



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EMPLEO DE FORMULACIONES BASADAS EN EL  
POLI(ÁCIDO GÁLICO) EN PRESERVACIÓN DE AGUACATE**

**TESIS**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**  
**MIRYAM SALINAS TINOCO**

**CD. MX. , 2019**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesora María Amanda Gálvez Mariscal

**VOCAL:** Profesora Inés Miranda Martínez

**SECRETARIO:** Profesor Miquel Gimeno Seco

**1er. SUPLENTE:** Profesora Argelia Sánchez Chinchillas

**2° SUPLENTE:** Profesor Edgar Axel Donjuan Guerrero

**LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA INVESTIGACIÓN**

**LABORATORIO 314, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA, CONJUNTO E,  
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.**

**ASESOR DEL TEMA:**

**Dr. Miquel Gimeno Seco**

---

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

**M. en I. Alejandra Romero Montero**

---

**SUSTENTANTE:**

**Miryam Salinas Tinoco**

---

## **Agradecimientos**

Al financiamiento otorgado para la realización de este trabajo mediante el *Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT)* proyecto IN201317

# Índice

Índice de figuras .....	iv
Índice de tablas .....	vii
Lista de símbolos y abreviaturas .....	viii
<b>Resumen</b> .....	1
<b>Introducción</b> .....	2
<b>1. Antecedentes</b> .....	3
1.1. El aguacate .....	3
1.2. Técnicas de conservación del aguacate .....	6
1.3. Recubrimiento de aguacates.....	6
1.4. El PGAL y su potencial uso en recubrimiento de aguacates.....	8
1.5. Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs).....	9
1.6. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	10
1.7. Vida útil .....	11
<b>2. Justificación</b> .....	12
<b>3. Hipótesis</b> .....	12
<b>4. Objetivos</b> .....	12
4.1. Objetivo general .....	12
4.2. Actividades experimentales.....	13
<b>5. Metodología</b> .....	13
5.1. Síntesis del PGAL .....	13
5.2. Síntesis de CMC-PGAL.....	14
5.3. Solución de CMC y PGAL 0.3 %.....	14
5.4. Permeabilidad de vapor de agua en la película CMC-PGAL.....	15
5.5. Ángulos de contacto en exocarpio de aguacate.....	15
5.6. Prueba preliminar de inhibición .....	16
5.7. Selección de frutos y recubrimiento .....	16
5.8. Pérdida de peso .....	17
5.9. Análisis de textura interno .....	17

5.10.	Análisis de textura externo.....	18
5.11.	Análisis de color.....	18
5.12.	Contaminación con <i>Listeria monocytogenes</i> .....	19
5.13.	Análisis sensorial .....	19
5.14.	Determinación del PGAL en aguas de lavado .....	19
5.15.	Análisis estadístico .....	20
<b>6.</b>	<b>Discusión de resultados</b> .....	<b>21</b>
6.1.	Síntesis del PGAL.....	21
6.2.	Síntesis de CMC-PGAL.....	22
6.3.	Permeabilidad de vapor de agua en CMC-PGAL.....	23
6.4.	Ángulos de contacto en exocarpio de aguacate.....	24
6.5.	Prueba preliminar de inhibición .....	26
6.6.	Pérdida de peso .....	26
6.7.	Análisis de textura interno .....	29
6.8.	Análisis de textura externo .....	35
6.9.	Análisis de color .....	39
6.10.	Contaminación con <i>L. monocytogenes</i> .....	42
6.11.	Análisis sensorial .....	45
6.12.	Determinación del PGAL en aguas de lavado .....	51
<b>7.</b>	<b>Conclusiones</b> .....	<b>52</b>
<b>8.</b>	<b>Trabajo futuro</b> .....	<b>53</b>
<b>9.</b>	<b>Referencias</b> .....	<b>53</b>
	Apéndice A.....	59

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Diagrama elaborado con información de Yahia <i>et al.</i> , 2011.....	3
<b>Figura 2.</b> Producción de aguacate en México 1961-2017. Elaborada con información de la FAOSTAT y la Secretaría de Economía.....	5
<b>Figura 3.</b> Esquema de síntesis del PGAL. Fuente López <i>et al.</i> , 2013.....	8
<b>Figura 4.</b> Posible estructura de entrecruzado del PGAL y CMC con AC, propuesta por Romero <i>et al.</i> , 2017.....	9
<b>Figura 5.</b> Celda de acrílico para pruebas de permeabilidad.....	15
<b>Figura 6.</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H para PGAL [D <sub>2</sub> O, 400 MHz].....	21
<b>Figura 7.</b> Espectro FT-IR del PGAL.....	22
<b>Figura 8.</b> Espectro FT-IR del CMC-PGAL y de sus respectivas materias primas CMC, PGAL y AC.....	23
<b>Figura 9.</b> Microscopia SEM del espesor del exocarpio de aguacate recubierto con CMC-PGAL, la parte inferior es el interior del exocarpio y la parte superior es el exterior, la sombra superficial es el espesor de la película, se observa menos nítida debido al corte y la fijación que levanta el recubrimiento.....	24
<b>Figura 10.</b> Ángulos de contacto de diferentes recubrimientos en mesocarpio de aguacate. Muestra Control, sin recubrimiento (A); recubrimiento con PGAL (B); recubrimiento con CMC (C) y recubrimiento con CMC-PGAL (D).....	25
<b>Figura 11.</b> Prueba de inhibición de <i>Listeria monocytogenes</i> . Película de CMC-PGAL; halo de inhibición de 8.5 mm (izquierda) y PGAL 0.3 % en papel filtro; sin halo de inhibición (derecha). .....	26
<b>Figura 12.</b> Diferencia de pérdida de peso (%) del Lote 1 en condiciones óptimas(O), con respecto al tiempo.....	27
<b>Figura 13.</b> Diferencia en pérdida de peso (%) del Lote 2, con respecto al tiempo. (O) condiciones óptimas y (A) condiciones adversas.....	28
<b>Figura 14.</b> Cambio de dureza con respecto al tiempo, Lote 1 en condiciones adversas (A).....	29
<b>Figura 15.</b> Corte transversal de la muestra Control al día 7. Las manchas negras son raíces con crecimiento vertical en el fruto (ápice-pedúnculo).....	29

<b>Figura 16.</b> Cambio de dureza con respecto al tiempo, Lote 1 en condiciones óptimas (O).....	30
<b>Figura 17.</b> Cambio de dureza con respecto al tiempo, Lote 2 en condiciones óptimas (O) y condiciones adversas (A).....	32
<b>Figura 18.</b> Cambio de cohesividad con respecto al tiempo, Lote 1, en condiciones adversas (A).....	33
<b>Figura 19.</b> Cambio de cohesividad con respecto al tiempo, Lote 1, en condiciones óptimas (O).....	34
<b>Figura 20.</b> Cambio de cohesividad con respecto al tiempo, Lote 2, en condiciones adversas (A).....	34
<b>Figura 21.</b> Cambio de cohesividad con respecto al tiempo, Lote 2, en condiciones óptimas (O).....	35
<b>Figura 22.</b> Micrografía SEM exocarpio de aguacate del Lote 2 al día 0. Aumentos: x40 (A), x150 (B), x300 (C) y x600 (D), respectivamente a cada imagen.....	37
<b>Figura 23.</b> Esquema superficial de la cáscara de aguacate. W: capa cerosa, cutícula; Ep: epidermis; Hy: hipodermis; PP: parénquima. Fuente Schroeder, 1950.....	37
<b>Figura 24.</b> Contaminación de aguacates Lote 1, con <i>L. monocytogenes</i> en función del tiempo de almacenamiento.....	43
<b>Figura 25.</b> Contaminación de aguacates Lote 2, con <i>L. monocytogenes</i> en función del tiempo de almacenamiento.....	44
<b>Figura 26.</b> Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 1, al día 0. *Diferencias significativas entre las muestras.....	46
<b>Figura 27.</b> Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 1, al día 14. *Diferencias significativas entre las muestras. ** Diferencias significativas entre CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL. ***CMC-PGAL y Control son significativamente diferentes.....	46
<b>Figura 28.</b> Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 1, al día 21. **Diferencias significativas entre CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.....	47
<b>Figura 29.</b> Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 0. *Diferencias significativas entre Control a las muestras PGAL y CMC. **Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.....	48



**Figura 30.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 7 en condiciones óptimas. \*Diferencias significativas entre CMC y las demás muestras.....49

**Figura 31.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 7 en condiciones adversas. \*Diferencias significativas entre CMC y CMC-PGAL. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.....49

**Figura 32.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 14 en condiciones óptimas. \*Diferencias significativas entre CMC y PGAL. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.....50

**Figura 33.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 21 en condiciones óptimas. \*Diferencias significativas de Control y CMC a las muestras PGAL y CMC-PGAL. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.....50

**Figura 34.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 28 en condiciones óptimas. \*Sin diferencias significativas entre PGAL y CMC-PGAL. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.....51

**Figura 35.** Cantidad de PGAL por aguacate (Lote 2) en aguas de lavado durante los diferentes tiempos y tratamientos.....52

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Composición comestible de un aguacate.....	4
<b>Tabla 2.</b> Permeabilidad de la película de CMC-PGAL y permeanza en el aguacate recubierto de CMC-PGAL por el método ASTM y el corregido.....	24
<b>Tabla 3.</b> Ángulos de contacto de diferentes recubrimientos en mesocarpio de aguacate.....	25
<b>Tabla 4.</b> Micrografía SEM de exocarpio de aguacate a los días 3 y 10 del Lote 1. Aumento de x600, (A) condiciones adversas, (O) condiciones óptimas.....	36
<b>Tabla 5.</b> Micrografía SEM de exocarpio de aguacate a los días 7, 10 y 14 del Lote 2. Aumento de x600. (A) condiciones adversas, (O) condiciones óptimas.....	38
<b>Tabla 6.</b> Cambio de color en el mesocarpio del Lote 1, en función del tiempo con base en los valores C (azul) y Y (amarillo). (A) condiciones adversas, (O) condiciones óptimas.....	40
<b>Tabla 7.</b> Cambio de color en el mesocarpio del Lote 2, en función del tiempo con base en los valores a*, b* y L*. (A) condiciones adversas, (O) condiciones óptimas.....	41
<b>Tabla 8.</b> Contaminación de aguacates Lote 1, con <i>L. monocytogenes</i> en función del tiempo de almacenamiento. “VE”: Valor estimado.....	42
<b>Tabla 9.</b> Características de colonias aisladas del medio Oxford modificado.....	43
<b>Tabla 10.</b> Contaminación de aguacates Lote 2, con <i>L. monocytogenes</i> en función del tiempo de almacenamiento. “VE”: Valor estimado.....	45

## Lista de símbolos y abreviaturas

$^1\text{H}$ RMN	Resonancia magnética nuclear de protón
AC	Ácido cítrico
AG	Ácido gálico
a*	Parámetro de color rojo o verde
b*	Parámetro de color amarillo o azul
BaSO <sub>4</sub>	Sulfato de bario
CFQ 103	Cepa de la Facultad de Química
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	Centímetro
CMC	Carboximetilcelulosa
CMC-PGAL	Poli(ácido gálico) entrecruzado con carboximetilcelulosa
CMYK	Cyan, Magenta, Amarillo y Negro (por sus siglas en inglés) es una escala cuatricromática
D65	Iluminante, luz de día
D <sub>2</sub> H	Agua deuterada
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ETAs	Enfermedades transmitidas por alimentos
FT-IR (ATR)	Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (Reflectancia atenuada)
g	Gramo
h	Hora
HR	Humedad relativa
J	Joule
L	Litro
L*	Parámetro de color, Luminosidad
LiCl	Cloruro de litio
LTV	Lacasa de <i>Trametes versicolor</i>
M	Concentración molar
mg	Miligramo
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
M <sub>n</sub>	Peso molecular promedio en número
mm/s	Milímetros por segundo
MHz	MegaHerz
N	Newton
nm	Nanómetro
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
p/v	Peso por volumen
PGAL	Poli(ácido gálico)
PVC	Poli cloruro de vinilo
RMN	Resonancia magnética nuclear

rpm	Revoluciones por minuto
SEM	Microscopio electrónico de barrido (por sus siglas en inglés, Scanning Electron Microscope)
SINAVE	Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica
µL	Microlitro
µm	Micrómetros
U	Unidades de actividad enzimática
UFC	Unidades formadoras de colonias
UV	Ultravioleta

## Resumen

Los aguacates variedad Hass son frutos de importancia en la economía de México debido a su exportación mundial. Como consecuencia de su alta tasa metabólica estos presentan una vida útil relativamente baja, es por ello que se han evaluado distintos métodos para aumentar la vida útil del fruto. Entre los métodos que se evalúan están los recubrimientos en frutos, a partir de biopolímeros compatibles con alimentos.

En el presente trabajo se usó el poli(ácido gálico) (PGAL) y su entrecruzado con compuestos celulósicos como recubrimiento en aguacates variedad Hass. Se sintetizó el PGAL con lacasa de *Trametes versicolor* (LTV), además éste se entrecruzó con carboximetilcelulosa (CMC), se caracterizaron por  $^1\text{H}$  RMN, FT-IR, se midió la permeabilidad del entrecruzado y la polaridad de los recubrimientos en exocarpio.

Se tuvieron dos lotes experimentales, el primero originario de un centro comercial y el segundo desde un huerto en la localidad de Ario de Rosales, Michoacán, los cuales se recubrieron con las formulaciones de PGAL mediante inmersión, y se midieron semanalmente características de pérdida de peso del fruto, textura en mesocarpio y exocarpio, el color del mesocarpio, las características sensoriales de los frutos y la actividad antimicrobiana empleando una cepa de *Listeria monocytogenes*.

Los dos lotes presentaron características variables; la pérdida de peso fue menor en frutos recubiertos del lote sin pretratamiento comercial. La textura fue más consistente (dureza y cohesividad medidos con un Analizador de Textura) en los frutos recubiertos con la formulaciones de PGAL. El PGAL mantuvo la estructura del exocarpio de aguacate, presentando menos erosión. La coloración del mesocarpio de los frutos no presentó diferencias y las características sensoriales de los frutos describieron con menor tonalidad verde las formulaciones de PGAL, y un mayor brillo el recubrimiento de PGAL con CMC. La acidez de la película de CMC-PGAL inhibió a *L. monocytogenes*.

## Introducción

Uno de los frutos de importancia económica en México por su exportación a nivel mundial es el aguacate variedad Hass, el cual por ser un fruto climatérico y tener la tasa de respiración más alta (Belitz, 2009), su vida en anaquel, lo que incluye su exportación y traslado, es más corta en comparación con otros frutos climatéricos.

Las películas y recubrimientos en alimentos juegan un papel importante en su conservación, distribución y comercialización. Están orientados a alargar la vida de anaquel del producto. Con el objetivo de emplear un proceso inocuo se utilizan macromoléculas capaces de formar película o capa sobre el fruto, compuestas de proteínas, lípidos y polisacáridos, incluso con adición de agentes antimicrobianos y antioxidantes.

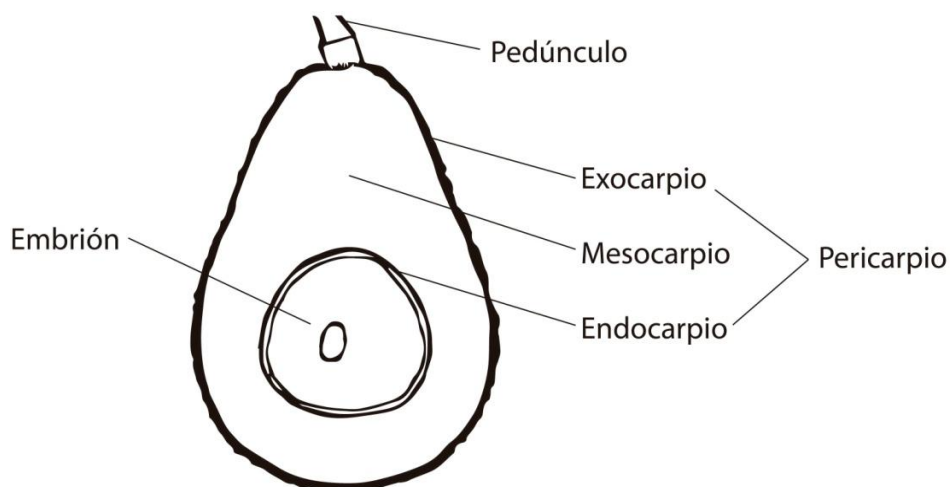
El poli(ácido gálico) (PGAL) es un polímero sintetizado enzimáticamente a partir de la polioxidación del ácido gálico en medio acuoso a pH controlado, que presenta actividad antimicrobiana y antioxidante además de otras cualidades. Cuando es entrecruzado con carboximetilcelulosa (CMC) utilizando ácido cítrico (AC), sigue mostrando capacidad antioxidante asimismo tiene mejores características reológicas para ser utilizado como recubrimiento en el aguacate.

Teniendo como objetivo este trabajo recubrir con PGAL y su entrecruzado, aguacates variedad Hass de origen mexicano, se estudiaron las características más notables del fruto y la contaminación con *Listeria monocytogenes*, de esta forma se podrá definir si el recubrimiento preserva al fruto.

## 1. Antecedentes

### 1.1. El aguacate

El aguacate es un fruto de forma ovoide, globular o elíptica, es de color verdoso (según la variedad), el nombre proviene del náhuatl (ahuacatl), palabra que significa “testículos del árbol”, posee una cáscara o exocarpio grueso y su pulpa o mesocarpio es cremosa, ambos dependiendo de la variedad (Figura 1). Su nombre científico es *Persea americana* y proviene de la familia lauraceae. Originalmente se tenían tres variedades botánicas la mexicana, la guatemalteca y la antillana; en la actualidad el género *Persea* contiene alrededor de 85 especies, la mayoría se encuentran desde el sur de los Estados Unidos de América (*Persea borbonia*) hasta Chile (*Persea lingue*). Además, se produce una *Persea* en las Islas Canarias (España) y probablemente otras en el sur de Asia (SAGARPA, 2011). Se tiene registro sistemáticos de más de 500 variedades, sin embargo estas no se producen comercialmente debido a problemas de productividad, calidad y problemas de manipulación (Yahia *et al.*, 2011). En 1935 fue patentada la variedad Hass, híbrido de la variedad mexicana y guatemalteca, por Rudolph Hass en virtud de la calidad de sus frutos, alto rendimiento de producción y maduración tardía, comparado con otras especies de la época, se adapta a condiciones subtropicales, temperaturas de 5 a 19 °C y alturas entre los 1800 y 2000 msnm.



