

Aplicación de un recubrimiento comestible a base de *Opuntia ficus-indica* para aumentar la vida de anaquel de aguacate *Persea americana* Hass

Reyes Robles, A.L.¹, Roa Ramos, J.¹, Damián Reyna, A.A.¹, Martínez García, M.¹.

¹División de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Instituto Tecnológico Superior de Puruándiro. Carretera Puruándiro – Galeana km. 4.3, Puruándiro, 58532, Michoacán, México. Tel: 4383832732. Correo: Jessi_Roa98@hotmail.com

Palabras clave: Cazahuate, Microbicida, Antimicrobiano, Microbiológico.

Introducción

La producción de aguacate (*Persea americana* Hass) en México ha presentado un comportamiento alcista. En el 2018, con datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), se obtuvo una producción de 2.18 millones de toneladas, lo que representa un incremento anual de 7.6%. De igual manera el SIAP nos dice que el avance de producción de aguacate en México, acumulado de enero a septiembre del 2019, fue de 1.64 millones de toneladas, esto es 5.7% mayor a lo cosechado al mismo mes del 2018. Se prevé una producción de 2.61 y 3.16 millones de toneladas en el 2024 y el 2030, respectivamente. Michoacán es el principal estado productor de aguacate, en el 2018 participó con 76.7% de la producción nacional, le siguen Jalisco y el Estado de México, con 9.2 y 4.5%, respectivamente según SIAP [1].

Debido a lo mencionado anteriormente se utilizó el aguacate en este proyecto ya que es un producto hortofrutícola que se produce en grandes cantidades obteniéndose grandes ganancias, sin embargo, la razón más importante es que es un fruto climatérico, altamente perecedero, teniéndose muchas pérdidas debido a deterioros microbiológicos y fisiológicos, como consecuencia de factores de orden tecnológico como inadecuado proceso de recolección, empaques no apropiados e insuficientes vías para la transportación, entre otros, lo que se traduce en un corto período de almacenamiento. Se estiman que las pérdidas postcosecha de los productos hortofrutícolas que se producen en el mundo sobrepasan el 20% [2]. De igual manera la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura ha estimado que las pérdidas de frutas frescas y vegetales en postcosecha representan entre 5 y 25% de la producción en países desarrollados y entre 20 y 50% en países en vías de desarrollo, según el tipo de producto.

Es por esto por lo que se han implementado diversas técnicas para coadyuvar a resolver el problema de pérdidas durante la postcosecha. De éstas, una alternativa que ha ganado aceptación en el mercado de las frutas y hortalizas es la aplicación de biopolímeros o recubrimientos comestibles, de acuerdo a Olivas y Barbosa-Cánovas producen una atmósfera modificada en la fruta, reducen el deterioro, retrasan la maduración de frutas climatéricas, reducen la pérdida de agua, retardan los cambios de color, mejoran la apariencia, disminuyen la pérdida de aromas, reducen el intercambio de humedad entre trozos de frutas, transportan compuestos antioxidantes y estabilizantes de la textura, imparten color y sabor, y pudieran servir como transporte de otras sustancias [3]. Logrando extender la vida de anaquel del fruto y no solamente del aguacate sino de cualquiera al que se le esté aplicando dicho recubrimiento comestible, evitando de este modo el deterioro del producto, ya sea por daños fúngicos o mecánicos ocasionados durante el proceso de manipulación, transporte y distribución del fruto, disminuyendo de este modo las pérdidas generadas del aguacate, así como también las económicas que sufren los productores.

Los recubrimientos comestibles se definen como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión de este en una solución formadora del recubrimiento. Dichas soluciones formadoras de los recubrimientos pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de estos [2].

