		<b>DESPUÉS DEL TRATAMIENTO</b>		<b>ANTES DEL TRATAMIENTO</b>		<b>DESPUÉS DEL TRATAMIENTO</b>	
							

Figura 30 Figura 29 Ejemplo de valores colorimétricos de L A B y L C H expresados por Excel antes y después del tratamiento

Los valores promedio de l a b y l c h con sus desviaciones estándar fueron confrontados entre sí, antes y después de pasar los limones por su respectivo proceso de impregnación y expresados en gráficas para su análisis.

### 6.1.1 Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos antes y después de la impregnación se desarrolló una Matriz de Desviaciones Estándar de los tratamientos y estos fueron llevados a un análisis de varianza (ANOVA) confrontando los valores obtenidos antes y después del tratamiento de impregnación, con un valor de significancia P= 0.05 usando el software Infostat 2008.

### **6.1.2 Tratamientos con sonicador.**

Los mejores tratamientos serán replicados con clorofila comercial Cu ( ) a partir del mejor o de los mejores sistemas de impregnación obtenidos, acompañando la inmersión de los limones con un Sonicador (Telsonic MRG-36150 KC-0030B ultrasonics). Para cuantificar si por medio de las ondas ultrasónicas emitidas por este aparato se incorpora o se fija más clorofila al pericarpio del limón, aumentando así la uniformidad del color.

## **7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **7.1 Obtención de clorofila**

La clorofila Cu obtuvo un rendimiento de 64 gr/kg de alfalfa seca con una pureza del 54% de clorofila y un 46% de impurezas de fibra de alfalfa, con valores promedio de absorbancia a longitudes de onda de 642nm fue de  $\mu$  0.547 y a 660 nm fue de  $\mu$  0.718 La clorofila Zn obtuvo un rendimiento de 57 gr/kilo de alfalfa seca y una pureza del 23% con impurezas de fibra de alfalfa de 77% los valores promedio de absorbancia a 642nm fueron de  $\mu$  0.209 y a 660 de  $\mu$  0.179 La concentración obtenida de Clorofila Zn no alcanzó valores de absorbancia entre 0.2 y 0.8 Como se puede ver en la figuras 30 y 31 la coloración de clorofila Cu se presenta más intensa que la clorofila que se obtuvo en la estabilización con Zn. Por lo tanto la clorofila Zn se descartó como pigmento.



Figura 31 Diferencias de color, a la izquierda de color verde oscuro la clorofila Cu y a la derecha de color verde claro clorofila Zn

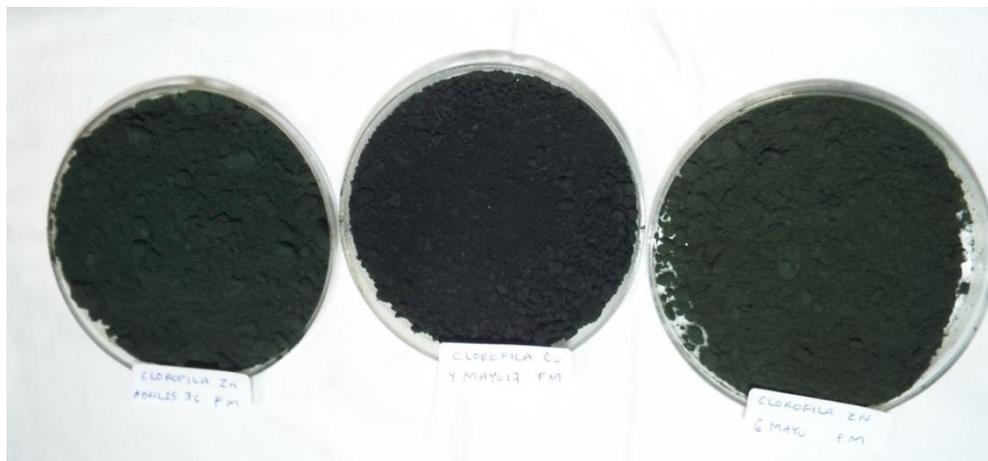


Figura 32 Diferencias de color de dos producciones de clorofila Zn, a los extremos y Clorofila Cu al centro.

En el caso de la clorofila base aceite aplicado en los diferentes sistemas de impregnación a los tratamientos, observó una marcada coloración marrón o la oxidación del aceite por lo que no fue tan estable como la clorofila Cu, como se observa en la figura 32 además de tiempos de secado mayores a 24 horas e inconvenientes para su manipulación, por lo que también se descartó, por lo tanto los tratamientos se hicieron solo con clorofila Cu.



Figura 33 Clorofila base aceite, al oxidarse adquiere color marrón intenso.

### 7.2 Cinética de pérdida de peso de los limones respecto a su recubrimiento.

Al cabo de siete observaciones con intervalo de un día, los recubrimientos evaluados respecto a su pérdida de peso al paso del tiempo mantuvieron la misma cinética que el testigo. Aunque la inulina presentó una cinética un poco más lenta que la de la goma arábica. figura 35

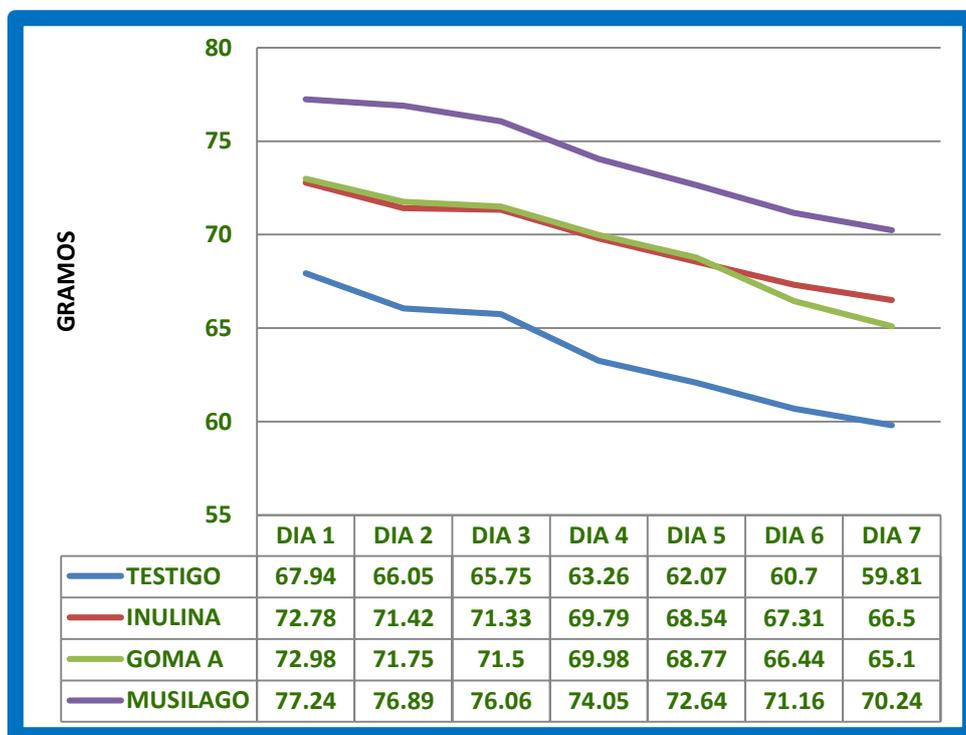


Figura 34 Cinética de la pérdida de peso de los limones respecto a su recubrimiento.

### 7.3 Impregnación de clorofila en el pericarpio

El análisis estadístico determinó que en los recubrimientos evaluados no hubo diferencia en la cantidad de clorofila impregnada en el pericarpio. Pero se observa que el mucilago baja considerablemente la clorofila después del recubrimiento. El testigo, la goma arábica y la inulina mantuvieron sus valores muy similares. Tabla 3

Tabla 3 Recubrimientos antes y después de la impregnación de clorofila.