**Figura 1.** Partes que constituyen al aguacate. Diagrama elaborado con información de Yahia *et al.*, 2011.

El aguacate posee propiedades nutritivas y su consumo tiene beneficios a la salud, del 25 al 30% de grasa en peso húmedo, de las cuales 60-80 % son monoinsaturadas. En la dieta ha demostrado efectos favorables sobre las mediciones de lipoproteínas, resistencia a la insulina y síndrome metabólico; además contiene cantidades significativas de tocoferoles (vitamina E), pigmentos vegetales, esteroides, fibra y ácido fólico (Yahia, 2011) (ver Tabla 1).

**Tabla 1.** Composición comestible de un aguacate.

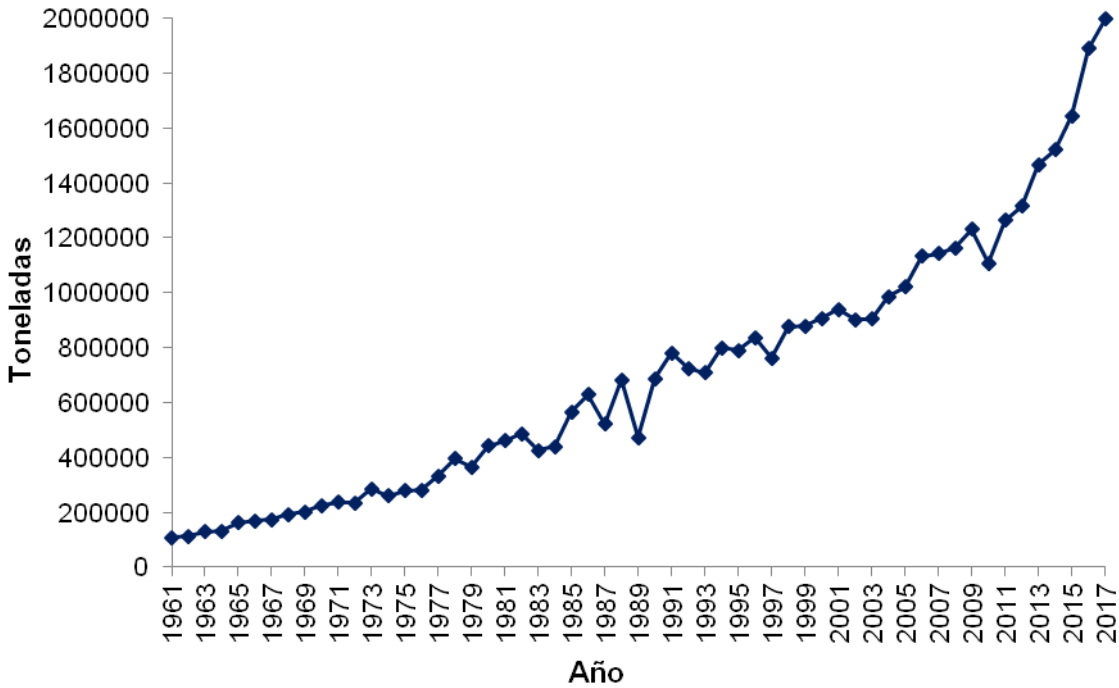
Componente en 100 g	Cantidad
Agua (g)	74.4
Lípidos (g)	20.6
Proteína (g)	1.8
Fibra (g)	1.4
Hidratos de carbono (g)	1.2
Azúcares (g)	
Glucosa	0.30
Fructosa	0.10
Sacarosa	0.10
Ácidos orgánicos (g)	
Ácido málico	0.32
Ácido cítrico	0.05
Ácido oxálico	0.03
Vitaminas (mg)	
Ácido ascórbico	11.0
Tiamina	0.07
Riboflavina	0.12
Nicotinamida	1.9
Vitamina B6	0.62
Ácido fólico	0.04
Biotina	0.006
Carotenoides (mg)	
$\alpha$ -carotenos	0.29
$\beta$ -carotenos	0.03
Criptoxantina	0.16
Minerales (mg)	
Potasio	480
Fósforo	27.0
Calcio	14.0
Magnesio	23.0
Sodio	2.0
Hierro	0.7
Zinc	0.5

Fuente Yahia, 2011.



La coloración verde del aguacate se debe a las clorofilas cuya concentración es mayor en exocarpio y va disminuyendo hasta el endocarpio, las clorofilas se descomponen en la senescencia (Ashton *et al.*, 2006) por acción enzimática, el color verde tiende a desaparecer, exhibiendo colores característicos de carotenos o antocianidinas (DeMan, 1999).

El cultivo y exportación de aguacates frescos es una actividad agrícola mexicana de relevancia mundial desde 1961 (FAO, 2017) (Figura 2), sólo el 3.4 % de aguacates se exportan como producto procesado. La producción de aguacate mexicano representa más del 30% de la cosecha mundial siendo la variedad Hass la que más se consume en el mundo. En 2017, se reportó una exportación de un millón 997 mil 629 toneladas de aguacate, donde Michoacán concentra el 84.9 % del volumen de producción de México, las demás son producidas en los estados de Jalisco, Estado de México, Nayarit, Morelos y Guerrero. Los principales países importadores de aguacate son USA (76.8%), Japón (7%), Canadá (6.7%), España (1.7%), Francia (1.7%) y Países bajos (1.6%) (Secretaría de Economía, 2018).



**Figura 2.** Producción de aguacate en México 1961-2017. Elaborada con información de la FAOSTAT y la Secretaría de Economía.

## **1.2. Técnicas de conservación del aguacate**

El manejo del aguacate es complicado debido a que es un fruto muy perecedero, con muy alta tasa metabólica, resultante en una vida postcosecha corta de dos a cuatro semanas, cuando se almacena en condiciones óptimas (Yahia y González-Aguilar, 1998). Debido a esto, se han buscado alternativas de alargar su vida de anaquel. Actualmente se comercializan generalmente aguacates encerados para mejorar la apariencia, reducir la pérdida de humedad y aplicar fungicidas (Kremer y Duvenhage, 1997). Además, se han diseñado nuevos procesos de almacenamiento para alargar la vida de anaquel, algunos implican la modificación de la velocidad de enfriamiento o modificar la humedad.

Existen otros métodos enfocados a la inhibición o inactivación de enzimas, como la inmersión de los frutos en aguas aciduladas, empleo de antioxidantes como ácido ascórbico, dióxido de azufre, butil-hidroxi-anisol (BHA) y butil-hidroxi-tolueno (BHT), que actúan como reductores de las o-quinonas y o-difenoles, estos últimos actúan como sustratos para la formación de melaninas. Los inhibidores de fenolasas como sulfitos, bisulfitos o metabisulfitos, los cuales forman sulfito-quinonas y evitan la polimerización de las o-quinonas. También se ha reportado el uso de EDTA que es un agente quelatante, secuestra el cobre e impide la actividad de las fenolasas, las altas presiones hidrostáticas y el escaldado son métodos también utilizados para la preservación de frutos cortados (Cornejo, 2010).

## **1.3. Recubrimiento de aguacates**

Los términos película y recubrimiento se utilizan de manera indistinta, pero la diferencia está en la forma en la que se elaboran y aplican sobre el alimento. Los recubrimientos son capas delgadas que se aplican directamente mediante aspersión o inmersión; mientras que las películas son capas delgadas preformadas como láminas sólidas que son colocadas como envolturas. Los recubrimientos en alimentos se utilizan en productos perecederos, frescos y mínimamente procesados, para influir en la calidad del producto, como cambios de

color, firmeza, propiedades antioxidantes, control microbiano, una barrera contra gases, manteniendo por mayor tiempo la integridad de sus propiedades (Jung, 2014). Algunos recubrimientos probados en frutos han sido con base en polisacáridos, proteínas y lípidos, además se pueden adicionar antimicrobianos y antioxidantes, además; para mejorar la capacidad del recubrimiento se adicionan plastificantes (Hassan *et al.*, 2012)

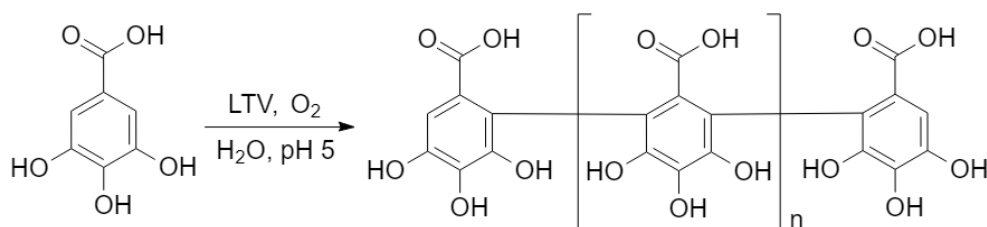
Johnston y Banks (1998) utilizaron seis tipos de recubrimientos de superficie en aguacate Hass, uno de ellos era la CMC que aumentaba el brillo en la superficie, pero proporcionaba un aumento sustancial al riesgo de fermentación en el fruto. Maftoonazad y Ramaswamy (2005) recubrió aguacates con una formulación de metilcelulosa, retrasando la aparición de manchas marrones y la decoloración del mesocarpio, características asociadas a la maduración.

La capacidad antioxidante de la membrana y mesocarpio es debida a polifenoles presentes, sin embargo, gran cantidad de ellos están unidos a la membrana celular, esto reduce la capacidad antioxidante, ya que la capacidad del hidroxilo libre en el anillo fenólico es importante para neutralizar los radicales libres. Tesfay *et al.* (2011) aplicaron silicato de potasio a aguacates Hass, para liberar catequina y epicatequina de las células vegetativas, evaluando características del fruto, demostrando que los polifenoles libres mantenían la firmeza en el fruto mayor tiempo, disminuía la actividad de la polifenol oxidasa a mayor concentración de silicato.

En 2017 Tesfay y Magwaza realizaron un estudio en donde se recubrieron aguacates variedad Hass y Fuerte, con una serie de variaciones de CMC y extracto de moringa, este último es un árbol tropical de Asia y África, cuyo extracto posee actividad antimicrobiana y antioxidante. Dando como resultado una disminución de la tasa de respiración, teniendo los valores más altos en firmeza comparado con otras formulaciones y mejorando la calidad del fruto así como la vida de anaquel.

#### 1.4. El PGAL y su potencial uso en recubrimiento de aguacates

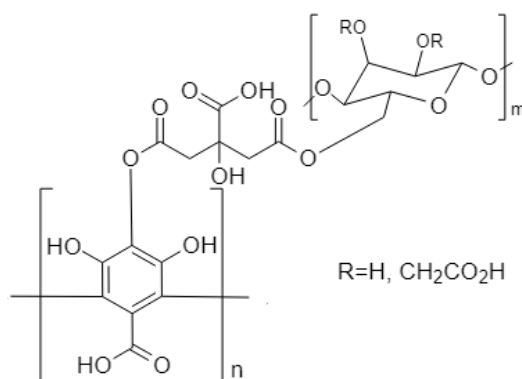
El AG (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) está presente de forma natural como glucósido y unido a taninos en plantas, hojas y frutos. Este polifenol posee actividad antioxidante (Belitz, 2006) y es utilizado en el ámbito alimentario, farmacéutico y biológico, sin embargo, su solubilidad es muy baja (1.1 %) y es sensible a fotooxidación y químicamente inestable. Utilizando LTV (lacasa de *Trametes versicolor*), enzima de la familia de las oxidorreductasas, en condiciones acuosas a pH controlado, se genera la polimerización oxidativa del AG dando como resultado el PGAL, en donde sus unidades de repetición están enlazadas exclusivamente por enlaces fenilo-fenilo (C-C) (Figura 3). El PGAL sigue siendo antioxidante teniendo como diferencia respecto al AG, ser más soluble, hasta 500 mg/mL, manteniendo la capacidad antimicrobiana y además a diferencia de su precursor, es termo y fotoestable, por ende es más procesable. Estudios recientes han demostrado que protege a las células de los rayos UV (Sánchez *et al.*, 2017). Por otro lado, estudios de citotoxicidad en líneas celulares han demostrado que es un material inocuo (López *et al.*, 2013; Díaz *et al.*, 2017).



**Figura 3.** Esquema de síntesis del PGAL. Fuente López *et al.*, 2013.

El PGAL fue insertado covalentemente a la CMC usando AC obteniéndose un nuevo polímero, el CMC-PGAL (Ver Figura 4), el cual es antioxidante, antimicrobiano y no citotóxico (Romero-Montero *et al.*, 2017). Se encontró que la permeabilidad de la película es menor a matrices de polisacáridos como metilcelulosa, (hidroxipropil)metilcelulosa y amilosa. Pero su capacidad antioxidante se ve reducida por la adición del plastificante, glicerol, como reportó Romero-Montero *et al.* en 2017. De este trabajo previo se retoma en este estudio

la película formada con 15% de PGAL en masa con base a la CMC y 2% de glicerol en volumen, debido a que se reporta la mejor capacidad antioxidante.



**Figura 4.** Posible estructura de entrecruzado del PGAL y CMC con ácido cítrico, propuesta por Romero, A., Tecante, A., García, R., Montiel, C., Del Valle, L., Puiggali, J., & Gimeno, M. (2017).

### 1.5. Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs)

La OMS define las ETAs como el conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos, físicos o químicos en cantidades tales que afecten la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas. Cada año se registran más de 582 millones de personas que enferman por ETAs y 350 mil fallecimientos, además, más de 200 enfermedades conocidas se transmiten a través de alimentos, a causa de microorganismos, toxinas derivadas de microorganismos y priones (FAO, 2013; OPS/OMS, 2015).

Las ETAs por microorganismos pueden ser intoxicación, infección o la combinación de las dos anteriores, además de ser el resultado de la interacción entre el agente etiológico y un hospedero susceptible; dependen del número de microorganismos ingeridos y su disponibilidad. La OMS considera que entre el 70 y 80 % de las enfermedades diarreicas agudas, las producen alimentos y agua contaminada, las ETAs se encuentran entre las primeras cinco causas de mortalidad en América Latina y el Caribe. En México hay falta de registros

etiológicos totales, el Sistema Nacional de Vigilancia epidemiológica del país reportó, en 2011, 5 millones 681 mil casos de ETA (SINAVE, 2014).

### **1.6. *Listeria monocytogenes***

*Listeria monocytogenes* es una bacteria Gram-positiva, anaerobia facultativa, incapaz de formar esporas. Existen 13 serovariedades, y la gran mayoría de infecciones en humanos se asocian con las serovariedades 4B, 1/2a y 1/2b. Cuenta con uno a cinco flagelos peritricos que le confieren movilidad a 28°C, la mayoría de las cepas reducen la motilidad a temperaturas más elevadas. La temperatura óptima de crecimiento se extiende de 30 a 37 °C; sin embargo su crecimiento se ha informado de 2 °C a 42 °C. Esta bacteria puede sobrevivir en amplios intervalos de pH (4.5-10) y salinidad (hasta 10%) y se ha encontrado en animales, superficies y plantas procesadoras de alimentos (Freitag, 2006).

Esta bacteria es causante de listeriosis: a las 48 h de exposición es causante de gastroenteritis, el desarrollo invasivo se genera después de 10 a 70 días, generando endocarditis, meningitis, septicemia e incluso encefalitis. En mujeres embarazadas puede ser letal para el neonato, aproximadamente 50 % de embarazadas infectadas presentan un aborto, el 24 % de los neonatos mueren después del parto (Hohmann et al., 2008).

*Listeria monocytogenes* es un patógeno de transmisión alimentaria intracelular que puede sobrevivir y crecer en una amplia variedad de medios tales como los animales, el medio ambiente natural, alimentos y entornos de procesamiento de alimentos. La enfermedad que causa, la listeriosis, tiene una alta tasa de letalidad (20-30%), especialmente entre los individuos inmunocomprometidos, ancianos y mujeres embarazadas (Kathariou, 2002). Una variedad de alimentos ha sido asociada con brotes de listeriosis: lácteos, productos marinos y carne lista para comer. En Estados Unidos es el cuarto microorganismo causante de ETA y en los últimos años se ha presentado un brote significativo por productos frescos. En 2014, frutos que no promueven el

crecimiento de *L. monocytogenes*, se encontraban contaminados lo que causó 35 muertes en Estados Unidos (Chen *et al.*, 2016).

El aguacate es un producto en el que ha surgido la preocupación por *esta bacteria* aunque no se ha reportado en aguacates frescos contaminados, se ha encontrado en pulpa de aguacate y en productos de guacamole (FSN, 2011). Aunque no se ha informado de brotes significativos de *Listeria* en aguacates frescos de 2005 a 2015, la FDA recién asignó el muestreo de *Listeria monocitogenes*, debido se ha encontrado la bacteria en la cáscara del fruto (FDA, 2018). Chen *et al.* (2016) demostraron que *L. monocytogenes* se internaliza en el mesocarpio del fruto por procesos de hidrogenfiamiento, donde la bacteria está cercana al pedúnculo del fruto, debido a que no penetra el exocarpio del aguacate.

### **1.7. Vida útil**

El Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de los E.U.A. (IFST) define la vida útil como “el período de tiempo durante el cual el producto alimenticio es seguro; conserva las características sensoriales, químicas, físicas y microbiológicas deseadas; y cumple con cualquier declaración de etiqueta de datos nutricionales”. Entre los factores que pueden afectar la duración de la vida útil de un alimento se encuentran el tipo de materia prima, la formulación del producto, el proceso aplicado, las condiciones sanitarias del proceso, envasado, almacenamiento y distribución y las prácticas de los consumidores. La vida útil se puede medir por estudios de durabilidad del producto en tiempo real, estudios acelerados donde el producto se somete a condiciones adversas y modelados predictivos (Brown *et al.*, 2003).

El aguacate siendo un alimento con poco procesamiento y perecedero, cuya vida útil puede ser de 2 a 4 semanas en condiciones óptimas o hasta 3 a 7 días después de su cosecha en condiciones adversas. Se le pueden determinar una serie de características dependiendo el interés del producto, realizándose pruebas sensoriales, microbiológicas y químicas. Las condiciones óptimas de almacenamiento para la variedad Hass es a 5-7 °C en temporada temprana y de 4

a 5.5 °C en temporada tardía con una humedad relativa de 85 al 95 %, a cualquier temperatura superior a ésta, se considera que el fruto tendrá una velocidad de maduración mayor. Las principales características de madurez a nivel industrial es la materia seca, que está altamente correlacionado con el contenido de aceite (Lee *et al.*, 1983), la pérdida de brillo asociada a la pérdida de humedad, el color y el recubrimiento marrón de la semilla (Yahia y Woolf, 2011; Cutting, Bower y Woistenholme, 1988).