Surgiendo de este modo el recubrimiento comestible a base de mucílago de nopal aplicado en el aguacate, Estos pueden emplearse como barrera a gases y vapor de agua, para este propósito se aplican sobre la superficie del alimento con la función primordial de restringir la pérdida de humedad de la fruta hacia el ambiente, reducir la absorción de O₂ para disminuir su tasa respiratoria, y aumentar su vida útil. Su composición basada en carbohidratos, proteínas y lípidos permite que sean comestibles y fáciles de aplicar

directamente en la superficie de los productos. Además, se empleó el mucílago de nopal en su composición debido a que es considerado un hidrocoloide, sustancia formadora de matrices, característica necesaria para poder obtener un recubrimiento [4]. Así también, algunas investigaciones muestran que puede actuar como antimicrobiano, por ejemplo, el recubrimiento comestible a base de mucílago de nopal que fue aplicado en fresa, obteniendo resultados favorables, reduciendo el crecimiento microbiológico y alargando la vida de anaquel [5]. Se evaluó el efecto antimicrobiano del recubrimiento elaborado, mediante pruebas microbiológicas en placa tanto para aguacates recubiertos y sin recubrir. Se determinó el total de unidades formadoras de colonias por gramo de aguacate (UFC/g) de microorganismos que se desarrollaron, evaluando de este modo si el recubrimiento de mucílago de nopal reduce en el número de UFC.

Dentro de la innovación en la investigación y desarrollo de recubrimientos comestibles, se encuentran aquellos que son capaces de controlar y liberar agentes antimicrobianos. Esta protección es debida a la neutralización de reacciones o a la interacción de sistemas complejos en los alimentos, los cuales son incorporados para extender la vida de anaquel y prevenir el crecimiento y la diseminación fúngica y bacteriana y de esta manera, lograr minimizar el uso de aditivos [6]. Las películas y recubrimientos comestibles que integran agentes antimicrobianos tienen como objetivo extender la fase de latencia suprimiendo el ritmo de crecimiento de los microorganismos [6].

Los recubrimientos comestibles tienen la viabilidad para incorporar agentes antimicrobianos para proveer estabilidad microbiológica o eliminar la proliferación microbiana, por lo que se empleó el extracto de cacahuete ya que se ha reportado actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* a una concentración de 5-25 µg/mL de la serie de mucocoidinas presentes en *Ipomea murucoides* [7]. Por ello se ha evaluado su actividad microbicida mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC), aplicando el método de dilución en caldo como test de susceptibilidad microbiana y de este modo se obtuvo la cantidad más baja que se requiere de extracto de cacahuete para matar el 99% del inóculo inicial de los microorganismos y la concentración más baja que puede inhibir el crecimiento visible del microorganismo [8].

La presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto antimicrobiano que presenta el recubrimiento comestible a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) aplicado en aguacate (*Persea Americana* Hass), así como también la actividad microbicida del extracto de cacahuete, el cual se implementó en dicho recubrimiento.

Metodología

Elaboración del recubrimiento comestible.

Los materiales vegetales de *O. ficus Indica* y de *Ipomea arborescens* se recolectaron del huerto y linderos de la institución respectivamente. Una vez obtenido el mucílago de nopal se prosiguió a elaborar el recubrimiento comestible, primero se pesaron los ingredientes fécula de maíz y glicerina, se mezclaron con el mucílago. Para obtener la mejor formulación del recubrimiento con las características deseadas, se mezclaron los ingredientes realizaron 9 diferentes formulaciones utilizando intervalos 1 g hasta 3 g de cada ingrediente. Una vez encontrada la mejor formulación se pesaron y se adicionaron a 100 mL de mucílago de nopal mezclándolos con ayuda de una batidora, posteriormente se pasteurizó en una autoclave a 115-120°C por 15 minutos y por último se colocaron 20 mL de la mezcla en una caja petri y se introdujo en un horno de secado a 113°F por 24 h, obteniendo con esto el recubrimiento comestible deseado. Se evaluó el efecto del recubrimiento en el aguacate con el fin de alargar la vida de anaquel para obtener un producto en condiciones aceptables, mediante pruebas por triplicado realizadas cada 4 días sobre las variables pérdida de peso, firmeza y apariencia.

Evaluación de la actividad microbicida del extracto de *I. arborescens*.