	ABSORBANCIA			PROMEDIO	RECUBRIMIENTOS SIN CLOROFILA					
MUSILAGO	A 642	0.506	0.502	0.504	16.69592	16.408	16.55196	0.20359018	16.5±0.20 <sup>a</sup>	a
	A660	1.151	1.12	1.1355						
TESTIGO	A642	0.281	0.463	0.372	7.81088	11.77272	9.7918	2.80144393	9.79±2.80 <sup>b</sup>	b
	A660	0.434	0.561	0.4975						
GOMA A	A 642	0.308	0.3	0.304	9.95192	9.76768	9.8598	0.13027735	9.85±0.13 <sup>b</sup>	b
	A660	0.671	0.664	0.6675						
INULINA	A642	0.328	0.454	0.391	9.75392	12.02736	10.89064	1.60756484	10.89±01.60	b
	A660	0.596	0.618	0.607						
	ABSORBANCIA			PROMEDIO	RECUBRIMIENTOS CON CLOROFILA					
MUSILAGO	A 642	0.307	0.28	0.2935	7.50008	6.86848	7.18428	0.44660864	7.18±0.45 <sup>b</sup>	b
	A660	0.329	0.304	0.3165						
TESTIGO	A642	0.398	0.394	0.396	9.7836	9.93712	9.86036	0.10855503	9.86±0.108 <sup>a</sup>	a
	A660	0.435	0.466	0.4505						
GOMA A	A 642	0.413	0.411	0.412	10.23496	10.40072	10.31784	0.11721002	10.31±0.11 <sup>a</sup>	a
	A660	0.463	0.491	0.477						
INULINA	A642	0.367	0.361	0.364	9.6188	9.41832	9.51856	0.14176077	9.51±0.0.14 <sup>a</sup>	a
	A660	0.485	0.471	0.478						

### 7.4 Índice de madurez

El análisis estadístico de los valores de los sólidos totales solubles o ° Brix y el % de ácido cítrico o acidez titulable, determinó que la inulina, la goma arábica y el mucilago incrementaron el índice de maduración respecto al testigo. Pero el que tuvo valores más altos fue el mucilago, además de que físicamente se observó oxidación de los limones aportando una indeseable coloración marrón a gran parte del pericarpio, siendo un efecto negativo para el manejo postcosecha se eliminó como tratamiento de nuestro estudio, por lo que se concluye que no es viable el mucilago de nopal como recubrimiento para este cítrico figura 35



Figura 35 El recubrimiento a base de mucilago, favoreció la oxidación del limón

La Inulina y Goma Arábica incrementan en menor medida la maduración del limón respecto al testigo sin observarse cambios mayores en el pericarpio. Aunque son diferentes estadísticamente los limones recubiertos con Inulina y Goma Arábica no oxidaron al limón tabla 4.

Tabla 4 Datos del índice de madurez de los limones con los distintos recubrimientos.

	BRIX	Volumen gastado (NaOH 0.1N)	INDICE DE REFRACCIÓN $n_D$	ACIDEZ TOTAL (AC. CITRICO gr/l)	INDICE DE MADUREZ	PROMEDIO	DESVIACIONES ESTANDAR	
TESTIGO	6.1	24.7	1.34191	0.7904	7.71761134	7.86033006	0.201834753	7.86±0.20 <sup>d</sup>
	6.3	24.6	1.34221	0.7872	8.00304878			
GOMA A	6.3	21.2	1.34221	0.6784	9.2865566	9.11771012	0.238784987	9.11±0.23 <sup>c</sup>
	6.3	22	1.34221	0.704	8.94886364			
INULINA	7.5	19.4	1.344015	0.6208	12.0811856	11.97008	0.157127052	11.97±0.15 <sup>b</sup>
	7.4	19.5	1.343864	0.624	11.8589744			
MUCÍLAGO	7.0	17.4	1.34326	0.5568	12.5718391	12.8116548	0.339150692	12.81±0.33 <sup>a</sup>
	7.1	17.0	1.343411	0.544	13.0514706			

### 7.5 Diseño experimental para metodología del sistema de impregnación.

El estudio estadístico realizado con los tratamientos correspondientes a la clorofila Cu bajo los sistemas de impregnación, los recubrimientos y temperaturas explicados en

las condiciones de trabajo anteriormente descritas, determinaron que los tratamientos evaluados mantuvieron en su mayoría el mismo color, destacando el tratamiento 5, a base de **inmersión, Clorofila Cu, 2%, 40°C, con Goma Arábica** mostrando diferencias significativas en color rojo (a), verde (b), Matiz (c). Según muestran sus valores numéricos en la matriz de desviaciones estándar de los tratamientos en la tabla 5. Se muestran sus valores colorimétricos antes y después de la impregnación en la tabla 6

Tabla 5. Matriz general de Desviaciones estándar, en donde estadísticamente destaca el tratamiento 5.