## **2. Justificación**

Debido a la relevancia económica que conlleva la exportación de aguacates en México, es necesaria la búsqueda de nuevas alternativas antimicrobianas y antioxidantes para alargar la vida de anaquel del aguacate Hass. El PGAL es el polímero idóneo debido a su capacidad antioxidante, antimicrobiana, ser no citotóxico y su estabilidad.

## **3. Hipótesis**

El recubrimiento basado en PGAL empleado como recubrimiento de aguacates alargará la vida útil de este fruto en comparación con el control sin tratamiento.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo general**

Determinar la calidad del aguacate variedad Hass recubierto con PGAL y CMC-PGAL comparándolo con un control durante cuatro semanas y a dos temperaturas (5 °C y ambiente).



## 4.2. Actividades experimentales

- Producir el PGAL, así como el CMC-PGAL.
- Recubrir con PGAL y CMC-PGAL dos lotes diferentes de aguacates Hass (*Persea americana Mill*), además de mantener un control sin recubrimiento.
- Inocular con *Listeria monocytogenes* un grupo de frutos de cada lote, para evaluar la capacidad antimicrobiana del recubrimiento.
- Medir las propiedades de textura, el color del mesocarpio, las características sensoriales de los frutos, así como la pérdida de peso del fruto en lapsos de 7 días.

## 5. Metodología

### 5.1. Síntesis del PGAL

La síntesis de PGAL se llevó a cabo según lo descrito por López *et al.* (2013), disolviendo 8.5 g de AG en 250 mL de buffer de acetatos (pH=5, 0.25 M) y agregando 20 mL de NaOH (2 M). Esta mezcla se colocó en un matraz ámbar de 500 mL y se controlaron la temperatura (25 °C) y agitación ( $\approx 500$  rpm) (RCT basic safety control IKAMAG®, EUA), mientras se burbujea aire mediante una bomba Elite 800 (Hagen Inc, Canadá). Posteriormente se agregó cantidad suficiente de LTV (Sigma-Aldrich) para alcanzar 26 U (unidades de actividad enzimática) y se dejó transcurrir la reacción por 48 h. El producto de reacción fue precipitado gota a gota en 2 L de etanol grado técnico (5 °C). Se dejó sedimentar por un día en frío y el polímero se separó de la mezcla por filtración al vacío (filtros de membrana Durapore® 0.45  $\mu\text{m}$ ). Finalmente, el producto se secó con una bomba de aceite de alto vacío (Vaccubrand  $4 \times 10^{-4}$  mbar) por 2 h para dar PGAL como un polvo de color negro brillante del cual se calculó el rendimiento en peso. La síntesis se realizó por triplicado. PGAL fue caracterizado por FT-IR (ATR) en un equipo Perkin-Elmer Spectrum 400 y RMN en un espectrómetro Varian MR-400, en solución de H<sub>2</sub>O deuterada. La masa molar promedio fue medida por cromatografía de exclusión de tamaños en un cromatógrafo de líquidos de alta

resolución (CLAR) (Agilent 1210 series chromatographer EUA), equipado con una columna Ultrahydrogel 500 (7.8 x 300 mm, Waters, EUA) con un termostato (30 °C) y un detector de índice de refracción. La fase móvil consistió en una solución acuosa (Ultrapure -UV-Millipore water) de de LiCl (0.1 M) a un flujo de 0.8 mL/min. Se utilizaron estándares de polietilenglicol (López *et al.*, 2013).

## **5.2. Síntesis de CMC-PGAL**

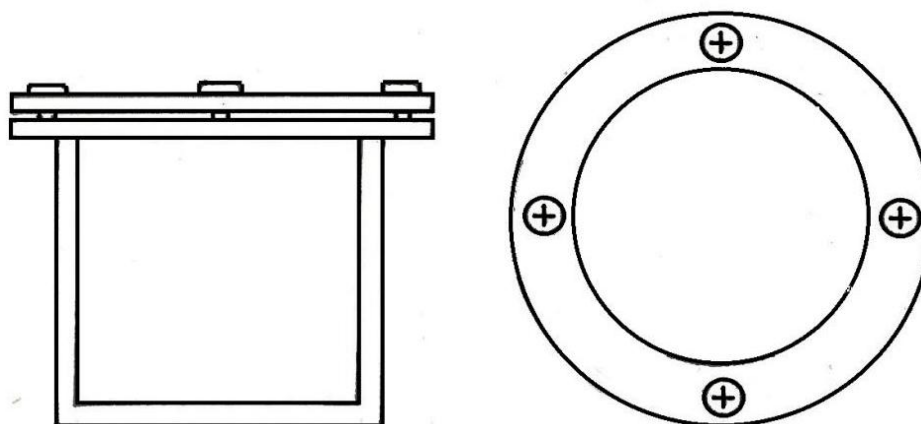
El material obtenido (PGAL) se usó para preparar el entrecruzado CMC-PGAL usando ácido cítrico como agente entrecruzante siguiendo la metodología descrita por Romero *et al.* (2017). Consistió en disolver 1 g de CMC ( $M_w$  250,000 grado de sustitución 1.2; Sigm-Aldrich, EUA) en 50 mL de agua destilada caliente (80 °C) con ayuda de agitación magnética (500 rpm) en un matraz de 100 mL. Una vez disuelta completamente se agregó 0.15 g de PGAL, hasta tener una mezcla homogénea. A la mezcla de reacción se agregaron  $6.5 \times 10^{-3}$  mol (1.25 g) de ácido cítrico (Meyer, México) y 30 mg de fosfato monobásico de sodio (Sigma-Aldrich, EUA) y se dejó reaccionar por 2 h. Transcurrido el tiempo se agregó glicerol (Sigma-Aldrich, EUA) en proporción de 2% (base húmeda) y se mantuvo en agitación y calentamiento por 15 min adicionales para asegurar su incorporación a la mezcla. El producto de reacción se almacenó en envases de polietileno durante 3 días a temperatura ambiente hasta su uso. El producto se comprobó por FT-IR (ATR).

## **5.3. Solución de CMC y PGAL 0.3 %**

La solución de CMC se preparó de la misma manera que la síntesis de CMC-PGAL, sin la adición del PGAL. La solución de PGAL se consideró al 0.3 % p/v para mantener una concentración similar a la película de CMC-PGAL, pesando 0.3 g en una balanza analítica (OHAUS, Modelo GA200, Alemania), con una precisión de 0.0001 g hasta alcanzar el equilibrio, posteriormente se solubilizó en 20 mL de agua destilada, se agregó a un matraz aforado de 100 mL y se adiciona agua hasta el aforo.

#### 5.4. Permeabilidad de vapor de agua en la película CMC-PGAL

La película de CMC-PGAL se vertió dentro de una caja Petri (140 x 15 mm) y se dejó secar a temperatura ambiente. Lo mismo se realizó para obtener una película de CMC, sin la adición de PGAL. Obtenidas las películas, se recortaron y se colocaron en las celdas de acrílico (Figura 5) en el interior se colocó cloruro de calcio anhidro y se colocaron en una cámara a 50% HR. La celda fue pesada durante 10 días en una balanza analítica con precisión de 0.0001 g, realizándose por duplicado el muestreo. Se analizaron los datos como se describe en la norma ASTM E96-00, agregando una corrección para materiales hidrofílicos (Gennadios *et al.*, 1994).



**Figura 5.** Celda de acrílico para pruebas de permeabilidad.

#### 5.5. Ángulos de contacto en exocarpio de aguacate

Una fruta se dividió en 4 secciones en forma vertical, se recubrió diferente sección con PGAL, CMC, CMC-PGAL, y se mantuvo una sin recubrimiento; estas secciones se recortaron a una dimensión de 2 x 2 cm y se separó el mesocarpio. Para medir el ángulo de contacto se colocó cada sección de exocarpio en un portaobjetos adhiriéndose con cinta adhesiva y colocándose en un goniómetro Ramehart, Inc. Modelo 100-07-00. Sobre la sección de exocarpio se colocó 4  $\mu$ L de agua destilada a temperatura ambiente, la imagen fue capturada por medio del software pinnacle Studio<sup>®</sup> con cámara de vídeo de 1080 p., los ángulos fueron

medidos en el software ImageJ, se realizaron 3 mediciones y se promediaron los ángulos de la izquierda y derecha.

## **5.6. Prueba preliminar de inhibición**

Como prueba preliminar, se midió el halo de inhibición de una película de CMC-PGAL y del PGAL al 0.3% p/v en una placa con *L. monocytogenes* preparada como lo indica la CLSI (2012). Se preparó una solución estándar de *L. monocytogenes* a partir de colonias de la bacteria de un medio sólido Mueller-Hinton pH 7.1 con 16 h de incubación, en solución salina isotónica estéril (SSIE) hasta igualar la turbidez al estándar de BaSO<sub>4</sub>, equivalente a 0.5 McFarland, medido en un espectrofotómetro (Genesys 10S Uv-vis Thermoscientific) a 625 nm. Con la solución estándar de *L. monocytogenes* se inocularon placas con medio de sólido Mueller-Hinton, pH 7.1 y se colocó un fragmento de película de CMC-PGAL previamente esterilizada con luz UV (254 nm, 15 min) y de un papel filtro previamente esterilizado en autoclave, impregnando con PGAL al 0.3% p/v; se incubaron a 37°C 18 h. El diámetro de inhibición se midió con un calibre de 1 mm, lo que se registra como halo de inhibición es el diámetro de inhibición restando el diámetro de la muestra.

## **5.7. Selección de frutos y recubrimiento**

Se seleccionaron dos lotes de aguacate Hass. El primer lote con 66 aguacates, fue adquirido en un centro de distribución en la Ciudad de México, el 11 de septiembre de 2017 y fueron transportados a temperatura ambiente sin exposición solar durante 1 h de trayecto. En el laboratorio se limpiaron con una microfibra, se clasificaron conforme a la NMX-FF-016-SCFI-2016 teniendo un peso de (157.43 ± 12.98) g dando como resultado Clase I y calibre D: mediano. Posteriormente se emplearon 3 grupos de unidades experimentales cada uno con 22 frutos, un grupo de frutos no recubiertos (Control), un grupo recubierto con PGAL y otro con CMC-PGAL mediante inmersión.

El segundo Lote 2 con 88 aguacates, fue adquirido directamente del municipio de Ario de Rosales, Michoacán, el 15 de enero de 2018, transportados a temperatura ambiente sin exposición solar durante 6 h de trayecto, en el laboratorio se limpiaron, y se clasificaron con un peso de  $(154.11 \pm 18.50)$  g como Clase Extra y calibre D: mediano. Utilizándose 4 grupos de unidades experimentales cada uno con 22 frutos, un grupo de frutos no recubiertos (Control), un grupo recubierto con PGAL, un grupo recubierto con CMC y otro con CMC-PGAL.

Ambos lotes fueron evaluados a dos distintas condiciones de almacenamiento, condiciones adversas, a temperatura ambiente y con exposición a la luz solar indirecta; y otra en condiciones óptimas, a temperatura de 5 °C en oscuridad. El recubrimiento de aguacates consistió en la inmersión de las muestras en las soluciones previamente preparadas y posterior secado con aire a temperatura ambiente.

#### **5.8. Pérdida de peso**

Semanalmente todos los frutos fueron pesados a los días 0, 7, 14, 21 y 28, en una balanza analítica con una precisión 0.001 g, la diferencia de peso se relaciona con el peso de cada aguacate, para hacer una relación de pérdida de peso en porcentaje.

#### **5.9. Análisis de textura interno**

La dureza, cohesión y adhesividad del mesocarpio del aguacate se midieron al día 0, 7, 14, 21 y 28 con el Analizador de Textura TA-XT2 y el programa Texture Exponent 32, utilizando un cilindro de prueba de 50 mm, una prueba de velocidad de 1.00 mm/s, una postprueba de velocidad de 5 mm/s y una fuerza de disparo de 0.04903 N. Las muestras fueron cortadas 10 min antes de ser analizadas, los aguacates fueron partidos por la mitad en forma vertical, se cortaron las extremidades, obteniendo la parte central, esta fue dividida en dos partes y se ajustaron las medidas a 1,0 cm alto y 1,5 cm ancho y largo

realizándose 4 o 5 réplicas de cada muestra. Los datos son analizados según Bourne (2002), con base en el Análisis de Perfil de Textura (TPA). La dureza se midió como la fuerza pico lograda durante el primer ciclo de compresión en Newton (N) y la cohesividad definida como la razón del área positiva de la segunda compresión entre el área positiva de la primera compresión (adimensional).

#### **5.10. Análisis de textura externo**

La textura del exocarpio del aguacate fue analizada mediante SEM (Microscopio electrónico de barrido, por sus siglas en inglés) a diferentes tiempos. Las muestras fueron cortadas con dimensiones de 20 mm x 20 mm, fueron fijadas con glutaraldehído al 3%, disolución preparada a partir de glutaraldehído 50 % (Sigma-Aldrich); posteriormente se realizaron 3 lavados con un buffer de fosfatos pH 7.4, 100 mM. Se colocaron 2 veces, 10 min en una solución de etanol al 30%, posteriormente se colocaron en etanol al 50 %, al 70 % y al 100 %, 10 min en cada solución, repitiendo 2 veces en la última disolución. Luego de ello se dejó secar la muestra en condiciones ambientales, se recubrió con oro y se analizó en el microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL JSM-5900-LV (Japón) a bajo vacío mediante un detector de electrones retrodispersados, en el laboratorio de Microscopia Electrónica de la Unidad de Servicio de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAI).

#### **5.11. Análisis de color**

El color de los aguacates Lote 1, se midió con una escala de sólidos de Pantone® con código UP, se tomó el exterior al mesocarpio y el interior del mesocarpio, se ajustaron los datos a una escala CMYK.

El color de los aguacates Lote 2, se midió con las muestras destinadas al análisis de textura, previo a ello se recubrieron con film de PVC. Utilizando un colorímetro Minolta (Spectrophotometer CM-3600d), con un iluminante D65 y un observador estándar de 10°, se calibró con los estándar blanco y negro, se

determinaron el valor L (luminosidad o brillo), a\* (rojo o verde) y el valor b\* (amarillo o azul) mediante el programa OnColor.

### **5.12. Contaminación con *Listeria monocytogenes***

Cuatro unidades experimentales de cada grupo en condiciones óptimas (5°C, sin exposición a la luz) fueron inoculadas con 100 µL de *L. monocytogenes* CFQ 103 ( $2 \times 10^8$  UFC/mL), preparada como se describe en el CLSI (2012) y analizándose a los 7, 14, 21 y 28 días posteriores a la inoculación. Las muestras para medición se prepararon como se describe en la ISO 6887-1983 o NOM-110-SSA1-1994 y el conteo de UFC por aguacate se realiza con 10 g del fruto y seis diluciones decimales, donde 1 mL de cada dilución fue inoculado en placas en medio Oxford por duplicado y Oxford modificado (Acumedia, Suplemento Dalynn Biologicals), incubadas a 37 °C durante 17-20 h.

### **5.13. Análisis sensorial**

Los frutos fueron lavados con agua destilada, posteriormente fueron sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio 27 ppm, posteriormente se tallaron con una fibra comercial, se enjuagaron y secaron. El análisis sensorial, se realizó los días 0, 7, 14 y 21, con 6 jueces no entrenados, que comprenden un intervalo de edad de 25 a 42 años, mediante una metodología discriminativa, una prueba escalar de control como lo describe Hernández (2005). Se pidió a los jueces que evaluaran de los aguacates, la coloración verde de la pulpa, la dureza de la pulpa, el color verde de la cáscara, el brillo de la cáscara y si estaban listos para ser consumidas las unidades experimentales basándose en los cuatro criterios anteriores.

### **5.14. Determinación del PGAL en aguas de lavado**

Los frutos antes de ser evaluados sensorialmente, se sumergieron en agua destilada, suficiente para cubrirlo (250 mL), durante 5 min, después de esto las

aguas de lavado fueron almacenadas. Las aguas de lavado fueron filtradas para retirar partículas grandes, y se analizaron en un espectrofotómetro (Genesys 10S Uv-vis Thermoscientific) a 385 nm, y la cantidad de PGAL fue determinada mediante una curva patrón de PGAL en agua (Apéndice A).

#### **5.15. Análisis estadístico**

Las diferencias de las muestras en pérdida de peso, textura interna, color, crecimiento microbiano y análisis sensorial se determinaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y realizando una comparación de medias mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia  $p < 0.05$ .

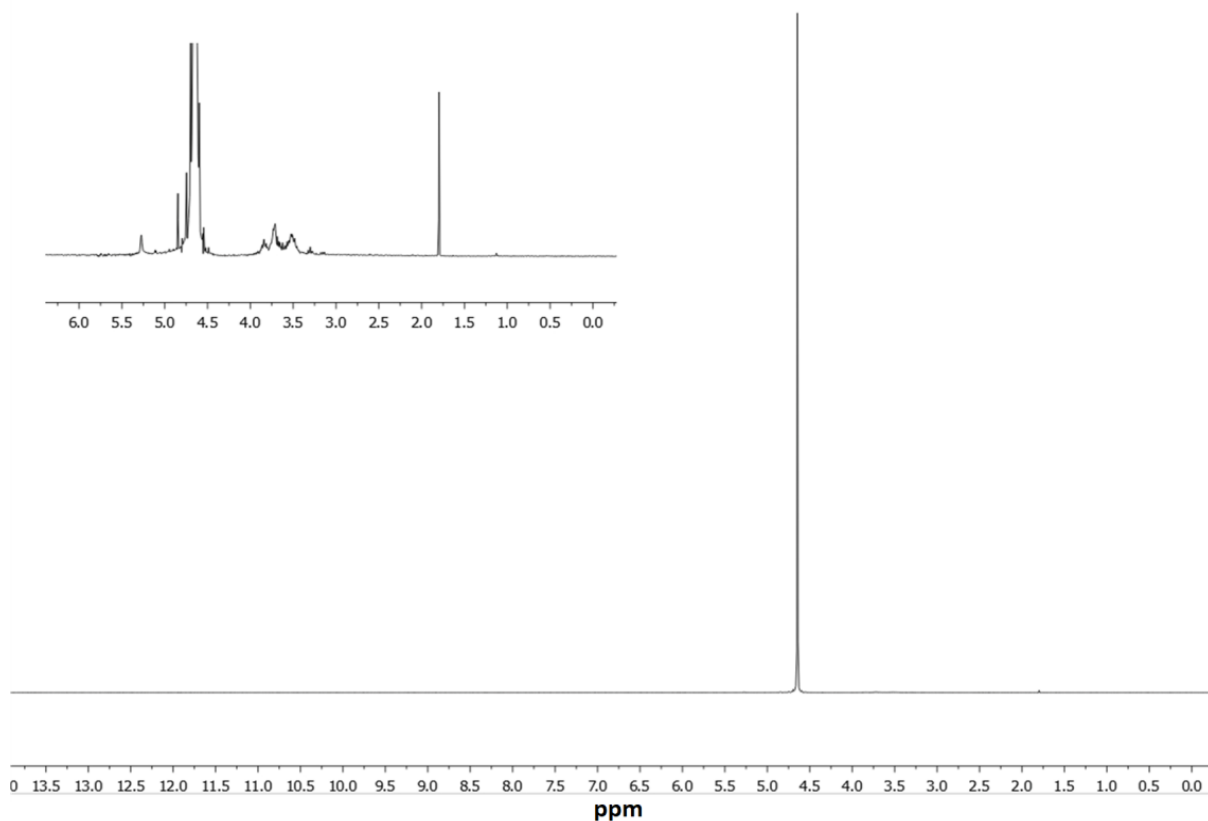
**Nota:** algunos datos del día 7 del Lote 1, no son presentados debido a que durante el desarrollo experimental se presentó el sismo del 19 de septiembre de 2017, lo cual afectó al desarrollo del presente estudio.