Reactivación de cepas congeladas: se tomaron 100 µL de la cepa congelada para inocularla en un tubo con 6 mL de caldo de cultivo, el tubo inoculado se incubó a 37°C por 48 h y se mide la absorbancia (A_{Cultivo}).

Preparación del inóculo del microorganismo de prueba: Diluir en solución salina hasta alcanzar una absorbancia de 0.100, la cual equivale a tener una concentración de 1.5×10^8 UFC. Utilizar la fórmula:

$$\mu\text{L de cultivo} = \frac{0.1}{A_{\text{cultivo}}} * 1000$$

Completar a 1 mL con solución salina.

$$\mu\text{L de solución salina} = 1000 - \mu\text{L de cultivo}$$

Solución madre microbiciada: Pesar 300 mg del extracto seco, diluir en 10 mL de caldo de cultivo, según el microorganismo de prueba, para obtener una concentración de 30 mg/mL.

Viales de soluciones: se prepararon las soluciones de prueba de acuerdo con la tabla 1.

Tabla 1. Cantidades empleadas en la elaboración de las soluciones de prueba.

Solución de prueba	Concentración de la solución	Solución madre	Caldo
1	30 mg / mL	4000 μL	0 μL
2	20 mg / mL	2667 μL	1333 μL
3	10 mg / mL	1334 μL	2666 μL
4	5 mg / mL	667 μL	3333 μL
5	1 mg / mL	134 μL	3866 μL
	Suma	8802 μL	11198 μL

Llenado de la microplaca: Se colocaron las cantidades que se muestran en la tabla 2 en la microplaca de cada solución que se requiere para determinar las MIC y MBC.

Tabla 2. Volúmenes a colocar en cada pocito de la microplaca.

Renglón de la MP	Concentración de la solución	Solución M.O.	Solución prueba	Caldo	Solución madre	Solución salina
1	30 mg / mL	5 μL	295 μL	0 μL		
2	20 mg / mL	5 μL	295 μL	0 μL		
3	10 mg / mL	5 μL	295 μL	0 μL		
4	5 mg / mL	5 μL	295 μL	0 μL		
5	1 mg / mL	5 μL	295 μL	0 μL		
6	Control Positivo	5 μL	0 μL	295 μL		
8	Control negativo 1	0 μL	0 μL	0 μL	300 μL	
8	Control Negativo 2	0 μL	0 μL	300 μL		
8	Control Negativo 3					300 μL
8	Control Negativo 4 (cada solución de prueba)	0 μL	300 μL	0 μL		

Evaluación de la microplaca: utilizar una superficie con iluminación posterior y revisar las posiciones de los viales, si todos se ven turbios es necesario elevar la concentración de la solución madre (30 mg/mL) y repetir la microplaca, Si se observa al menos 1 posición (por triplicado) igual a simple vista al control negativo del vial, proceder a identificar la concentración mínima inhibitoria más el pozo siguiente.

Siembra de los viales: colocar 20 μL de cada pocito en el agar e incubar por 24h a la temperatura adecuada para el microorganismo de prueba. Solo como prueba comprobatoria y para obtener la MBC.

Identificación de la MIC y MBC: de acuerdo con la microplaca el pocito que no se observe con turbidez a simple vista será la MIC y el pozo siguiente sería la MBC corroborándolo con la siembra en agar y en la concentración que no se observe crecimiento será la MBC.

Resultados y discusión

El material de recubrimiento obtenido presenta una apariencia tersa, similar a las películas poliméricas (Figura 1), confiriendo una apariencia más uniforme y brillante al fruto (Figura 2).



Figura 1. Aguacate con el recubrimiento comestible aplicado.

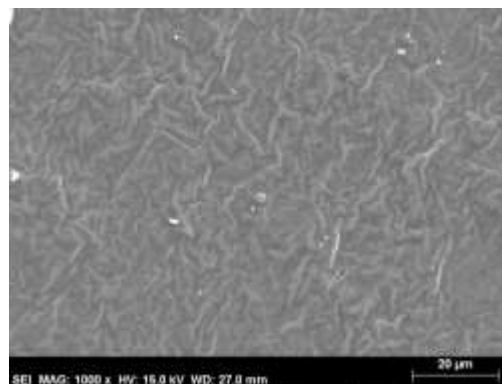


Figura 2. Micrografía de la superficie del recubrimiento.