TRATAMIENTO	DETERMINACIÓN DE COLOR ANTES DEL TRATAMIENTO					DETERMINACIÓN DE COLOR DESPUÉS DEL TRATAMIENTO				
	L	a	b	C	h	L	a	b	C	h
164	58.56±0.54 <sup>a</sup>	19.04±0.71 <sup>a</sup>	44.14±1.46 <sup>a</sup>	48.08±1.52 <sup>a</sup>	113.33±0.70 <sup>a</sup>	57.13±2.08 <sup>a</sup>	17.14±1.27 <sup>a</sup>	37.98±1.47 <sup>b</sup>	43.43±3.62 <sup>a</sup>	114.27±2.33 <sup>a</sup>
5	62.50±3.54 <sup>a</sup>	19.33±0.58 <sup>a</sup>	44.33±4.04 <sup>a</sup>	48.67±3.21 <sup>a</sup>	113.83±1.76 <sup>a</sup>	62.25±4.60 <sup>a</sup>	16.5±1.32 <sup>b</sup>	36.00±1.41 <sup>b</sup>	40.00±1.41 <sup>b</sup>	113.17±4.48 <sup>a</sup>
167	71.23±1.05 <sup>a</sup>	15.36±0.70 <sup>a</sup>	50.54±1.03 <sup>a</sup>	48.63±4.56 <sup>a</sup>	106.93±1.07 <sup>a</sup>	71.23±1.06 <sup>a</sup>	16.21±0.83 <sup>a</sup>	42.63±0.99 <sup>b</sup>	49.12±3.40 <sup>a</sup>	110.83±1.38 <sup>a</sup>
89	72.31±1.11 <sup>a</sup>	11.54±2.21 <sup>a</sup>	45.27±2.20 <sup>a</sup>	48.63±4.56 <sup>a</sup>	103.63±1.65 <sup>a</sup>	70.93±1.99 <sup>a</sup>	11.29±2.10 <sup>a</sup>	48.07±2.68 <sup>a</sup>	49.12±3.40 <sup>a</sup>	103.27±1.96 <sup>a</sup>
170	61.46±3.76 <sup>a</sup>	18.03±1.50 <sup>a</sup>	47.87±1.81 <sup>a</sup>	51.17±1.39 <sup>a</sup>	110.67±2.15 <sup>a</sup>	49.06±1.81 <sup>a</sup>	16.97±0.10 <sup>a</sup>	35.98±0.84 <sup>a</sup>	39.78±0.80 <sup>a</sup>	115.23±0.38 <sup>a</sup>
17	—	17.51±2.04 <sup>a</sup>	43.72±4.57 <sup>a</sup>	47.16±4.17 <sup>a</sup>	111.93±3.38 <sup>a</sup>	—	17.00±1.00 <sup>a</sup>	41.71±4.96 <sup>a</sup>	45.04±4.75 <sup>a</sup>	112.63±2.78 <sup>a</sup>
14	68.67±4.05 <sup>a</sup>	18.36±1.59 <sup>a</sup>	53.22±2.84 <sup>a</sup>	53.68±4.49 <sup>a</sup>	110.57±4.06 <sup>a</sup>	62.20±4.66 <sup>a</sup>	16.95±1.35 <sup>a</sup>	45.06±4.42 <sup>a</sup>	48.19±3.83 <sup>a</sup>	110.73±3.04 <sup>a</sup>
11	69.80±3.58 <sup>a</sup>	14.76±1.68 <sup>a</sup>	49.40±1.09 <sup>a</sup>	51.57±1.53 <sup>a</sup>	106.60±1.39 <sup>a</sup>	65.37±3.61 <sup>a</sup>	14.14±2.63 <sup>a</sup>	46.76±2.58 <sup>a</sup>	48.92±1.73 <sup>a</sup>	106.90±3.77 <sup>a</sup>
176	66.01±3.16 <sup>a</sup>	15.34±0.93 <sup>a</sup>	47.79±2.05 <sup>a</sup>	50.20±1.96 <sup>a</sup>	107.80±1.25 <sup>a</sup>	57.13±0.74 <sup>b</sup>	14.89±1.46 <sup>a</sup>	38.15±3.05 <sup>a</sup>	41.01±2.29 <sup>b</sup>	111.45±3.46 <sup>a</sup>
179	70.85±4.68 <sup>a</sup>	13.49±3.30 <sup>a</sup>	51.63±1.23 <sup>a</sup>	53.40±1.76 <sup>a</sup>	104.60±3.27 <sup>a</sup>	63.90±0.97 <sup>b</sup>	12.47±2.87 <sup>a</sup>	44.11±3.12 <sup>a</sup>	45.93±2.67 <sup>a</sup>	105.83±4.07 <sup>a</sup>
182	70.85±4.68 <sup>a</sup>	13.49±3.30 <sup>a</sup>	51.63±1.23 <sup>a</sup>	53.40±1.76 <sup>a</sup>	104.60±3.27 <sup>a</sup>	63.90±0.97 <sup>a</sup>	12.47±2.87 <sup>a</sup>	44.11±3.12 <sup>a</sup>	45.93±2.67 <sup>a</sup>	105.83±4.07 <sup>a</sup>
98	65.93±4.94 <sup>a</sup>	17.39±2.83 <sup>a</sup>	—	51.84±1.80 <sup>a</sup>	110.03±3.71 <sup>a</sup>	65.93±4.94 <sup>a</sup>	16.80±0.93 <sup>a</sup>	—	43.17±3.41 <sup>a</sup>	113.00±2.55 <sup>a</sup>
7	65.22±2.94 <sup>a</sup>	18.91±1.30 <sup>a</sup>	50.39±2.01 <sup>a</sup>	53.84±1.43 <sup>a</sup>	110.60±2.03 <sup>a</sup>	57.55±4.02 <sup>b</sup>	18.04±1.34 <sup>a</sup>	44.38±4.90 <sup>a</sup>	48.08±4.77 <sup>a</sup>	111.63±3.71 <sup>a</sup>
4	55.41±4.04 <sup>a</sup>	19.62±0.54 <sup>a</sup>	—	47.89±4.79 <sup>a</sup>	114.40±3.26 <sup>a</sup>	62.57±2.21 <sup>a</sup>	17.80±0.92 <sup>b</sup>	—	47.25±4.44 <sup>a</sup>	113.60±3.08 <sup>a</sup>
88	70.50±4.94 <sup>a</sup>	16.57±2.51 <sup>a</sup>	51.37±0.81 <sup>a</sup>	51.13±4.54 <sup>a</sup>	109.17±4.46 <sup>a</sup>	69.97±2.14 <sup>a</sup>	15.21±2.39 <sup>a</sup>	49.39±1.10 <sup>a</sup>	48.59±4.85 <sup>a</sup>	105.75±1.20 <sup>a</sup>
169	73.91±2.34 <sup>a</sup>	15.89±2.54 <sup>a</sup>	49.37±1.92 <sup>a</sup>	51.92±1.02 <sup>a</sup>	111.23±4.52 <sup>a</sup>	71.88±3.27 <sup>a</sup>	14.78±2.66 <sup>a</sup>	49.15±1.11 <sup>a</sup>	51.37±0.70 <sup>a</sup>	106.73±3.11 <sup>a</sup>
91	77.48±1.06 <sup>a</sup>	14.80±4.73 <sup>a</sup>	45.59±2.74 <sup>a</sup>	48.11±1.94 <sup>a</sup>	—	72.84±2.26 <sup>a</sup>	8.05±3.03 <sup>a</sup>	47.05±4.26 <sup>a</sup>	47.83±3.64 <sup>a</sup>	—
175	63.18±3.64 <sup>a</sup>	19.39±0.72 <sup>a</sup>	48.24±3.54 <sup>a</sup>	50.65±3.04 <sup>a</sup>	111.93±1.67 <sup>a</sup>	58.77±4.98 <sup>a</sup>	9.00±1.52 <sup>b</sup>	43.09±4.00 <sup>a</sup>	44.04±3.93 <sup>a</sup>	101.83±2.26 <sup>b</sup>
16	58.13±3.41 <sup>b</sup>	18.83±1.39 <sup>a</sup>	—	48.54±2.49 <sup>a</sup>	112.87±2.32 <sup>a</sup>	71.20±3.02 <sup>a</sup>	8.71±2.39 <sup>b</sup>	—	47.00±4.91 <sup>a</sup>	100.91±4.08 <sup>a</sup>
187	67.18±1.16 <sup>a</sup>	8.44±2.20 <sup>a</sup>	49.94±4.68 <sup>a</sup>	50.67±4.95 <sup>a</sup>	99.50±1.74 <sup>a</sup>	63.18±4.86 <sup>a</sup>	4.73±2.33 <sup>a</sup>	43.87±2.98 <sup>a</sup>	48.27±3.26 <sup>a</sup>	98.87±1.65 <sup>a</sup>
19	64.29±0.88 <sup>a</sup>	10.01±1.92 <sup>a</sup>	45.63±1.61 <sup>a</sup>	48.16±0.45 <sup>a</sup>	104.37±4.74 <sup>a</sup>	62.66±4.73 <sup>a</sup>	9.88±0.49 <sup>a</sup>	45.35±3.68 <sup>a</sup>	44.54±0.96 <sup>b</sup>	104.30±4.85 <sup>a</sup>
25	62.38±3.20 <sup>a</sup>	9.88±2.67 <sup>a</sup>	47.62±2.63 <sup>a</sup>	48.69±2.59 <sup>a</sup>	101.73±3.23 <sup>a</sup>	62.88±1.18 <sup>a</sup>	9.27±2.13 <sup>a</sup>	46.01±3.63 <sup>a</sup>	45.79±1.91 <sup>a</sup>	101.00±1.55 <sup>a</sup>
184	54.50±4.95 <sup>a</sup>	10.84±1.85 <sup>a</sup>	40.19±4.35 <sup>a</sup>	42.05±4.18 <sup>a</sup>	104.40±4.11 <sup>a</sup>	49.82±4.16 <sup>a</sup>	9.69±1.33 <sup>a</sup>	32.56±4.19 <sup>a</sup>	36.74±4.52 <sup>a</sup>	105.50±3.56 <sup>a</sup>

Tabla 6 Valores colorimétricos del tratamiento 5 con un sistema de impregnación a base de Inmersión, Clorofila Cu, 2%, 40°C, Goma Arábica

ANTES DEL TRATAMIENTO		DESPUÉS DEL TRATAMIENTO				
TRATAMIENTO	LUMINOSIDAD	ROJO	VERDE	MATIZ	SATURACION	
5	ROJO (A)					
	VERDE (B)					
	MATIZ (C)					

Otros tratamientos, aunque en menos parámetros, también mostraron diferencias estadísticas, en luminosidad (l) el 7, el 176 y 170. En el rojo (a) el 4,16 y 175. Color verde (b) el tratamiento 164 y 167. En Saturación (c) el 19 y 176. En Matiz (h) solo presento diferencias el 176, por último el tratamiento 16 presento también diferencia, aunque negativa, en luminosidad (l), tabla 7