## 6. Discusión de resultados

### 6.1. Síntesis del PGAL

La síntesis de PGAL se realizó con éxito, obteniéndose un polvo negro brillante con un rendimiento 73.30% y una masa molar promedio en número ( $M_n$ ) de 5,443 Da. Al ser caracterizado por RMN- $^1\text{H}$ , en su espectro (Figura 6) se puede apreciar la ausencia de hidrógenos en la zona aromática (6.5-8.5) lo que evidencia la polimerización del ácido gálico mediante sus enlaces fenilo-fenilo. Para corroborar esto, en su espectro de FT-IR (ATR) (Figura 7) se observa la presencia de grupos hidroxilo entre 3000 y 3400  $\text{cm}^{-1}$ , así como la banda ancha de carbonilo a 1566  $\text{cm}^{-1}$  evidenciando la conservación del ácido carboxílico en el polímero y coincidiendo con lo reportado por López *et al.* (2013).



**Figura 6.** Espectro de RMN- $^1\text{H}$  para PGAL [ $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz].

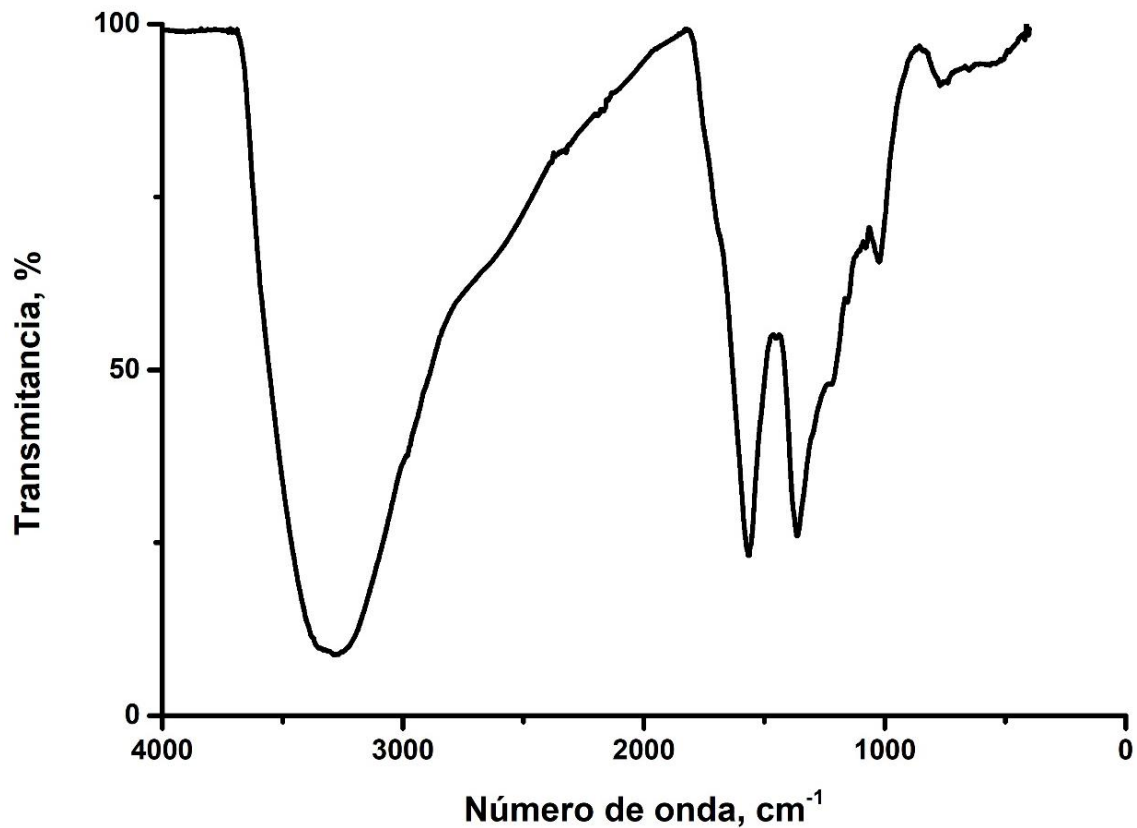
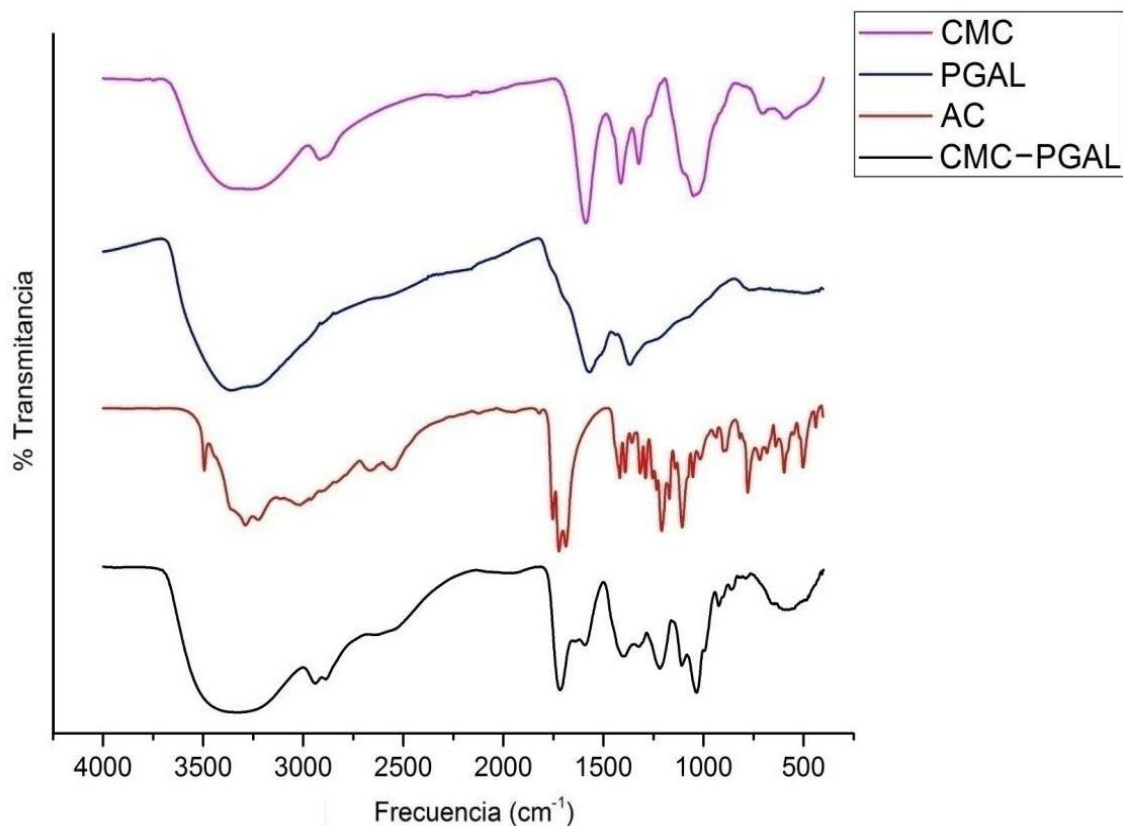


Figura 7. Espectro FT-IR del PGAL.

## 6.2. Síntesis de CMC-PGAL

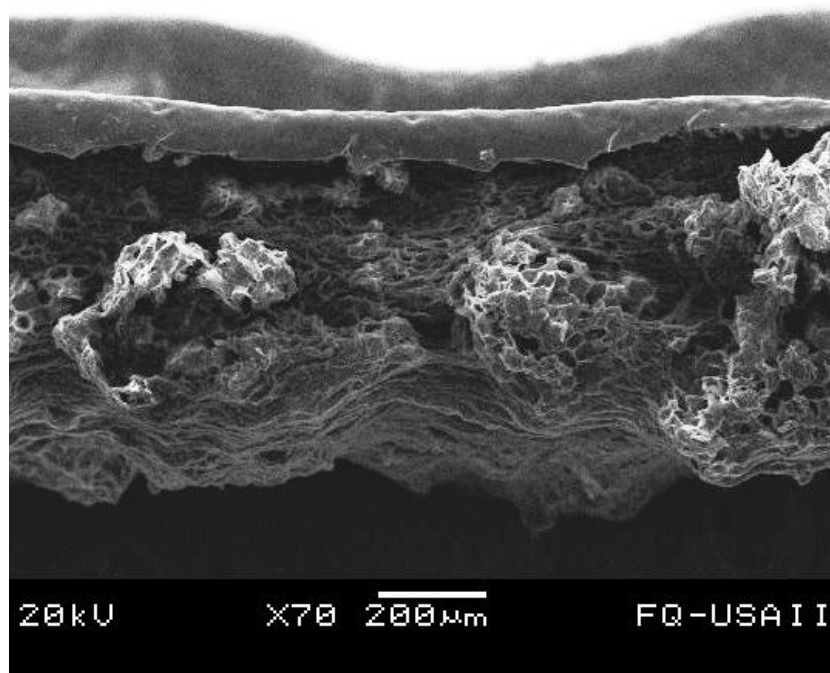
El material arrojó un pH de 3.29. En la Figura 8 se puede observar el espectro de FT-IR (ATR) del entrecruzado CMC-PGAL y las materias, donde se observa que las bandas alifáticas se desplazaron a frecuencias más altas en comparación con CMC, las bandas de estiramiento del grupo carbonilo (C=O) presentes en el AC, entre 1700 y 1725 cm<sup>-1</sup> se aprecian en el espectro de CMC-PGAL, coincidiendo con lo reportado por Romero-Montero *et al.*, (2017). En la Figura 4 la posible estructura molecular de CMC-PGAL.



**Figura 8.** Espectro FT-IR del CMC-PGAL y de sus respectivas materias primas CMC, PGAL y AC.

### 6.3. Permeabilidad de vapor de agua en CMC-PGAL

La permeabilidad de vapor de agua es la propiedad de un material, y el producto aritmético de la permeanza y el espesor; a diferencia de la permeabilidad, la permeanza es la evaluación del material en un sistema. En la Tabla 2 se muestra la permeabilidad de la película de CMC-PGAL determinada por el método de la norma ASTM E96, y una corrección del método para películas hidrofílicas (matrices de polisacáridos, lípidos o proteínas) descrita por Gennadios *et al.* (1994). Así mismo la permeanza referida en la misma tabla es la evaluación de la película en el aguacate, tomando el espesor de la misma en el fruto medida mediante SEM (Figura 9). En general se obtiene una menor permeabilidad con diferencia a otros polisacáridos. Y no se muestra la permeabilidad de la película de CMC debido a que no es estable a 50 % HR.



**Figura 9.** Microscopia SEM del espesor del exocarpio de aguacate recubierto con CMC-PGAL, la parte inferior es el interior del exocarpio y la parte superior es el exterior, la sombra superficial es el espesor de la película, se observa menos nítida debido al corte y la fijación que levanta el recubrimiento.

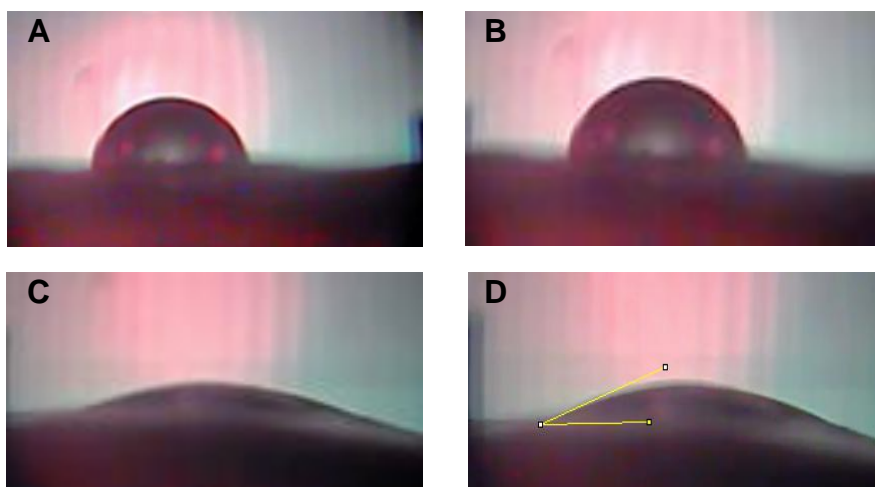
**Tabla 2.** Permeabilidad de la película de CMC-PGAL y permeanza en el aguacate recubierto de CMC-PGAL por el método ASTM y el corregido.

Película/ recubrimiento	Método	Permeabilidad x $10^{-13}$ (g Pa <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup> )	Permeanza x $10^{-9}$ (g Pa <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> )
CMC-PGAL	ASTM	5.03 ± 0.28	3.60 ± 0.20
	Corregida	10.36 ± 0.59	7.42 ± 0.42

#### 6.4. Ángulos de contacto en exocarpio de aguacate

El ángulo de contacto es una propiedad superficial de los sólidos que cuantifica su tendencia a la hidrofobicidad. En este caso se midió el ángulo de contacto de las superficies del exocarpio de aguacate con los distintos

recubrimientos. Se encontró que todos presentan un carácter hidrofílico (ángulo menor a 90°) (Tabla 3 y Figura 10), sin embargo las muestras CMC y CMC-PGAL presentan un carácter más hidrofílico en comparación con el Control y el PGAL, esto es debido a la CMC que tiene un fuerte carácter hidrofílico (Neiras *et al.*, 2007). Romero-Montero *et al.* (2017) reportó un ángulo de contacto de 16.6 y 44.1 para una película de CMC y CMC-PGAL, respectivamente, la diferencia es de 6.8 y 10.6 que pueden deberse a la superficie rugosa del exocarpo. El recubrimiento con PGAL es el único que mantiene el carácter hidrofílico e igual al control.



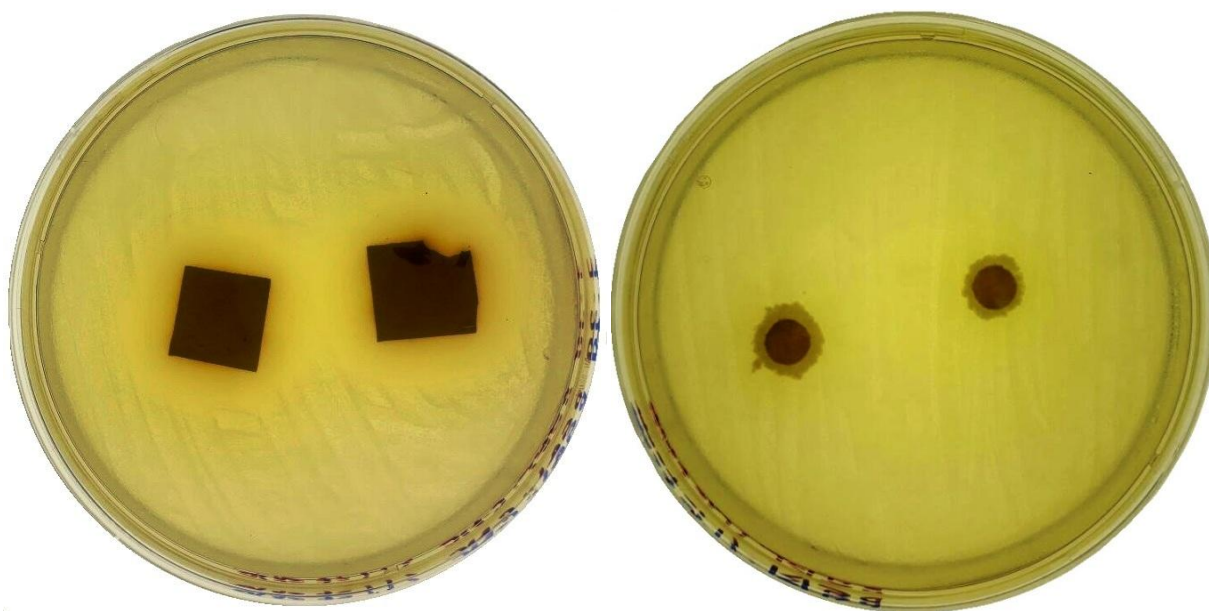
**Figura 10.** Ángulos de contacto de diferentes recubrimientos en mesocarpo de aguacate. Muestra Control, sin recubrimiento (A); recubrimiento con PGAL (B); recubrimiento con CMC (C) y recubrimiento con CMC-PGAL (D).

**Tabla 3.** Ángulos de contacto de diferentes recubrimientos en mesocarpo de aguacate.

Figura	Recubrimiento	Ángulo de contacto
10a	Control	$83.088 \pm 3.486$
10b	PGAL	$83.086 \pm 3.641$
10c	CMC	$23.423 \pm 0.662$
10d	CMC-PGAL	$33.511 \pm 4.108$

## 6.5. Prueba preliminar de inhibición

Como se muestra en la Figura 11, la película de CMC-PGAL inhibe el crecimiento de *L. monocytogenes*, en cambio el PGAL a 0,3% w/v no inhibe a la bacteria. El pH de la película de CMC-PGAL es de 3,29 y el de la solución de PGAL de 6.8, la acidez de la película entrecruzada se debe a la presencia de AC en el entrecruzado además de los grupos hidroxilos. Esta bacteria es tolerante a ciertas condiciones como el desecamiento, puede crecer en un intervalo de pH 4,5 a 10 (McMullen y Freitag 2015), pero la película de CMC-PGAL debido a su acidez inhibió su crecimiento.