De acuerdo con las pruebas microbicidas aplicadas al extracto de cacahuate y a la Tabla 3, la solución de prueba con una concentración de 20 mg/mL, representa la MIC, es decir, la cantidad más baja de extracto que puede inhibir el crecimiento visible de *Salmonella* mohos y levaduras, coliformes y mesófilos [8]. Por otro lado, la solución con una concentración de 30 mg/mL, representa la MBC, es decir, la cantidad más baja que se requiere de extracto para eliminar el 99.99% del inóculo inicial de salmonella, mohos y levaduras, coliformes y mesófilos [8]. La inhibición y letalidad que presenta el extracto de cacahuate sobre los microorganismos de prueba es directamente proporcional a la concentración de extracto.

Tabla 3. Efecto microbicida del extracto de *I. arborescens*.

Microorganismo de prueba	MIC mg/mL	MBC mg/mL
Mesófilos aerobios	20	30
Coliformes	20	30
Mohos y levaduras	20	30
<i>Salmonella spp</i>	20	30

Los aguacates a los que se les aplicó el recubrimiento comestible se conservaron durante un periodo de tiempo más largo, contribuyendo a evitar daños físicos y evitando el crecimiento microbiano en las muestras, manteniendo con esto los atributos de los productos mínimamente procesados, su calidad sensorial, y logrando, además, prolongar su vida útil en condiciones de refrigeración [6].

Conclusiones

Se demostró la viabilidad del mucílago de nopal como componente de recubrimientos comestibles presentando un efecto antimicrobiano. El extracto de cacahuate presentó un efecto microbicida frente a mohos y levaduras, mesófilos, coliformes y *Salmonella*.

Es factible aplicar el recubrimiento comestible a base de mucílago de nopal en aguacate, alargando su vida útil y conservando sus características físicas, debido a la disminución o eliminación de microorganismos que se desarrollan en la superficie del aguacate.

El uso de este recubrimiento contribuye a reducir las pérdidas del aguacate a causa del deterioro acelerado.

Referencias

- [1] Cedillo, G. G. (07 de Noviembre de 2019). *Entorno mundial y nacional del aguacate (II)*. Obtenido de Entorno mundial y nacional del aguacate (II): <https://www.economista.com.mx/opinion/Entorno-mundial-y-nacional-del-aguacate-II-20191107-0081.html>

- [2] Valdés, I. D. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Ciencias Técnicas Agropecuarias*.
- [3] Reyes, M. A. (Abril de 2011). "Generalidades y aplicación de películas y recubrimientos comestibles en la cadena hortofrutícola". Obtenido de "generalidades y aplicación de películas y recubrimientos comestibles en la cadena hortofrutícola":
<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/474/61786s.pdf?sequence=1>
- [4] Balois-Morales, R. (2016). Biopolímeros de mucílago, pectina de nopalitos y quitosano, como recubrimientos en almacenamiento y vida de anaquel de frutos de aguacate 'Hass'. *Acta agrícola y pecuaria*, 43-50.
- [5] Ruiz-Hernández F. Tesis Magistral. (2009). Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y mucílago de nopal en fresa (*Fragaria ananassa*) almacenada en refrigeración. Universidad de las Américas Puebla. Cholula, Puebla, México. http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mca/ruiz_h_f/
- [6] Avila-Sosa, R. (2008). Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 2*, 4-13.
- [7] Pizaña, C. G. (Noviembre 2009). *Evaluación de polvos y extractos vegetales sobre el desarrollo de Fusarium Oxysporum e identificación de compuestos volátiles*. Yautepec, Morelos. Obtenido de Evaluación de polvos y extractos vegetales sobre el desarrollo de Fusarium Oxysporum e identificación de compuestos volátiles.
- [8] Castaño, D. M. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica Año XV*, 263-268.