Tabla 7 Tratamientos descritos con diferencias significativas

TRAT.	ANTES		DESPUÉS				TRATAMIENTO				
	L	L	a	b	C	h					
4	55.41±4.04 <sup>a</sup>	62.57±2.21 <sup>a</sup>	17.80±0.92 <sup>b</sup>	—	47.25±4.44 <sup>a</sup>	113.60±3.08 <sup>a</sup>	INMERSIÓN	CLOROFILA CU	2%	40°C	INULINA
5	62.50±3.54 <sup>a</sup>	62.25±4.60 <sup>a</sup>	16.5±1.32 <sup>b</sup>	36.00±1.41 <sup>b</sup>	40.00±1.41 <sup>b</sup>	113.17±4.48 <sup>a</sup>	INMERSIÓN	CLOROFILA CU	2%	40°C	GOMA ARÁBIGA
7	65.22±2.94 <sup>a</sup>	57.55±4.02 <sup>b</sup>	18.04±1.34 <sup>a</sup>	44.38±4.90 <sup>a</sup>	48.08±4.77 <sup>a</sup>	111.63±3.71 <sup>a</sup>	INMERSIÓN	CLOROFILA CU	2%	50°C	INULINA
16	58.13±3.41 <sup>b</sup>	71.20±3.02 <sup>a</sup>	8.71±2.39 <sup>b</sup>	—	47.00±4.91 <sup>a</sup>	100.91±4.08 <sup>a</sup>	INMERSIÓN	CLOROFILA CU	3%	50°C	INULINA
19	64.29±0.88 <sup>a</sup>	62.66±4.73 <sup>a</sup>	9.88±0.49 <sup>a</sup>	45.35±3.68 <sup>a</sup>	44.54±0.96 <sup>b</sup>	104.30±4.85 <sup>a</sup>	INMERSIÓN	CLOROFILA CU	5%	30°C	INULINA
164	58.56±0.54 <sup>a</sup>	57.13±2.08 <sup>a</sup>	17.14±1.27 <sup>a</sup>	37.98±1.47 <sup>b</sup>	43.43±3.62 <sup>a</sup>	114.27±2.33 <sup>a</sup>	COMBINADO	CLOROFILA CU	2%	30°C	GOMA ARÁBIGA
167	71.23±1.05 <sup>a</sup>	71.23±1.06 <sup>a</sup>	16.21±0.83 <sup>a</sup>	42.63±0.99 <sup>b</sup>	49.12±3.40 <sup>a</sup>	110.83±1.38 <sup>a</sup>	COMBINADO	CLOROFILA CU	2%	40°C	GOMA ARÁBIGA
175	63.18±3.64 <sup>a</sup>	58.77±4.98 <sup>a</sup>	9.00±1.52 <sup>b</sup>	43.09±4.00 <sup>a</sup>	44.04±3.93 <sup>a</sup>	101.83±2.26 <sup>b</sup>	COMBINADO	CLOROFILA CU	3%	40°C	INULINA
176	66.01±3.16 <sup>a</sup>	57.13±0.74 <sup>b</sup>	14.89±1.46 <sup>a</sup>	38.15±3.05 <sup>a</sup>	41.01±2.29 <sup>b</sup>	111.45±3.46 <sup>a</sup>	COMBINADO	CLOROFILA CU	3%	40°C	GOMA ARÁBIGA
179	70.85±4.68 <sup>a</sup>	63.90±0.97 <sup>b</sup>	12.47±2.87 <sup>a</sup>	44.11±3.12 <sup>a</sup>	45.93±2.67 <sup>a</sup>	105.83±4.07 <sup>a</sup>	COMBINADO	CLOROFILA CU	3%	50°C	GOMA ARÁBIGA

Cuando relacionamos los valores colorimétricos de los tratamientos significativos con sus recubrimiento asignados, distinguimos como el dato más relevante que en el parámetro que nos indica el color verde (b) únicamente la Goma Arábica elevó el color, en las 3 ocasiones que resulto aumentado. Por lo que se infiere que este recubrimiento es el más eficaz para aumentar el color verde. Las medidas para Luminosidad (l), color Rojo (a), Matiz (c) y Saturación (h) **no presentaron tendencias tan concluyentes**, ó que nos deriven a relacionar si la Inulina o la Goma Arábica son recubrimientos determinantes para aumentar estos parámetros colorimétricos en los limones, como se comprueba visualmente en la tabla 8.

Tabla 8 Valor colorimétrico de los tratamientos llevados a RGB Y HSL de Excel que mostraron diferencias significativas en l, a, b, c y h.

ANTES DE IMPREGNACIÓN		DESPUÉS DE IMPREGNACIÓN					ANTES DE IMPREGNACIÓN		
	LUMINOSIDAD	LUMINOSIDAD	ROJO	VERDE	MATIZ	SATURACION	SIGNIFICANCIA	TRATAMIENTO	
		INULINA						B	4
		G. ARÁBIGA						B,B,B	5
		G. ARÁBIGA							
		G. ARÁBIGA							
		INULINA						B	7
	INULINA-							B-,B	16
		INULINA							
		INULINA						B	19
		G. ARÁBIGA						B	164
		G. ARÁBIGA						B	167
		INULINA						B,B	175
		INULINA							
		G. ARÁBIGA						B,B	176
		G. ARÁBIGA							
		G. ARÁBIGA						B	179

## **7.6 Resultados en RGB y RCH**

Se realizó otro análisis de todos los datos de los tratamientos en l, a, b, c y h pero ahora confrontando sus desviaciones estándar uno a uno antes y después de la impregnación graficando sus valores mayor y menor para obtener detalladamente las diferencia entre ellos.

### **7.6.1 Luminosidad**

Cuando confrontamos los valores de los limones en Luminosidad (l) los tratamientos 7, 91, 167, 170, 176, 179 y 182 presentaron disminuciones significativas, que colorimétricamente son aumentos de color, pues cuanto más oscuro es el color la luminosidad es más débil, sin embargo 2 tratamientos presentaron incrementos el 4 y el 16. Los tratamientos marcados en color verde no tienen diferencia colorimétrica importante, pues estadísticamente los valores de sus desviaciones estándar se “juntan”, los pares en color rojo son los tratamientos que si tienen diferencia en color, pues sus desviaciones estándar no se tocan, indican que la luminosidad bajó y que son deseables para nuestros objetivos, en cambio los tratamientos en azul, aunque tampoco se juntan sus desviaciones estándar reflejan crecimientos en luminosidad, lo que es negativo para la fijación del color. Se muestran los tratamientos graficados antes y después de la impregnación en la figura 35.

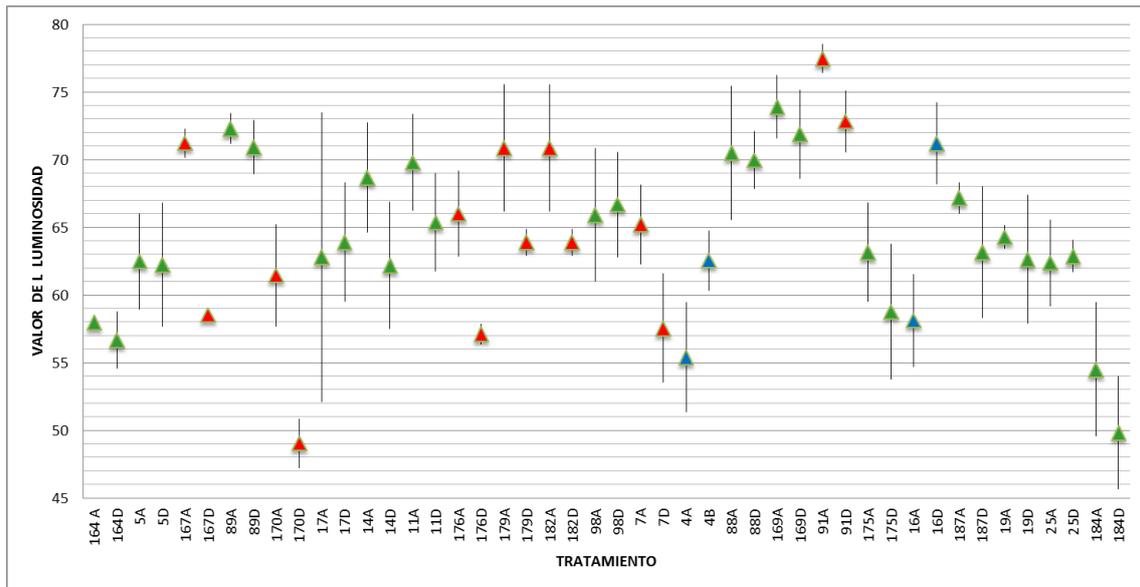


Figura 36 Gráfico de valores de los tratamientos de luminosidad (I). Los marcados en color rojo son los tratamientos deseables. Los de color azul por el contrario, aumentaron su luminosidad.

De los 7 tratamientos significativos en luminosidad (I) descritos, es relevante que 5 bajaron sus valores en el método combinado, y los 5 tratamientos fueron recubiertos por goma arábica. Los tratamientos que aumentaron sus valores afectando negativamente fueron a base de inulina en el método de inmersión. En cuanto a la concentración de clorofila fueron más afines para los valores bajos 2% a medios 3.5% pues 6 de 7 tratamientos expresaron esas concentraciones. En el caso de las temperaturas estudiadas los tratamientos expresaron 5 de cada 7 veces mayor afinidad por las temperaturas medias 40°C a altas 50°C como se demuestra en la tabla 8.

Tabla 8. Tratamientos con diferencias en ( I ) luminosidad y sus descripciones.