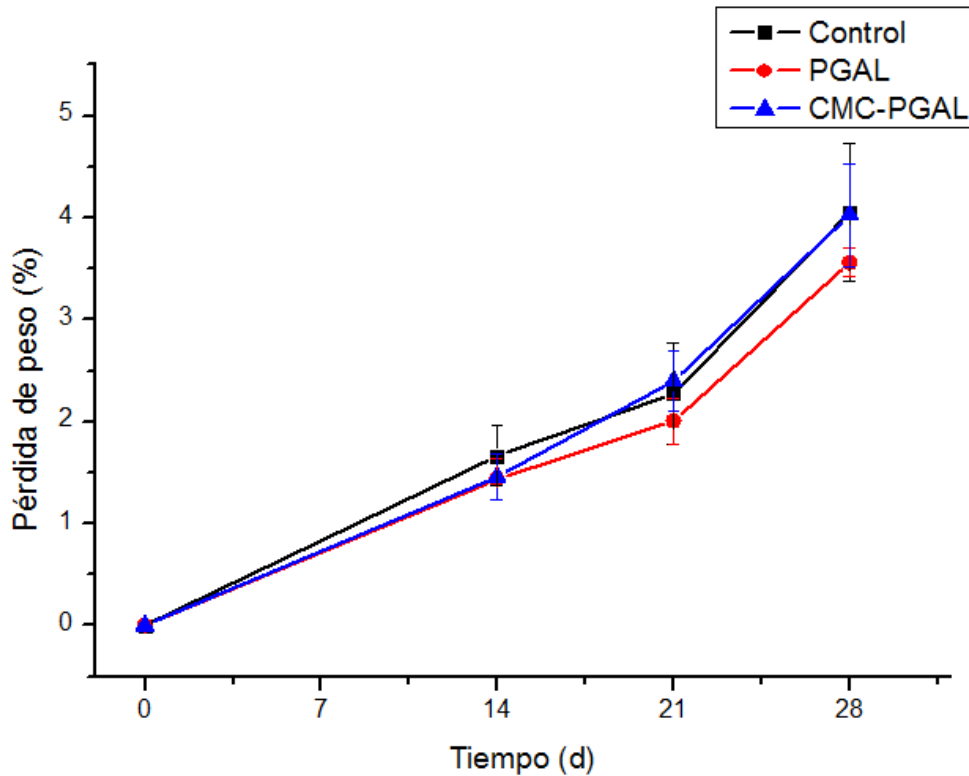


**Figura 11.** Prueba de inhibición de *Listeria monocytogenes*. Película de CMC-PGAL; halo de inhibición de 8.5 mm (izquierda) y PGAL 0.3 % en papel filtro; sin halo de inhibición (derecha).

## 6.6. Pérdida de peso

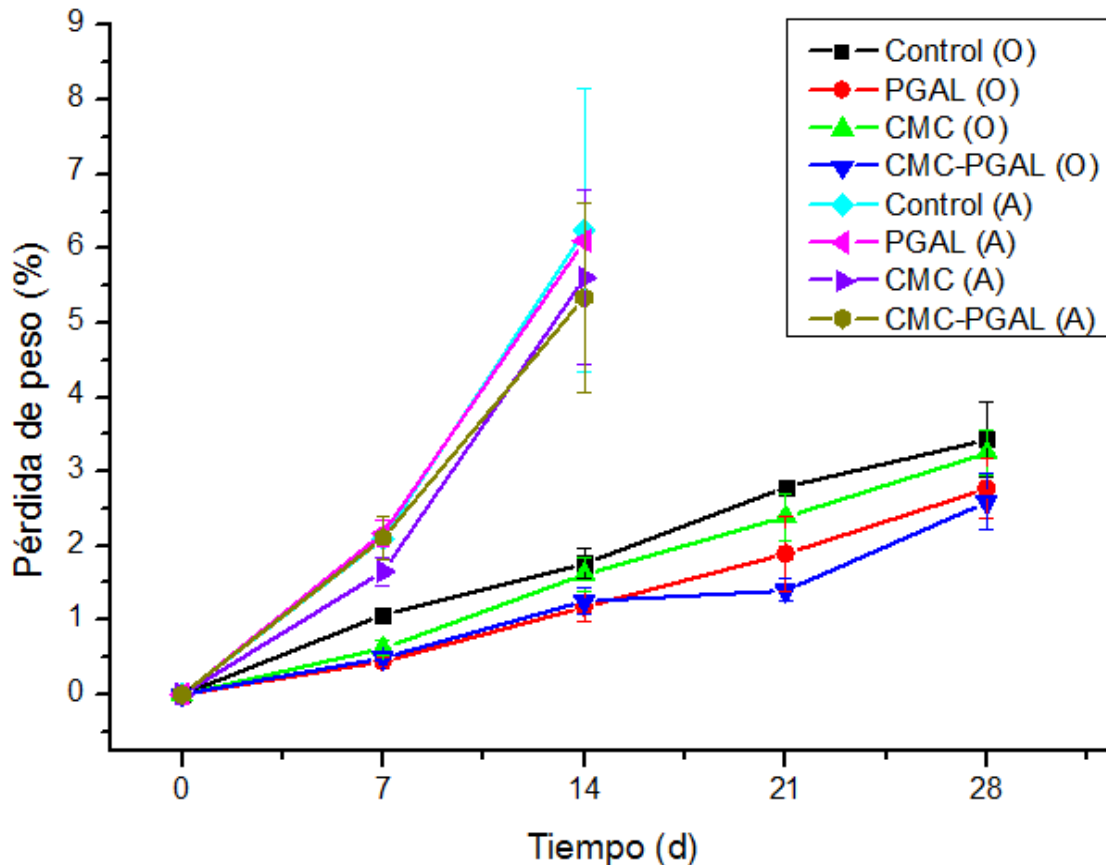
En el Lote 1 en condiciones óptimas (Figura 12) se observó una pérdida gradual de peso hasta del 4%. Los grupos Control, PGAL y CMC-PGAL no presentaron diferencias significativas, incluso en el día 28 cuando se encontraban

los frutos fuera de especificación con base a la NMX-FF-016-SCFI-2016, debido a la aparición de manchas marrones en el mesocarpio, requisito mínimo general.



**Figura 12.** Diferencia de pérdida de peso (%) del Lote 1 en condiciones óptimas(O), con respecto al tiempo.

En el Lote 2 (Figura 13) también se observó una pérdida gradual del peso con respecto al tiempo, sin embargo las condiciones adversas presentan una pendiente más pronunciada y una pérdida de peso hasta del 6% sin presentar diferencias significativas entre sus grupos. En condiciones óptimas se observó una pérdida de peso hasta de 3.5 % por parte del grupo Control, se presentaron diferencias significativas entre este grupo, el PGAL y CMC-PGAL, teniendo menor pérdida de peso el grupo CMC-PGAL.



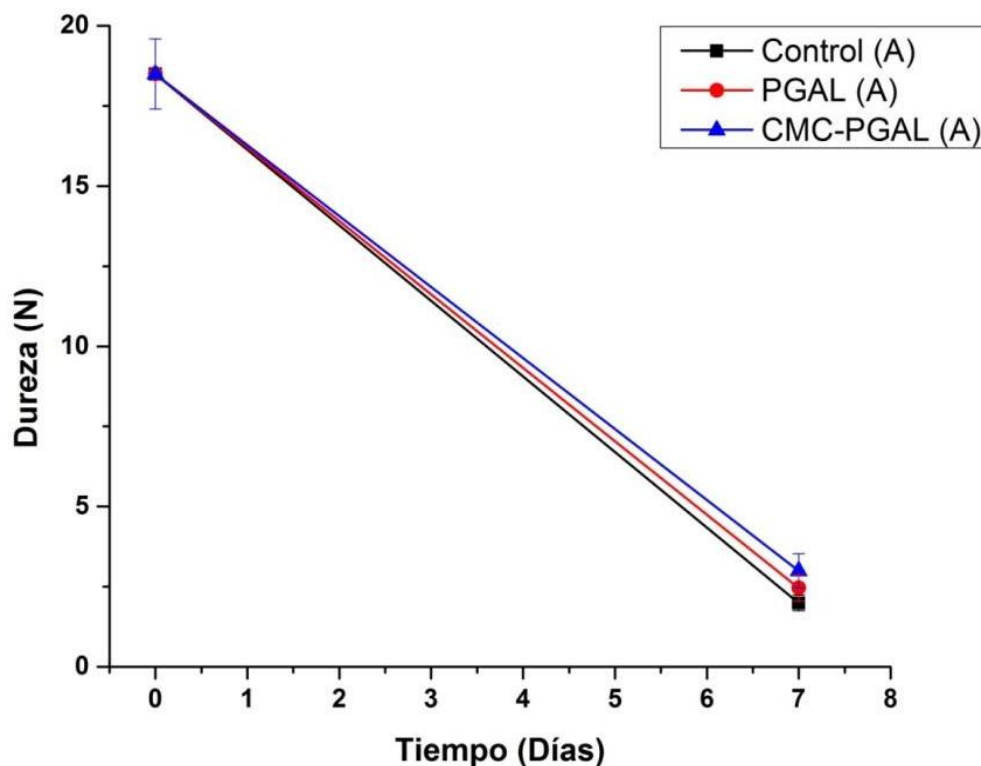
**Figura 13.** Diferencia en pérdida de peso (%) del Lote 2, con respecto al tiempo. (O) condiciones óptimas y (A) condiciones adversas.

Saucedo *et al.* (2009) utilizó películas a base de cera de candelilla y ácido elágico, donde generó una pérdida equivalente a la del grupo PGAL (O) y grupo CMC-PGAL (O) del Lote 2. Mientras que Aguilar *et al.* (2008) con películas de grenetina, almidón y polietileno, presentan pérdida a mayor velocidad. La diferencia entre la pérdida de peso puede deberse a la polaridad de las películas: a mayor naturaleza hidrófila de los materiales, se presenta mayor permeabilidad del vapor de agua. Además el espesor influye en la transmisión de vapor de agua, en el caso del PGAL y CMC-PGAL es menor, otras variables como la HR también afectan la permeabilidad (Gutiérrez *et al.*, 2015).



## 6.7. Análisis de textura interno

La dureza está definida como la “Fuerza necesaria para alcanzar una deformación dada” (Civil *et al.*, 1973). En las muestras del Lote 1 sometidas en condiciones adversas (Figura 14) no se presentaron diferencias significativas al día 7, sin embargo la muestra Control produjo un error de medición, que no es considerado, este error es el crecimiento de raíces en el mesocarpio (Figura 15).

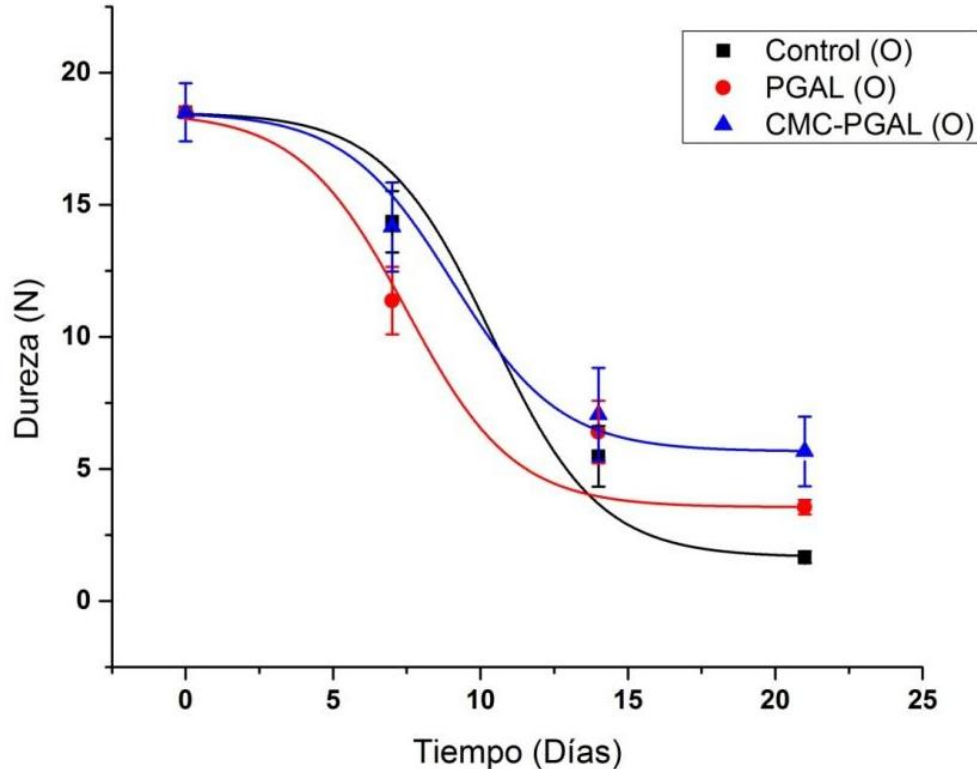


**Figura 14.** Cambio de dureza con respecto al tiempo, Lote 1 en condiciones adversas (A).



**Figura 15.** Corte transversal de la muestra Control al día 7. Las manchas negras son raíces con crecimiento vertical en el fruto (ápice-pedúnculo).

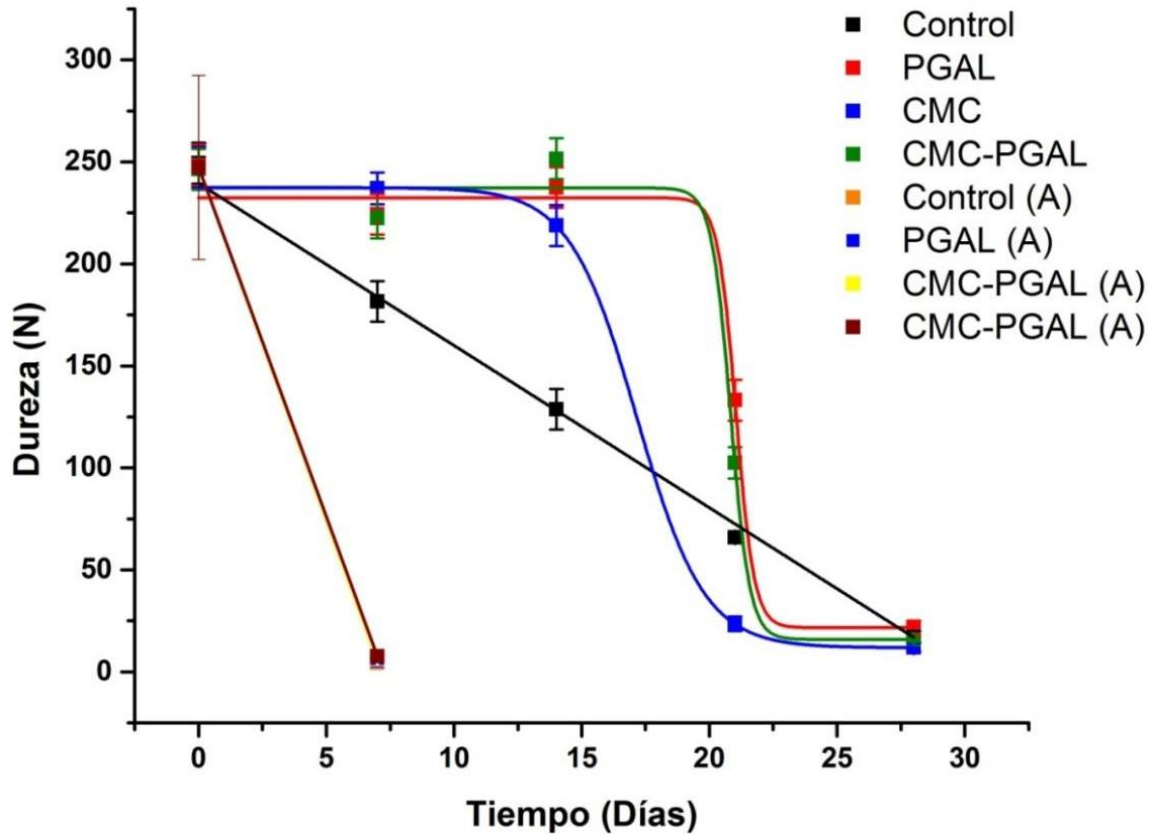
En las muestras del Lote 1 en condiciones óptimas, no hay diferencias significativas en la dureza durante las dos primeras semanas. En el día 21 se observa que el recubrimiento CMC-PGAL mantiene la mayor dureza y después el de PGAL (Figura 16). No se reportan los datos del día 28 debido a que mostraron manchas marrones en mesocarpio y que no cumple la designación y clasificación del producto con base en la NMX-FF-016-SCFI-2016, siendo considerado un producto fuera de especificación. La pérdida de dureza es dependiente de la maduración del fruto debido a la pérdida de integridad de la membrana, la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa, así como de la hidrólisis de la pectina y el almidón, catalizadas por poligalacturonasa, metil esterasas, pectato liasas, ramnogalacturonasas y  $\beta$ -galactosidasas. Estas modificaciones celulares llevan a la pérdida de agua, que también es considerado importante en los cambios de textura (Yaman y Bayoindirli, 2002; Del Valle *et al.*, 2005).



**Figura 16.** Cambio de dureza con respecto al tiempo, Lote 1 en condiciones óptimas (O).

Para Lote 2 en condiciones adversas, no se observaron diferencias significativas, además ninguna de las muestras presentó crecimiento de raíces al día 7, en comparación del Lote 1. El grupo Control decae en dureza desde el día 7, diferenciándose del resto de los grupos hasta el día 28; por otro lado el grupo PGAL (O), CMC (O) y CMC-PGAL (O) mantiene su dureza incluso el día 14. Posterior al día 14 se nota una caída abrupta de dureza hasta el día 28, donde el grupo PGAL mantiene la mayor dureza y es significativamente diferente a los demás (Figura 17).

En otros estudios de recubrimiento se puede observar que la caída de dureza depende de la temperatura, a 20 °C la caída de dureza es lineal (Jeong *et al.*, 2003; Maftoonazad y Ramaswamy, 2005). En condiciones óptimas esta es de forma exponencial o sigmoidea posteriores al día 21 (Tsfay *et al.*, 2017; Tsfay *et al.*, 2011). Los estudios anteriores presentan un intervalo de dureza de hasta 180 N, y decaen aproximadamente 20 N, en este estudio, el Lote 1 presentó durezas inferiores mientras que el Lote 2 presenta durezas superiores como materia prima, por lo que se estima que el Lote 1 tenía más días en almacenamiento o un almacenamiento no óptimo.