TRATAMIENTOS CON DISMINUCIÓN EN LUMINOSIDAD (I)					
TRATAMIENTO	MÉTODO	CLOROFILA	CONCENTRACIÓN	TEMPERATURA	RECUBRIMIENTO
7	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	50°C	INULINA
91	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	3.5%	30°C	INULINA
167	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
170	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	50°C	G. ARÁBIGA
176	COMBINADO	Clorofila Cu	3.5%	40°C	G. ARÁBIGA
179	COMBINADO	Clorofila Cu	3.5%	50°C	G. ARÁBIGA
182	COMBINADO	Clorofila Cu	5%	30°C	G. ARÁBIGA
TRATAMIENTOS CON AUMENTO EN I					
4	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	INULINA
16	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3.5%	50°C	INULINA

### 7.6.2 Color rojo (a)

En el color rojo (a) los tratamientos que mostraron aumento de sus valores significan un incremento en la claridad del color, por lo que al disminuir los valores después del tratamiento se presenta un aumento en la obscuridad del color, lo que es deseable para nuestro objetivo. Solo fueron 5 los tratamientos en los que se lograron más obscuridad en el color, se muestran graficados antes y después de la impregnación.

Figura 36

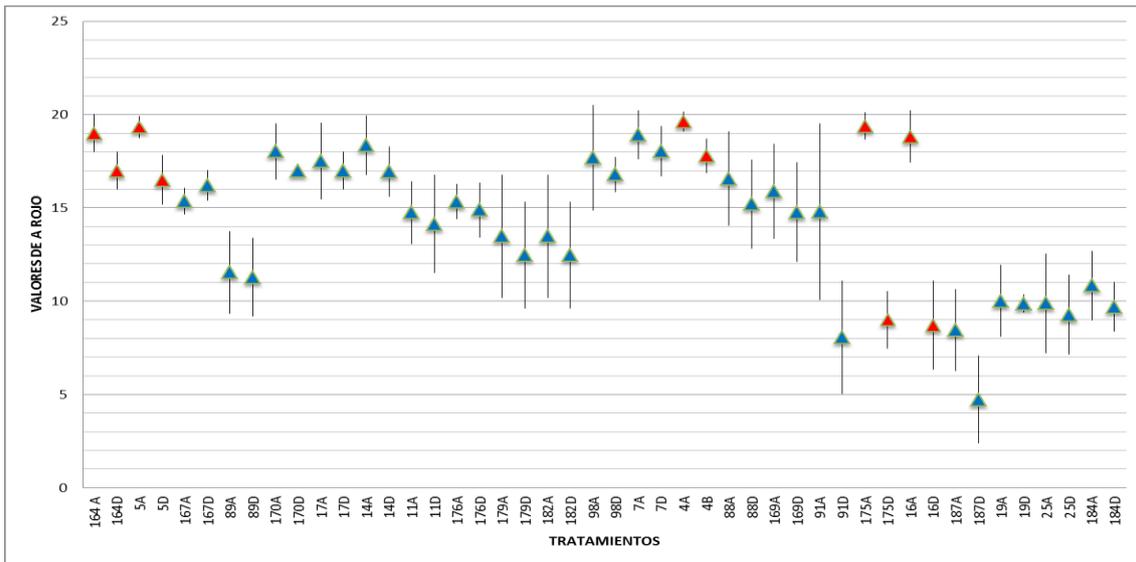


Figura 37 Gráfico de valores de los tratamientos en rojo (a). Solo cuatro tratamientos, marcados en color rojo obtuvieron diferencia importante.

Los valores de los tratamientos en la disminución en color rojo (a) nos muestran que los limones para este color en los métodos de inmersión y combinado no expresan una clara tendencia de impregnación. El rojo (a) disminuyó a concentraciones bajas 2% a medias 3.5%, y en la temperatura 4 de 5 tratamientos fueron mejores a temperatura medias 40°C a altas 50°C. Ningún recubrimiento o método baja concluyentemente los valores del rojo (a). Solo reflejan una ligera tendencia a favor de la inulina, como se describe en la tabla 9.

Tabla 9 Tratamientos con diferencias en rojo (a) matiz, descritos.

TRATAMIENTOS CON DISMINUCIÓN EN ROJO (a)					
TRATAMIENTO	MÉTODO	CLOROFILA	CONCENTRACIÓN	TEMPERATURA	RECUBRIMIENTO
4	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	INULINA
5	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
16	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3.5%	50°C	INULINA
164	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	30°C	G. ARÁBIGA
175	COMBINADO	Clorofila Cu	3.5%	40°C	INULINA

### 7.6.3 Color verde (b)

Al comparar los valores en el color verde (b) el aumento de los valores significan un incremento en la claridad del color, por lo que al disminuir los valores antes y después del tratamiento se presenta un aumento en la obscuridad del color y para el caso del

limón es lo que se busca en este estudio. Los tratamientos en los que se lograron disminuciones fueron el 164, 5, 167, 170, 14, 176, 179 y 182 se muestran los tratamientos graficados antes y después de la impregnación en la figura 37

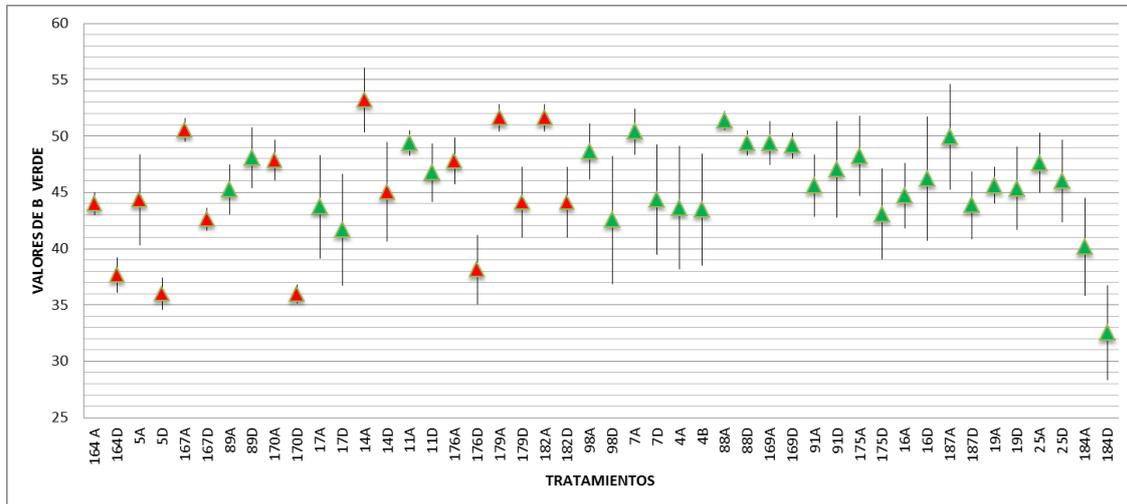


Figura 38 Gráfico de valores de los tratamientos en verde (b). Marcados con color rojo, ocho tratamientos, hicieron más intenso el color verde al bajar sus valores.

Cuando se describen los valores graficados se observó que los tratamientos que bajan la claridad del verde tienen tendencia al método combinado, a las concentraciones baja y media y a las temperaturas media y alta, en el recubrimiento se observa una afinidad casi total por la goma arábica pues 7 de los 8 tratamientos disminuyeron sus valores con este recubrimiento.

Tabla 11 Tratamientos con diferencias en verde (b) y sus descripciones.

TRATAMIENTOS CON DISMINUCIÓN EN VERDE (b)					
TRATAMIENTO	MÉTODO	CLOROFILA	CONCENTRACIÓN	TEMPERATURA	RECUBRIMIENTO
5	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
14	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3.5 %	40°C	INULINA
164	COMBINADC	Clorofila Cu	2%	30°C	G. ARÁBIGA
167	COMBINADC	Clorofila Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
170	COMBINADC	Clorofila Cu	2%	50°C	G. ARÁBIGA
176	COMBINADC	Clorofila Cu	3.5%	40°C	G. ARÁBIGA
179	COMBINADC	Clorofila Cu	3.5%	50°C	G. ARÁBIGA
182	COMBINADC	Clorofila Cu	5%	30°C	G. ARÁBIGA

### 7.6.4 Matiz (c)

Cuando se comparan los valores en Matiz (c) antes y después de la impregnación los tratamientos 5, 167, 170, 176, 179, 182, 98, y 19 presentaron diferencias en sus valores colorimétricos, se muestran los valores de los tratamientos graficados antes y después de la impregnación en la figura 38.