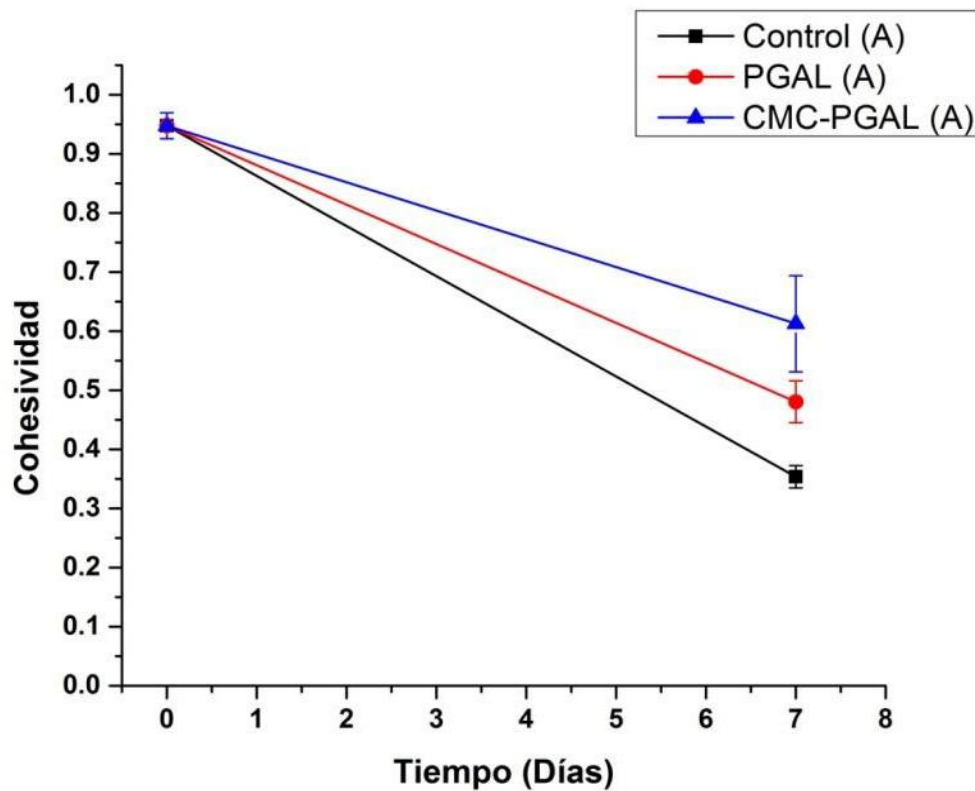


**Figura 17.** Cambio de dureza con respecto al tiempo, Lote 2 en condiciones óptimas (O) y condiciones adversas (A).

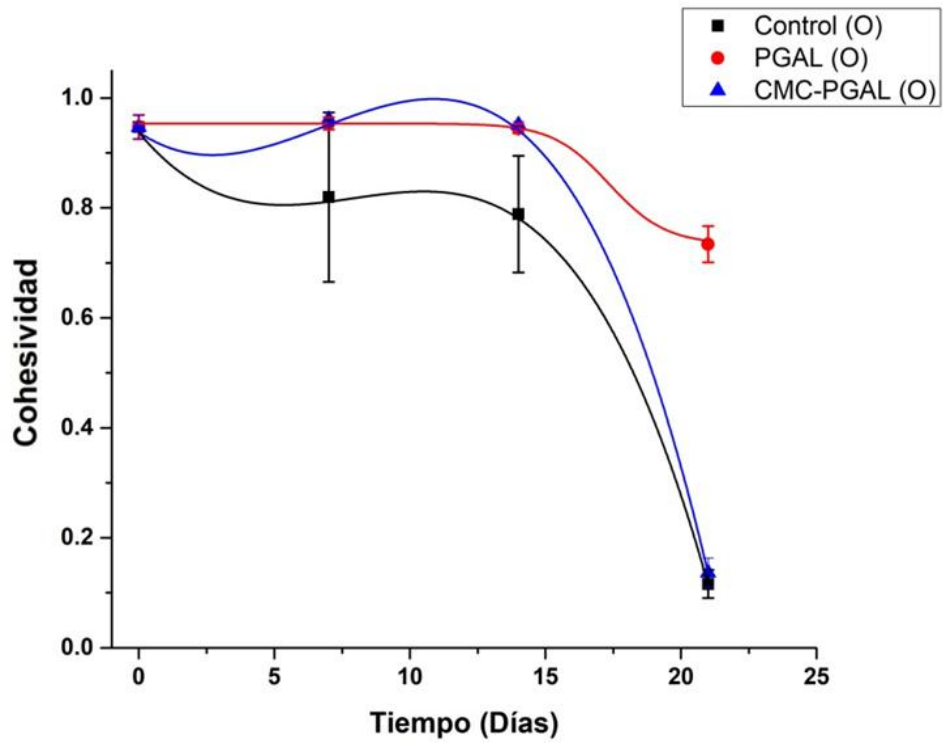
La cohesividad, definida como “el grado en el que un material puede deformarse antes que se rompa” (Civille *et al.*, 1973), está estrechamente relacionada con la dureza, así como a las características estructurales. La diferencia radica en que la cohesividad es una comparación con la misma muestra, entre la primera y segunda compresión.

En la Figura 18 se observa el Lote 1 en condiciones adversas hay diferencias significativas, presentando menor cohesividad la muestra Control y mayor cohesividad la muestra CMC-PGAL, difiriendo de la dureza. Con respecto a las condiciones óptimas (Figura 19), los frutos recubiertos son diferentes significativamente con respecto al Control, a excepción del CMC-PGAL al día 21, coincidiendo con la dureza al mismo día, con una diferencia en muestras, por otro lado, el grupo PGAL mantiene una mayor cohesividad que el CMC-PGAL.

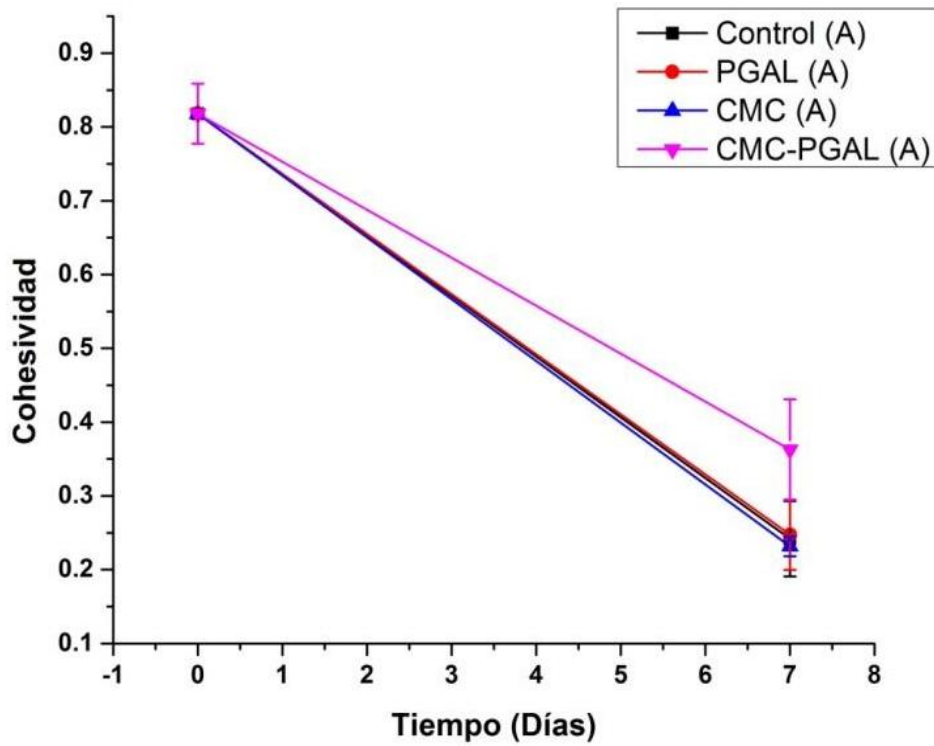
Por otra parte en el Lote 2 en condiciones adversas (Figura 20) no presenta diferencias significativas. En condiciones óptimas (Figura 21) sólo se presentan diferencias significativas entre los días 14 diferenciándose el grupo Control de los demás grupos, y el PGAL y CMC-PGAL igualando al día 21. Con diferencia a la dureza (Figura 17) se puede observar que el grupo Control presenta menor dureza el día 7 en cambio a su cohesividad mantiene similitud entre otros grupos y es debido a que mantiene una estructura de soporte.



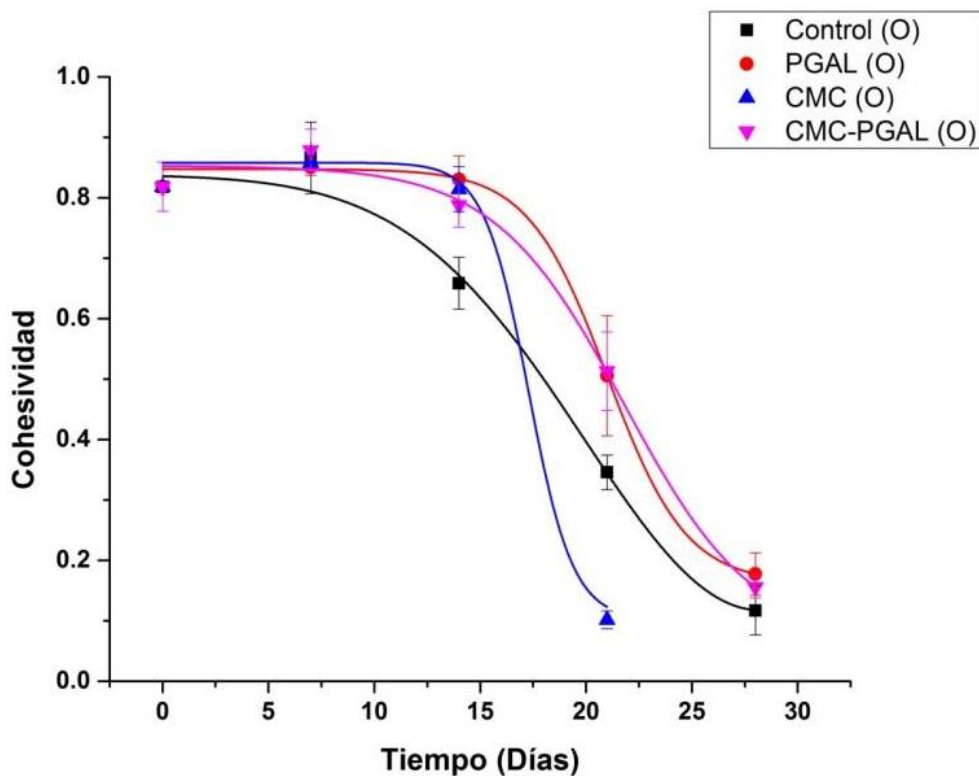
**Figura 18.** Cambio de cohesividad con respecto al tiempo, Lote 1, en condiciones adversas (A).



**Figura 19.** Cambio de cohesividad con respecto al tiempo, Lote 1, en condiciones óptimas (O).



**Figura 20.** Cambio de cohesividad con respecto al tiempo, Lote 2, en condiciones adversas (A).



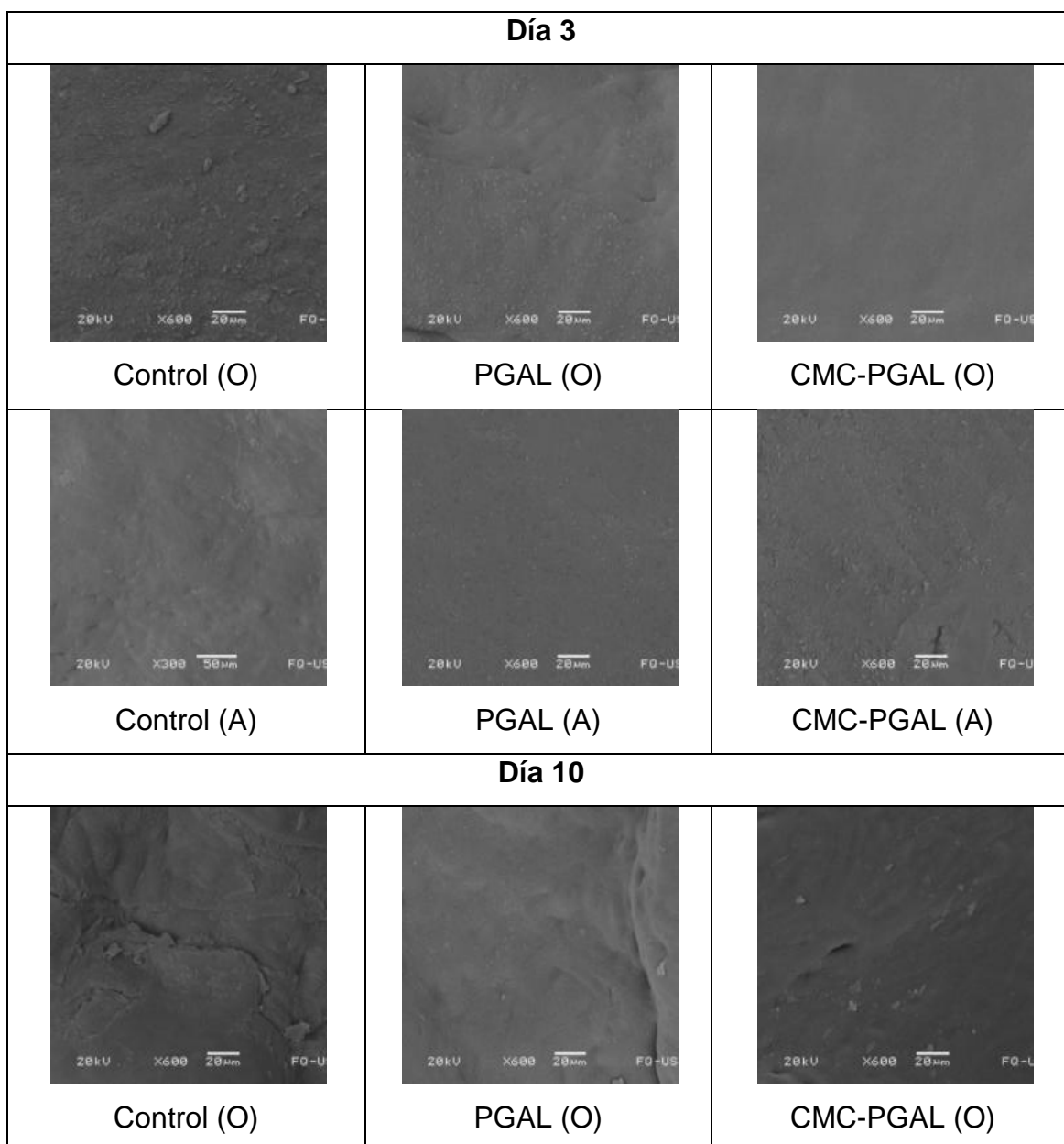
**Figura 21.** Cambio de cohesividad con respecto al tiempo, Lote 2, en condiciones óptimas (O).

La pérdida de firmeza durante la comercialización afecta negativamente a la calidad del fruto, por lo que la capacidad de recubrimientos para reducir la velocidad de ablandamiento es ventajosa para prolongar la vida de anaquel (Tesfay *et. al.*, 2017). Con base en el Lote 2, se puede decir que aumenta de forma favorable las capacidades de textura durante la primera y hasta la tercer semana de almacenamiento.

### 6.8. Análisis de textura externo

En la Tabla 4 se muestran las micrografías SEM del exocarpio del Lote 1 al día 3 y 10, con los diferentes recubrimientos, en la muestra Control (O) al día 3 se observa mayor erosión con respecto a las demás en el mismo día. En el día 10 solo se observan las muestras en condiciones óptimas, donde la muestra Control muestra mayor erosión que la muestra PGAL y CMC-PGAL.

**Tabla 4.** Micrografía SEM de exocarpio de aguacate a los días 3 y 10 del Lote 1. Aumento de x600, (A) condiciones adversas, (O) condiciones óptimas.

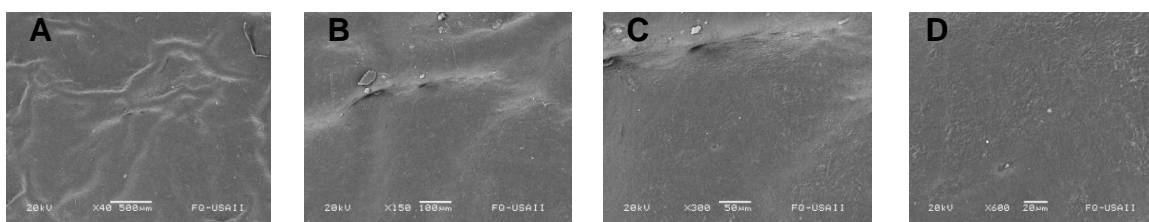


En la Figura 22 se observa una micrografía con distintos aumentos del exocarpio de aguacate Lote 2 al día 0 sin recubrimiento. En la Tabla 5 se observan las diferencias del exocarpio de aguacate Lote 2 con los distintos recubrimientos, donde se puede ver erosión en las películas Control, CMC y CMC-PGAL; observándose una mayor integridad en el grupo PGAL. Esto último puede deberse

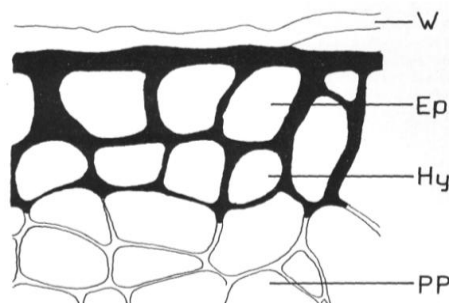


a su capacidad antioxidante mayor a la CMC-PGAL (Romero *et al.*, 2017). Si bien el exocarpio de aguacate contiene niveles altos de polifenoles con un grado de polimerización superior a 10 unidades, estos tienen una reducida capacidad antioxidante debido a su unión con la membrana celular (Rodríguez *et.al*, 2011). Los resultados experimentales indican que aplicando el PGAL se pudo aumentar la capacidad antioxidante y la estabilidad de la cutícula (capa cerosa de la superficie del aguacate) (Figura 23) pudiendo evitando así su oxidación lipídica.

Los daños en el exocarpio en condiciones adversas se observan menos severos que en condiciones óptimas (Tabla 5), a mayor tiempo se observa mayor en condiciones de temperatura óptimas. Los daños provocados en la cutícula son diferentes entre el Lote 1 y el Lote 2, además. En el Lote 1 se observa con menor erosión al día 10. Sin embargo, debemos tener en cuenta la posible aplicación de cera comercial en el Lote 1, lo que pudo haber mantenido la cutícula con mayor integridad.