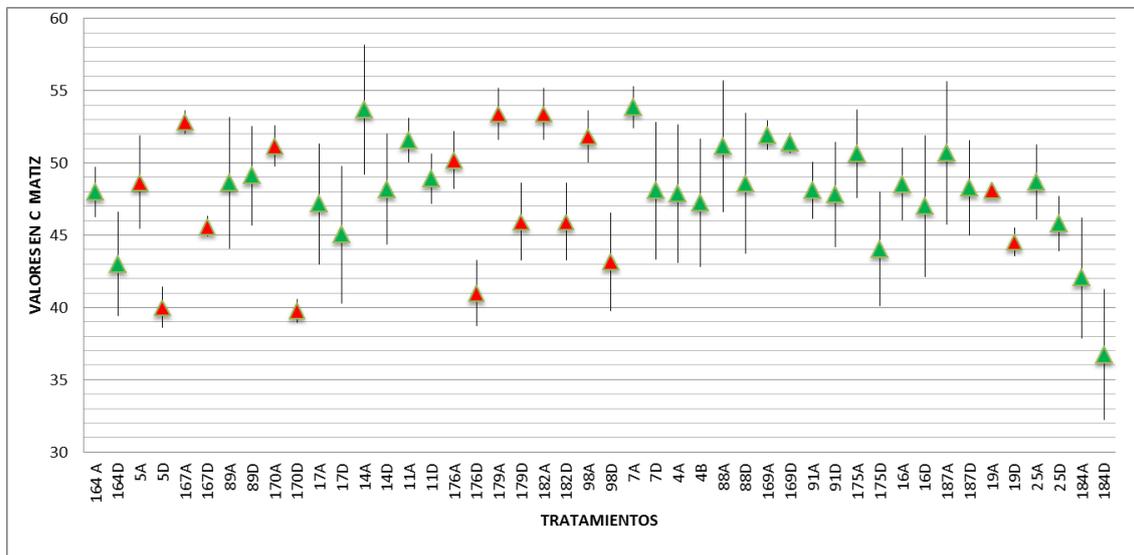


Figura 39 Gráfico de valores de tratamientos en matiz (c), Marcados en color rojo los tratamientos con diferencia colorimétrica

En cuanto a las diferencias en matiz (c) los tratamientos mostraron que son mejores en el método combinado 5 de cada 8 veces respecto a los métodos de inmersión y

aspersión, y que las concentraciones al 2% y al 3.5% de clorofila y las temperaturas a 40°C y 50°C se diferencian 6 de cada 8 veces de la concentración al 5% y la temperatura de 30°C respectivamente. En cuanto a los recubrimientos la goma arábica fue mejor que la inulina para diferenciar el matiz 7 de cada 8 veces.

Tabla 11 Tratamientos con diferencias en matiz (c). Y sus descripciones.

TRATAMIENTO	MÉTODO	TRATAMIENTOS CON DIFERENCIAS EN MATIZ (c)			RECUBRIMIENTO
		CLOROFILA	CONCENTRACIÓN	TEMPERATURA	
5	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
19	INMERSIÓN	Clorofila Cu	5%	30°C	INULINA
98	ASPERSIÓN	Clorofila Cu	3.5%	50°C	G. ARÁBIGA
167	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
170	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	50°C	G. ARÁBIGA
176	COMBINADO	Clorofila Cu	3.5%	40°C	G. ARÁBIGA
179	COMBINADO	Clorofila Cu	3.5%	50°C	G. ARÁBIGA
182	COMBINADO	Clorofila Cu	5%	30°C	G. ARÁBIGA

### 7.6.5 Saturación de color (I)

Cuando se relacionan los valores en saturación (h) los tratamientos 167 y 170 aumentaron sus valores, lo que derivó en una mayor intensidad en el verde oscuro de los limones, en el caso contrario, los tratamientos 175 y 16 bajaron sus valores, en este caso el color verde amarillento que deseamos cubrir solo se mostró opaco. Se muestran los tratamientos graficados antes y después de la impregnación en la figura 39.

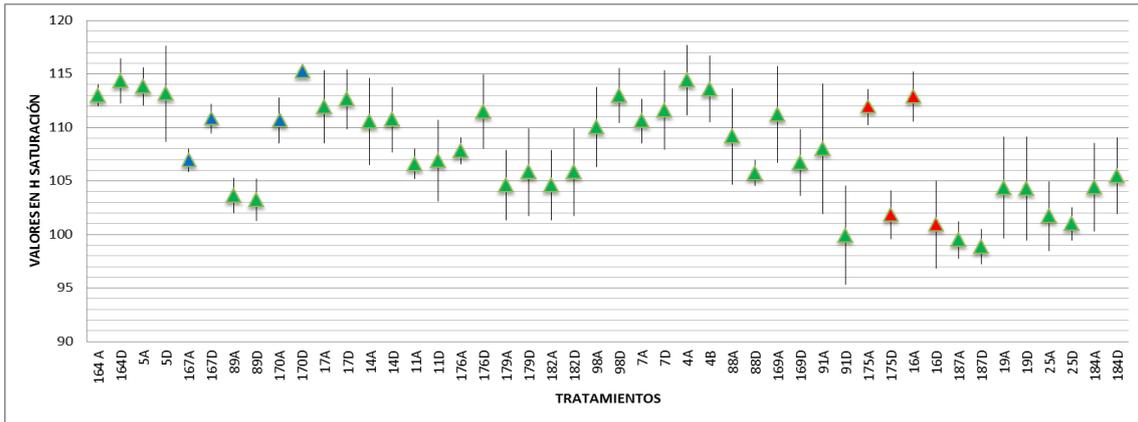


Figura 40 Gráfico de valores de tratamientos en saturación (h). Los marcados en azul son deseables pues subieron sus valores estadísticos, los marcados en color rojo por el contrario bajaron la saturación de color.

Al tratarse de la saturación (h) Solo dos tratamientos intensificaron el color verde oscuro de la clorofila en el limón, los dos bajo el método combinado, con clorofila al 2%, con temperatura media y alta y los dos con recubrimiento a base de goma arábica. Los tratamientos que disminuyeron la saturación del color, se trataron en el método combinado con clorofila al 3.5% con temperaturas media y alta, los dos a base de inulina.

Tabla 12 Tratamientos con disminuciones y aumentos en saturación (h).

TRATAMIENTOS CON AUMENTO EN SATURACIÓN (h)					
TRATAMIENTO	MÉTODO	CLOROFILA	CONCENTRACIÓN	TEMPERATURA	RECUBRIMIENTO
167	COMBINADO	CLOROFILA Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
170	COMBINADO	CLOROFILA Cu	2%	50°C	G. ARÁBIGA
TRATAMIENTOS CON DISMINUCIÓN EN SATURACIÓN (h)					
175	COMBINADO	CLOROFILA Cu	3.5%	40°C	INULINA
16	COMBINADO	CLOROFILA Cu	3.5%	50°C	INULINA

### 7.7 Tratamientos destacados en RGB Y LCH

Cuando comparamos los tratamientos con diferencia en los valores de sus diferencias estándar con los tratamientos que resultaron significativos en el análisis de varianza, lo

más sustancial es que el tratamiento 5 insiste en su significancia, pues coincide en los mismos parámetros a, b y c.

Destacan los tratamientos 167 y 170 mejoraron la coloración de los limones en l, b, c y h, y son los únicos que adoptan valores positivos en b y h, lo que es muy deseable para mejorar el porcentaje de coloración en el limón.

Los tratamientos 176, 179 y 182 mejoraron el color en l, b y c. El 164 mejoró en a y b, y el 14 solo en b.

Al detallar los tratamientos significativos por su método de impregnación se enfatiza que el método combinado logró mejorar el color 7 de cada 11 veces, el de inmersión 4 veces y el de aspersion ninguno.

En cuanto a las concentraciones de clorofila estudiadas se acentúa que las concentraciones baja, al 2% y media 3.5% son las más apropiadas al sistema de impregnación, pues están expresadas en 9 de cada 11 tratamientos. Analizando las temperaturas encontramos 3 tratamientos que expresaron mejor el color a 30°C, 5 tratamientos a 40°C y 3 a 50°C

Tabla 13 Tratamientos destacados en l, a, b, c y h en análisis de varianza y comparación de desviaciones estándar, los tratamientos con diferencia significativa según el análisis de varianza se muestran en color verde claro, los tratamientos con diferencia en los valores de sus desviaciones estándar se muestran en azul los que coinciden positivamente en los dos análisis en verde oscuro.

TRATAMIENTO	l	a	b	c	h	MÉTODO	CLOROFILA	CONCENTRACIÓN	TEMP.	RECUBRIMIENTO
164	57.13±2.08a	17.14±1.27a	37.98±1.47b	43.43±3.62a	114.27±2.33a	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	30°C	G. ARÁBIGA
167	71.23±1.06a	16.21±0.83a	42.63±0.99b	49.12±3.40a	110.83±1.38a	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
5	62.25±4.60a	16.5±1.32b	36.00±1.41b	40.00±1.41b	113.17±4.48a	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	40°C	G. ARÁBIGA
170	49.06±1.81a	16.97±0.10a	35.98±0.84a	39.78±0.80a	115.23±0.38a	COMBINADO	Clorofila Cu	2%	50°C	G. ARÁBIGA
176	57.13±0.74b	14.89±1.46a	38.15±3.05a	41.01±2.29b	111.45±3.46a	COMBINADO	Clorofila Cu	3.5%	40°C	G. ARÁBIGA
14	62.20±4.66a	16.95±1.35a	45.06±4.42a	48.19±3.83a	110.73±3.04a	INMERSIÓN	Clorofila Cu	3.5%	40°C	G. ARÁBIGA
179	63.90±0.97b	12.47±2.87a	44.11±3.12a	45.93±2.67a	105.83±4.07a	COMBINADO	Clorofila Cu	3.5%	50°C	G. ARÁBIGA
182	63.90±0.97a	12.47±2.87a	44.11±3.12a	45.93±2.67a	105.83±4.07a	COMBINADO	Clorofila Cu	5%	30°C	G. ARÁBIGA
7	57.55±4.02b	18.04±1.34a	44.38±4.90a	48.08±4.77a	111.63±3.71a	INMERSIÓN	Clorofila Cu	2%	50°C	INULINA
175	58.77±4.98a	9.00±1.52b	43.09±4.00a	44.04±3.93a	101.83±2.26b	COMBINADO	Clorofila Cu	3.5%	40°C	INULINA
19	62.66±4.73a	9.88±0.49a	45.35±3.68a	44.54±0.96b	104.30±4.85a	INMERSIÓN	Clorofila Cu	5%	30°C	INULINA

El 72% de los tratamientos con diferencia positiva en la confrontación de desviaciones estándar, de los valores de luminosidad (l), verde (b), matiz (c) y saturación (h) los limones estuvieron tratados con goma arábica y fueron impregnados con el método combinado. El método de inmersión el 20% y el de aspersion el 8%.

Juntos, goma arábica y combinado asumieron tendencias del 83 % por las concentraciones de clorofila bajas y medias (2% y 3.5%) y tendencia del 77% a las temperaturas medias y altas (40°C y 50°C). La inulina no mejora la luminosidad, el verde, matiz ni saturación. Los resultados obtenidos enfatizan que la goma arábica es 8 de cada 11 tratamientos mejor que el otro recubrimiento a base de inulina. También es notorio que los 8 tratamientos que mejoraron el parámetro indicador del color verde (b) en recubiertos con goma arábica, tabla 14.

Tabla 14 Valor colorimétrico de los mejores tratamientos tanto en ANOVA y confrontación de desviaciones estándar llevados a RGB Y HSL de Excel que mostraron diferencias significativas en verde (b).

ANTES DE IMPREGNACIÓN					DESPUÉS DE IMPREGNACIÓN				
TRAT.	MÉTODO	RECUBRIMIENTO	CONCENTRACIÓN	TEMPERATURA	LUMINOSIDAD	ROJO	VERDE	MATIZ	SATURACION
167					I				
	COMBINADO	G. ARÁBIGA	2%	40°C			b		
								c	
									h
170					I				
	COMBINADO	G. ARÁBIGA	2%	50°C			b		
								c	
									h
5					I				
						a			
	INMERSIÓN	G. ARÁBIGA	2%	40°C			b		
176					I				
	COMBINADO	G. ARÁBIGA	2%	40°C			b		
								c	
179					I				
	COMBINADO	G. ARABIGA	3.5%	50°C			b		
								c	
182					I				
	COMBINADO	G. ARABIGA	5%	30°C			b		
								c	
164						a			
	COMBINADO	G. ARÁBIGA	2%	30°C			b		
14	INMERSIÓN	G. ARÁBIGA	3.5%	40°C			b		

## 7.8 Tratamiento con sonicador

Se tuvieron elementos para realizar un ensayo concluyente a base de la clorofila Cu, en el método de impregnación combinado a 40°C de temperatura apoyando a la hipótesis de incrementar hasta en un 95% la uniformidad del color, utilizó la clorofila Cu comercial al 5% un tratamiento con recubrimiento a base de goma arábica y otro a base de inulina cada uno con 3 repeticiones, y se incrementó el tiempo de inmersión de 2 a 5 minutos figura 39.



Figura 41 Limones sometidos al tratamiento con Sonicador.

Con las modificaciones hechas al sistema de impregnación la goma arábica obtuvo aún más amplios rangos en sus diferencias en l, a, b y h que la inulina, comprobando que es el mejor de los recubrimientos evaluados. Pero no incrementó la uniformidad del color verde en la mancha amarilla en un 95% como lo plantea la hipótesis. Figura 14

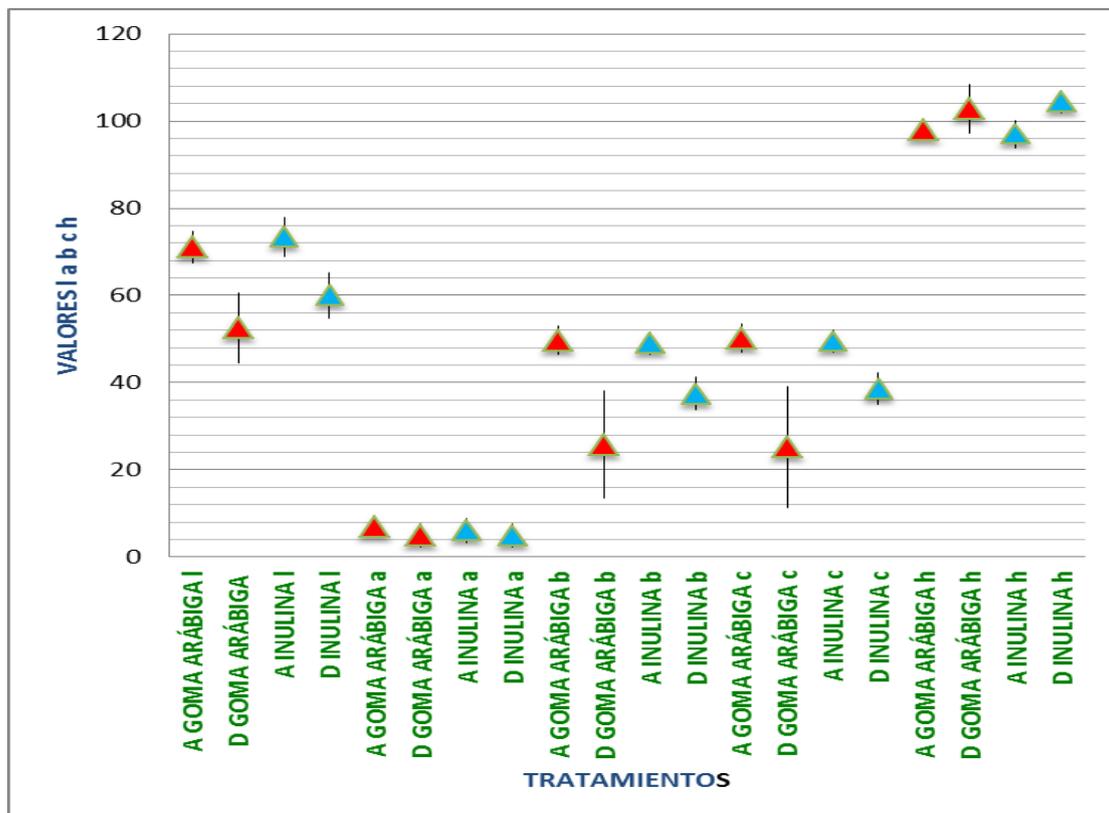


Figura 42 Valores de goma arábica (en color rojo) e inulina (en color azul) en l, a, b, c y h antes y después de los tratamientos con sonicador.