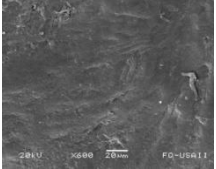
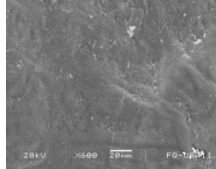
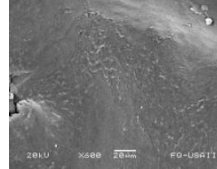
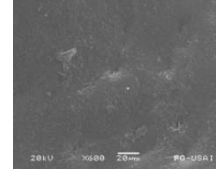
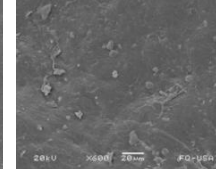
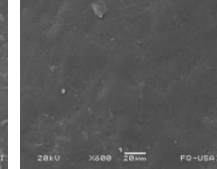
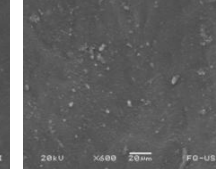
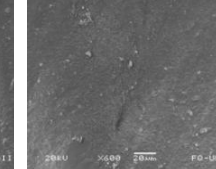
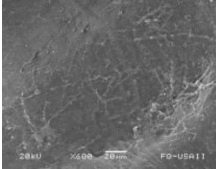
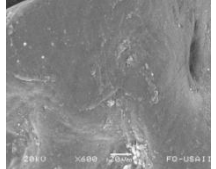
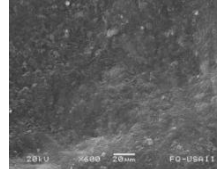
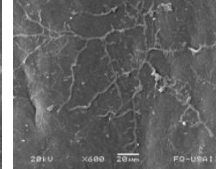
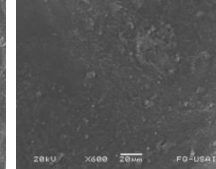
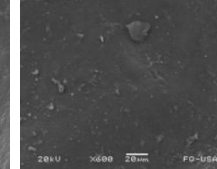
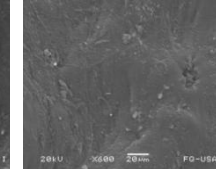
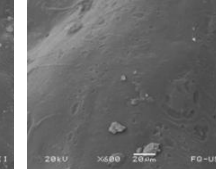
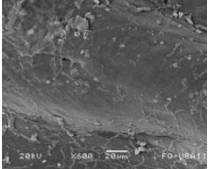
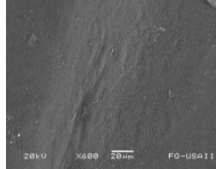
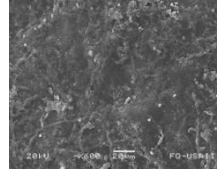
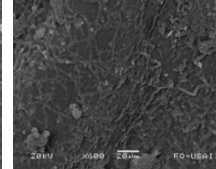


**Figura 22.** Micrografía SEM exocarpio de aguacate del Lote 2 al día 0. Aumentos: x40 (A), x150 (B), x300 (C) y x600 (D), respectivamente a cada imagen.



**Figura 23.** Esquema superficial de la cáscara de aguacate. W: capa cerosa, cutícula; Ep: epidermis; Hy: hipodermis; PP: parénquima. Fuente Schroeder, 1950.

**Tabla 5.** Micrografía SEM de exocarpo de aguacate a los días 7, 10 y 14 del Lote 2. Aumento de x600. (A) condiciones adversas, (O) condiciones óptimas.

Día 7							
							
Control (O)	PGAL (O)	CMC (O)	CMC-PGAL (O)	Control (A)	PGAL (A)	CMC (A)	CMC-PGAL (A)
Día 10							
							
Control (O)	PGAL (O)	CMC (O)	CMC-PGAL (O)	Control (A)	PGAL (A)	CMC (A)	CMC-PGAL (A)
Día 14							
							
Control (O)	PGAL (O)	CMC (O)	CMC-PGAL (O)				

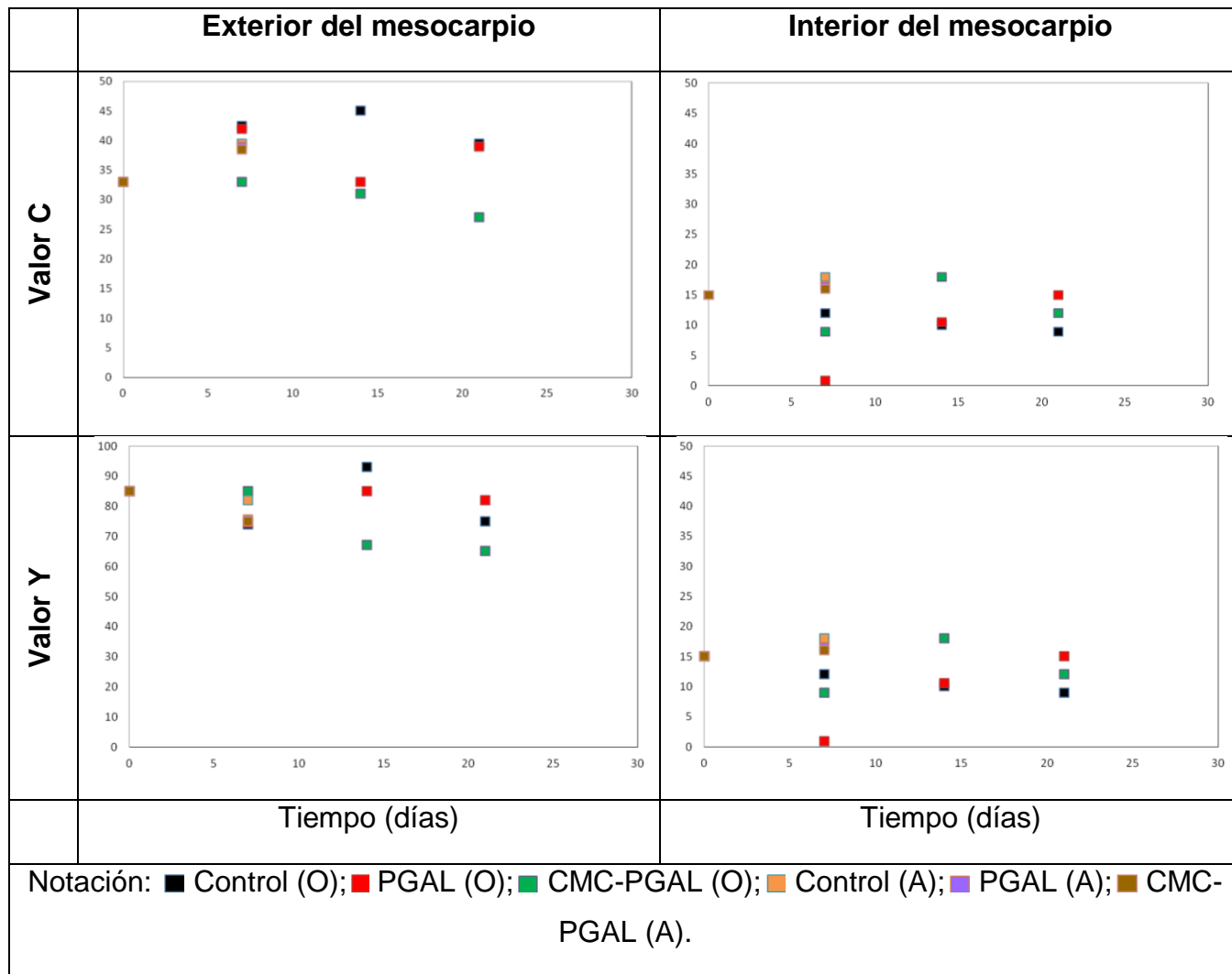
## 6.9. Análisis de color

Para el caso de Lote 1 se usó la escala de Pantone<sup>®</sup>, donde se compararon los parámetros C (cian) y Y (amarillo) del exterior del mesocarpio y del interior del mesocarpio (Tabla 6) sin tener diferencias significativas entre las muestras. La escala de Pantone<sup>®</sup> es un instrumento con un error mayor al colorímetro, debido a la capacidad del observador y a la luz de enfoque. En el Lote 2 (Tabla 7) se comparó la coloración del exterior e interior del mesocarpio, utilizando un colorímetro triestímulo sin obtener diferencias significativas entre las muestras mantenidas en condiciones óptimas.

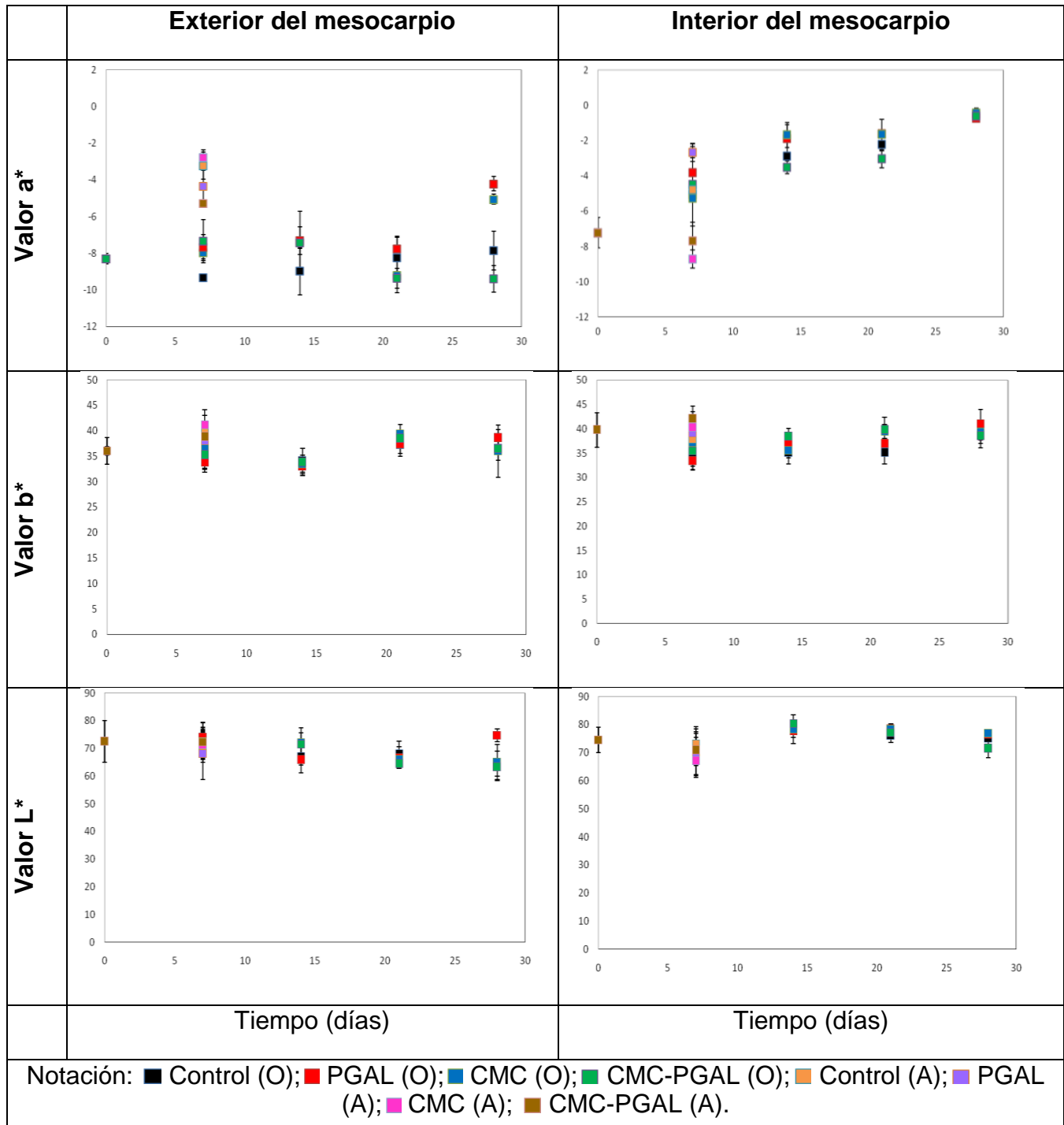
Maftoonazad y Ramaswamy (2005) recubrieron aguacates Hass a partir de metilcelulosa, monitoreando el color de los aguacates con un colorímetro triestímulo durante 10 días a temperatura ambiente, donde encontraron cambios significativos en  $L^*$  y  $a^*$  en el día 6 al 10. Algunos otros tratamientos, como el almacenamiento prolongado en refrigeración provocan daños por frío, aumentando el pardeamiento y la decoloración del mesocarpio (Scott y Chaplin, 1978). Y en atmósferas modificadas, la baja cantidad de  $O_2$  y altos niveles de  $CO_2$  deprimen la biosíntesis de etileno y desencadena la actividad de los genes que afectan los cambios de color, aroma y degradación de paredes celulares (Kader, 1986).

A pesar de que las concentraciones de clorofila son más altas en el exocarpio de aguacate, la decoloración del mesocarpio sirve de referencia como senescencia o daño por frío. En este caso se descarta el daño por frío, debido a que el análisis de textura muestra cambios descendentes en dureza y cohesividad. (Ashton *et al.*, 2006; DeMan, 1999).

**Tabla 6.** Cambio de color en el mesocarpio del Lote 1, en función del tiempo con base en los valores C (azul) y Y (amarillo). (A) condiciones adversas, (O) condiciones óptimas.



**Tabla 7.** Cambio de color en el mesocarpio del Lote 2, en función del tiempo con base en los valores  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$ . (A) condiciones adversas, (O) condiciones óptimas.



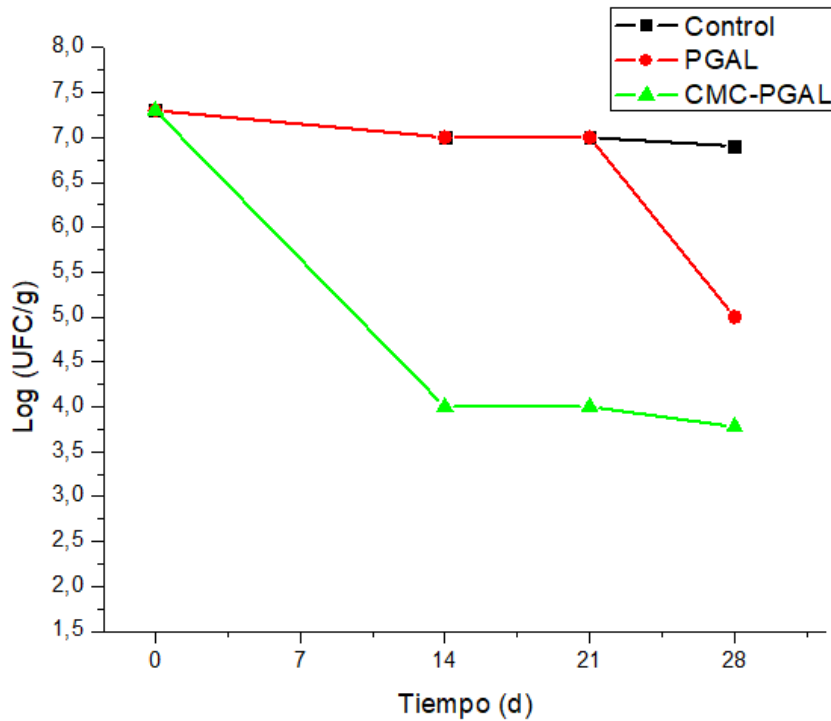
## 6.10. Contaminación con *L. monocytogenes*

En cuanto a la inhibición de *L. monocytogenes* no se encontraron diferencias significativas entre el grupo recubierto con PGAL y el Control más que en la última semana, en cambio entre el grupo Control y el grupo CMC-PGAL si hubo diferencias significativas. Lo que concuerda con las pruebas preliminares de inhibición en placa, a excepción de que la bacteria no es inhibida por completo. Aunque Johnston y Banks (1998) al utilizar un recubrimiento con CMC reportan un aumento sustancial al riesgo de fermentación en el fruto cuando se recubre con CMC, sin embargo el recubrimiento de CMC-PGAL inhibió el crecimiento de la bacteria.

Se observó la disminución en la cantidad de *L. monocytogenes* con el tiempo en todos los tratamientos (Figura 24, Tabla 8). Chen y colaboradores en 2016 identificaron que el hidrogenfriamiento a 4 °C promueve la internalización de *L. monocytogenes* y el crecimiento en el mesocarpio del fruto, además Iturriaga y colaboradores en 2002 encontraron que puede crecer en el mesocarpio de aguacate en condiciones de refrigeración, con un aumento aproximado de una unidad logarítmica de 10 a 15 días, entre 4 y 7 °C.


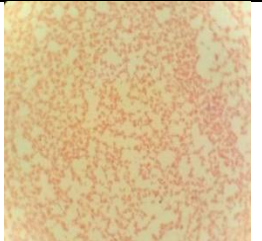
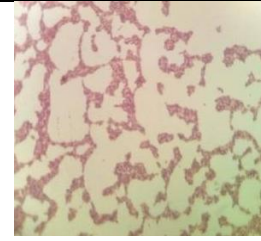
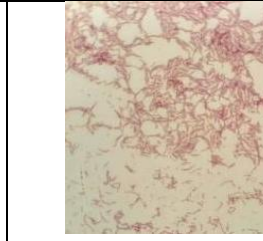
**Tabla 8.** Contaminación de aguacates Lote 1, con *L. monocytogenes* en función del tiempo de almacenamiento. \*“VE”: Valor estimado.