## **8.0 CONCLUSIONES**

Se determinó que la clorofila Cu obtenida fue mejor en rendimiento, valores de absorbancia, impregnación y vida de anaquel, estabilidad como pigmento que la clorofila Zn y la clorofila base aceite.

En los recubrimientos evaluados, estadísticamente no hubo diferencia en la cantidad de clorofila impregnada en el pericarpio del limón, pero si determinaron que el mucilago no es un recubrimiento conveniente para el limón porque lo oxida, decreciendo su vida de anaquel.

La goma arábica fue el recubrimiento evaluado con mejores tendencias de impregnación al limón del color verde (b) y fue el más competitivo en los métodos de impregnación inmersión y combinado. El método de aspersion no tuvo resultados satisfactorios. La inulina no observó buenos resultados fijando el color verde (b), pero si el rojo (a).

Estadísticamente el tratamiento a base de inmersión a 40°C, Goma Arábica y clorofila Cu al 2% es el más destacado en los valores colorimétricos de luminosidad (l), rojo (a) y (b), pero no en saturación de color (h) por lo que no fue determinante en nuestro estudio.

En las temperaturas medias y altas, de 40 y 50 °C respectivamente, se obtienen mejores resultados de impregnación de color en el limón.

Los resultados más altos de coloración verde uniforme en el limón se obtienen recubriéndolos con goma arábica en un sistema combinado de inmersión y aspersion, a concentraciones de clorofila del 2% y 3.5% pero sin llegar al 95% de uniformidad que planteó nuestra hipótesis.

Aún con el uso auxiliar de clorofila Cu comercial y uso de Sonicador no se logró incrementar la uniformidad del color en el limón. Declarándose por lo tanto la hipótesis nula en este estudio.

## 9.0 BIBLIOGRAFIA

- A.A. Kader *Biología y Tecnología Postcosecha, una revisión general*. A. kader Postharvest Technology of orticultural crops 58-62 ed. Univ. Calif. Publ3311
- Álvarez, O. C., Díaz S. C., Ramírez V. D. y Yánez F.J. (2007). "Aplicación de las películas comestibles a base de quimostato y mucílago de nopal en fresa (*Fragaria ananasa*) en refrigeración". Tesis de maestría. Ciencia en alimentos. Universidad de las Américas Puebla. Puebla. Pág. 21-23. 4.
- Atlas Agroalimentario 2012-2018 SERVICIO DE INFORMACIÓN AGROALIMENTARIA Y PESQUERA (SIAP). SAGARPA 46-50
- Arizmendi, C.D. (2004). "Secado por Aspersión de Mucílago de Nopal". IX Congreso de ciencia de los alimentos y V foro de ciencia y tecnología de alimentos. Departamento de Bioingeniería. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. IPN. Guanajuato, Gto. Pág. 277. 5.
- Benjamin K. Simpson, Leo M.L. Nollet, Fidel Toldra, Soottawat Benjakul, Gopinadhan Paliyath and Y.H. Hui (2012) "Natural Food Pigments" *Food Biochemistry and Food Processing*, Second Edition. 710-711 John Wiley & Sons, Inc. Published 2012 by John Wiley & Sons, Inc.
- Bidwell G. S. Roger (2001 ) *Fisiología Vegetal*. 6ta. Edición AGT Editor SA 56-58
- B. S. Paulsen y PS Lund (1999) "Polisacáridos solubles en agua de *Opuntia ficus-indica* cv 'Burbank's Spineless'," *Phytochemistry*, vol. 18, No. 4, pp. 569-571.
- C. Sáenz, E. Sepúlveda y B. Matsuhiro, "Opuntia spp. Mucilage: un componente funcional con perspectivas industriales," *Journal of Arid Environments*, vol. 57, No. 3, 2004, pp. 275-290. Doi: 10.1016 / S0140-1963 (03) 00106-X
- Calvo, Rebollar Miguel. (2000) *Bioquímica de los Alimentos*. Universidad de Zaragoza. España 24
- Cárdenas, I. Higuera-Ciapara y F. Goycoolea, "Reología y agregación de mucílago de solución de cactus (*Opuntia ficus-indica*)", *Revista de la Asociación Profesional de Desarrollo de Cactus*, vol. 2, 1997, 152-159.

- Cárdenas, I. Higuera-Ciapara y F. Goycoolea, "Reología y agregación de mucílago de solución de cactus (*Opuntia ficus-indica*)", *Revista de la Asociación Profesional de Desarrollo de Cactus*, vol. 2, 1997, 152-159.
- Carlos E. Reina G. (1995) "Manejo post cosecha y evaluación de la calidad del limón. Aspectos Enzimáticos y gaseométricos de la respiración del limón" *Pantastico C. R, Fisiología de poscosecha Manejo y Utilización de Frutas y Hortalizas* 20
- Crispín-Isidro, G., Lobato-Calleros, C., Espinosa-Andrews, H., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2015). Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 438–444.  
<http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.042>
- Dharmaraj, S., Ashokkumar, B., & Dhevendaran, K. (2009). Food-grade pigments from *Streptomyces* sp. isolated from the marine sponge *Callyspongia diffusa*. *Food Research International*, 42(4), 487–492.  
<http://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.006>
- E. Sepúlveda, C. Sáenz, E. Aliaga y C. Aceituno, "Extracción y caracterización del mucílago en *Opuntia* spp.", *Journal of Arid Environments*, vol. 68, No. 4, 2007, pp. 534-545. doi: 10.1016 / j.jaridenv.2006.08.001
- Femat C. C. (2015) "Evaluación por superficie respuesta del proceso de microencapsulación Zn<sup>+2</sup> Clorofilina" 3-7 Tesis de maestría. Instituto Tecnológico de Tlajomulco Jalisco.
- Fernandes, R. V. D. B., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 524–532.  
<http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.083>
- Gracia, Oswaldo (1998) *La goma Arabiga, una maravilla natural que nos beneficia a todos*. Study lib 4,6,7
- Madrigal L.y Sangronis E. (2007) "La inulina y sus derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales" *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 2007 - [scielo.org](http://scielo.org).

- Madrigal L.y Sangronis E. (2007) “La inulina y sus derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales” Archivos latinoamericanos de nutrición, 2007 - scielo.org.
- Medina-Torres, Brito-De La Fuente, Torrestiana-Sanchez, Katthain (2000) Propiedades reológicas de la goma de mucílago ( *Opuntia ficus indica* ) Elsevier Vol. 14 No.15 417-424
- Murray W. Nabors. Apunte de fisiología vegetal/Introducción a la Botánica. (2005). editorial Pearson. 116-117
- Özkan, G., & Ersus Bilek, S. (2015). Enzyme-assisted extraction of stabilized chlorophyll from spinach. *Food Chemistry*, 176, 152–157. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.059>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2016). Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*, 7, 20–26. <http://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.004>
- Ruiz, H. F., Guerrero, B. J. A. (2009). “Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia spp*”. Dto. de Agroindustria y Enología, Facultad de Ciencias Agrómicas, Universidad de Chile. Santiago Chile. 3.
- Sabater G. Francisco (1985) Aspectos enzimaticos y gaseometricos de la respiración del limón Universidad de Murcia España 12
- Sarahí Rodríguez-González , H. E. Martínez-Flores , J. L. Órnelas-Nuñez, M. G. Garnica-Romo(2111) “Optimización de la extracción del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*)” 1 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.2
- Tumolo, T., & Lanfer-Marquez, U. M. (2012). Copper chlorophyllin: A food colorant with bioactive properties? *Food Research International*, 46(2), 451–459. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.10.031>
- Wrolstad, R. E. (2004). Symposium 12: Interaction of natural colors with other ingredients - Anthocyanin pigments - Bioactivity and coloring properties. *Journal of Food Science*, 69(5), C419–C421. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10710.x>

## 10.0 ANEXOS



Tratamientos en el proceso de secado



Limones recién tratados por aspersión



Clorofila Cu y clorofila Zn y clorofila comercial



Limones con inulina en secado después de salir del sistema de inmersión con sonificador.



Limones con goma arábica en secado después de ser tratados con inmersión con sonificador.