Muestras	UFC/g			
	Día 0	Día 14	Día 21	Día 28
Control	1 - 2x10 <sup>7</sup>	> 1x10 <sup>7</sup> *	> 1x10 <sup>7</sup> *	8x10 <sup>6</sup> *
PGAL	1 - 2x10 <sup>7</sup>	> 1x10 <sup>7</sup> *	> 1x10 <sup>7</sup> *	1x10 <sup>5</sup> *
CMC-PGAL	1 - 2x10 <sup>7</sup>	< 1x10 <sup>4</sup> *	< 1x10 <sup>4</sup> *	6x10 <sup>3</sup> *



**Figura 24.** Contaminación de aguacates Lote 1, con *L. monocytogenes* en función del tiempo de almacenamiento.

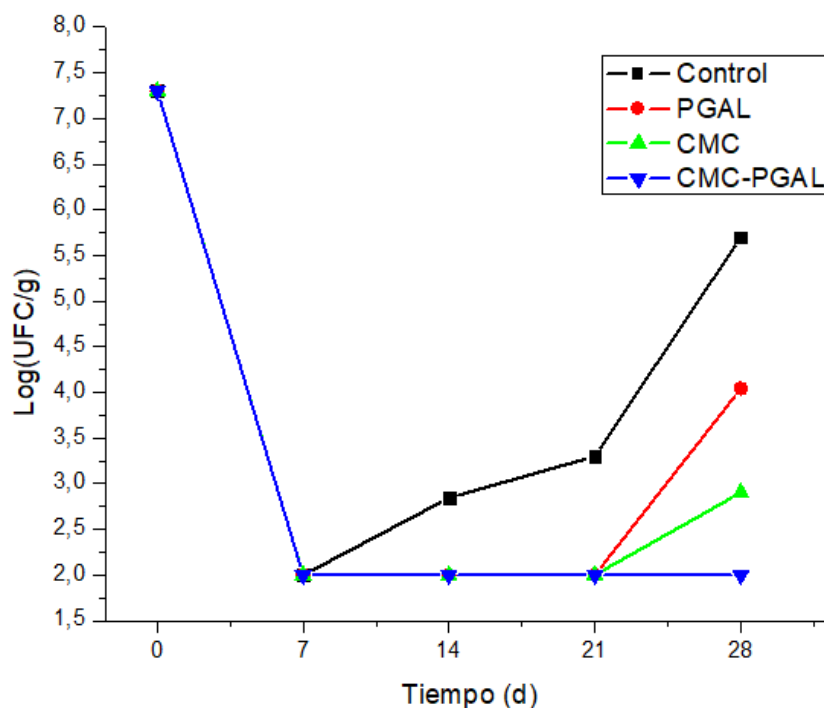
**Tabla 9.** Características de colonias aisladas del medio Oxford modificado.

			
<p>Aumento: 1000x a) Bacilos cortos gram positivos, sin agrupación b) Colonias grandes redondas planas, viscosas y de color negro brillante</p>	<p>Aumento: 1000x a) Diplococos gram negativos b) Colonias grandes redondas planas, cremosas y de color negro opaco</p>	<p>Aumento: 1000x a) Cocos en racimos gram positivos b) Colonias pequeñas redondas planas, cremosas y de color negro opaco</p>	<p>Aumento: 1000x Muestras de <i>Listeria monocytogenes</i> a) Bacilos largos gram positivos b) Colonias pequeñas redondas convexas, cremosas y de color negro.</p>

a) Características microscópicas y b) características macroscópicas.

Con respecto al Lote 2 (Figura 25; Tabla 10), la contaminación con *L. monocytogenes* presentó una tendencia diferente; al día 0 se mostraron cantidades despreciables de colonias, posteriormente hubo una tendencia de crecimiento del grupo Control, PGAL y CMC, estos últimos durante la última semana. La diferencia entre el grupo PGAL y CMC puede deberse a la acidez del medio, el AC tiene la propiedad de ser quelante y acidificar el medio (CCS, 2004) lo que puede reducir la actividad microbiana por efecto bacteriostático.

La diferencia entre el Lote 1 y el Lote 2, donde el primero disminuye la concentración de *L. monocytogenes* y el segundo tiende a aumentar, se puede deber al efecto de alguna cera en el primero como tratamiento comercial.



**Figura 25.** Contaminación de aguacates Lote 2, con *L. monocytogenes* en función del tiempo de almacenamiento.

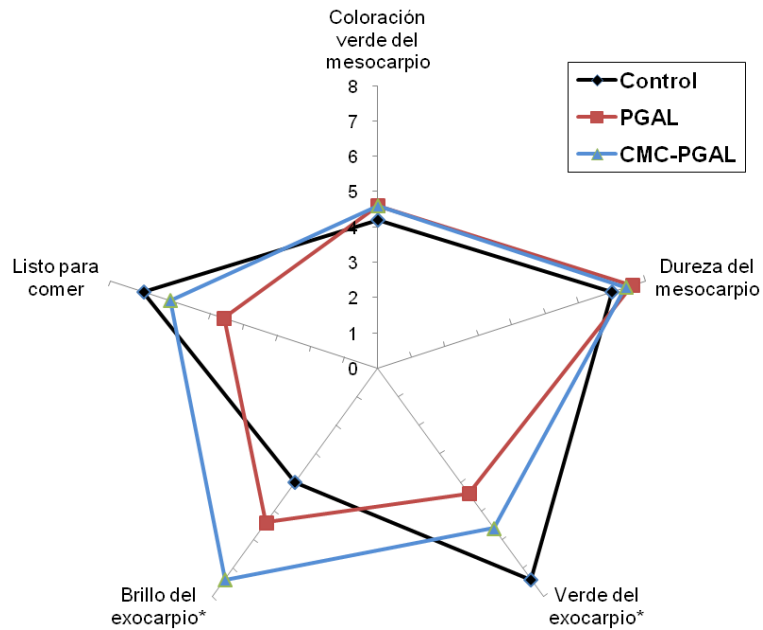


**Tabla 10.** Contaminación de aguacates Lote 2, con *L. monocytogenes* en función del tiempo de almacenamiento. \*"VE": Valor estimado.

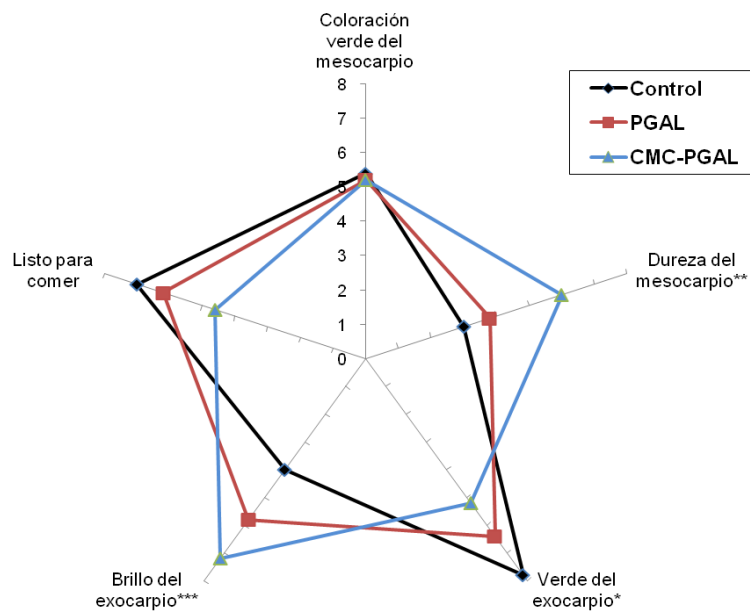
Muestras	UFC/g				
	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
<b>Control</b>	1 - 2x10 <sup>7</sup>	<100 *	7x10 <sup>2</sup> *	2x10 <sup>3</sup> *	5x10 <sup>5</sup> *
<b>PGAL</b>	1 - 2x10 <sup>7</sup>	<100 *	<100 *	<100 *	1x10 <sup>4</sup> *
<b>CMC</b>	1 - 2x10 <sup>7</sup>	<100 *	<100 *	<100 *	8x10 <sup>2</sup> *
<b>CMC-PGAL</b>	1 - 2x10 <sup>7</sup>	<100 *	<100 *	<100 *	<100 *

### 6.11. Análisis sensorial

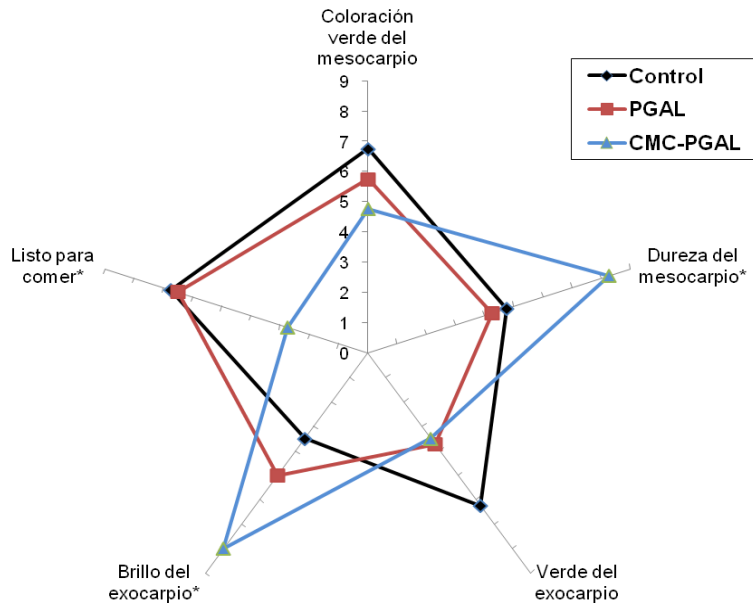
La evaluación sensorial del Lote 1 fue efectuada con aguacates almacenados en condiciones óptimas. Desde el día 0 (Figura 26) de la evaluación, el día 14 (Figura 27) y el día 21 (Figura 28). Se observó que el brillo de la cáscara del grupo recubierto con CMC-PGAL es mayor, presentando diferencias frente al Control, esto es debido a la CMC (Johnston y Banks, 1998). La coloración de la pulpa (mesocarpio) no se apreciaron diferencias significativas entre las muestras ni entre el tiempo, lo que concuerda con las escalas UP evaluadas en la sección 6.9. La pulpa de los frutos recubiertos con CMC-PGAL fue siempre más dura que el Control, lo que concuerda con las características de textura evaluadas por el analizador de Textura solo el día 21 (Figura 16). El color de la cáscara fue evaluado como más verde en el grupo Control, esto puede deberse al característico color negro que posee el PGAL. Las característica "Listo para comer" presentó diferencias significativas en el día 21, donde las muestras de PGAL y Control, se consideraban "Listas para comer", mientras que el grupo CMC-PGAL aún no estaba considerado listo para comer. Sin embargo, 7 días después los frutos presentaban crecimiento de raíces, y no se encontraban en condiciones deseables para ser consumidos. Lo que implica que el recubrimiento de CMC-PGAL aportó características visuales más atractivas, pero debido a su dureza este presentó una diferencia sustancial y la calificación mínima en "listo para comer".



**Figura 26.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 1, al día 0.  
\*Diferencias significativas entre las muestras.



**Figura 27.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 1, al día 14.  
\*Diferencias significativas entre las muestras. \*\* Diferencias significativas entre CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL. \*\*\*CMC-PGAL y Control son significativamente diferentes.



**Figura 28.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 1, al día 21.  
 \*\*Diferencias significativas entre CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.

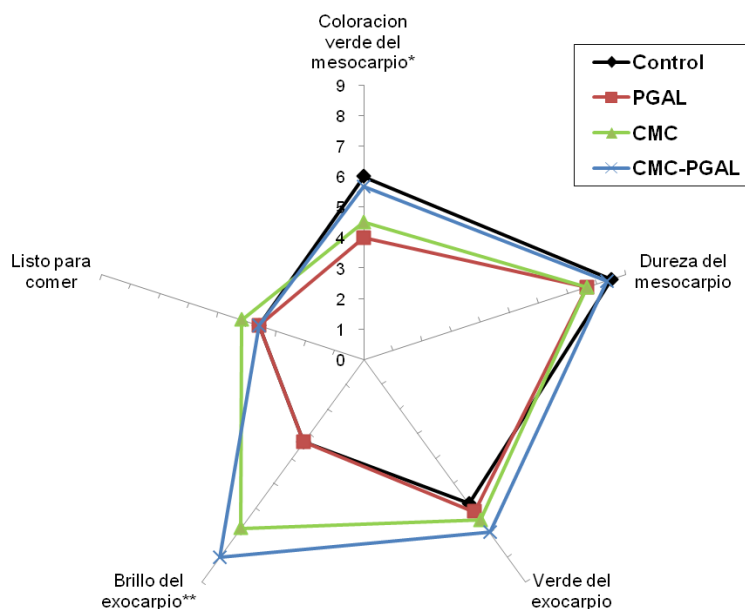
En el Lote 2 se evaluaron ambas condiciones, en donde se encontró significativamente diferente el brillo de la cáscara en casi todas las evaluaciones los aguacates recubiertos con CMC o CMC-PGAL presentaban un mayor brillo en su cáscara diferenciándose del grupo Control y PGAL. Solo en el día 7 en condiciones óptimas el grupo recubierto con CMC (Figura 32) presentó una diferencia significativa con respecto a los demás obteniendo la calificación más alta en el brillo de la cáscara. Lo que confirma que el CMC y el glicerol (plastificante) le proporcionan un brillo significativo al exocarpio de aguacate y haciéndolo visualmente más atractivo (Johnston y Banks, 1998).

Solo se presentó una diferencia significativa en el color de la pulpa (mesocarpio) en el día 0 (Figura 31), esto se debe a diferencias significativas entre los jueces, en los demás días y condiciones no se mostraron diferencias significativas en el color, lo que presenta similitud con la sección 6.9.

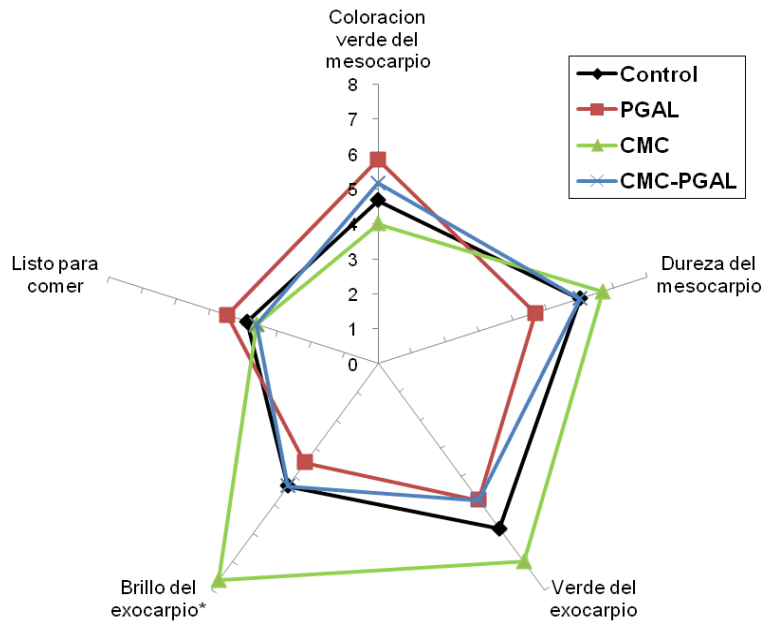
Entre las condiciones óptimas (Figura 32) y adversas (Figura 33) al día 7, además del brillo en cáscara, se observó diferencia significativa en la dureza de la

pulpa a condiciones adversas obteniéndose una mayor dureza por parte del grupo CMC-PGAL y menor dureza del grupo CMC. Sin embargo, estas diferencias no son evidentes en dureza (Figura 17) ni en cohesividad (Figura 21). En el día 14 en condiciones óptimas (Figura 34), también se presentaron diferencias significativas en dureza obteniendo la mayor calificación para el grupo CMC y la menor para el PGAL, sin embargo no hay concordancia con la dureza analizada en la sección 6.7. (Figura 17 y 21).

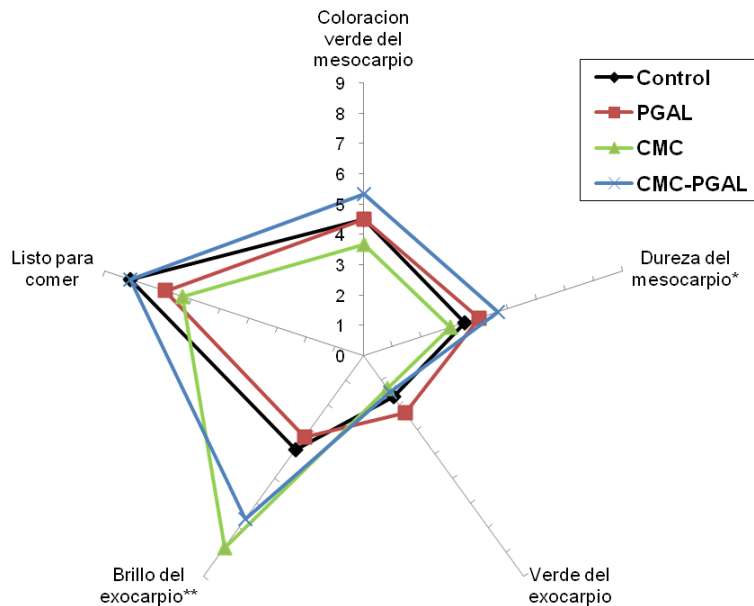
En las 2 últimas semanas de muestreo del Lote 2 en condiciones óptimas (Figuras 35 y 36), se presentó una diferencia significativa en el verdor de la cáscara, obteniéndose una mayor evaluación para los grupos Control y CMC con respecto a los grupos PGAL y CMC-PGAL que se evaluaron con una coloración menos verde, lo que se puede deber al característico color del PGAL, debido a que este último presenta una mayor conservación a nivel morfológico (Tabla 5). Por otro lado, no se presentaron diferencias en “Listo para comer” con respecto a la evaluación por días y se observa que la calificación va aumentando con el avance de los días conforme a su maduración.



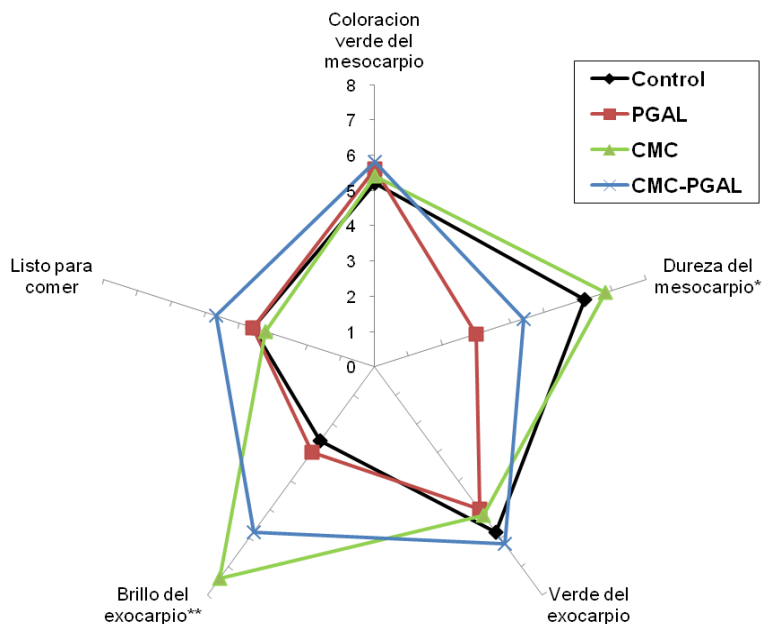
**Figura 29.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 0.  
 \*Diferencias significativas entre Control a las muestras PGAL y CMC. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.



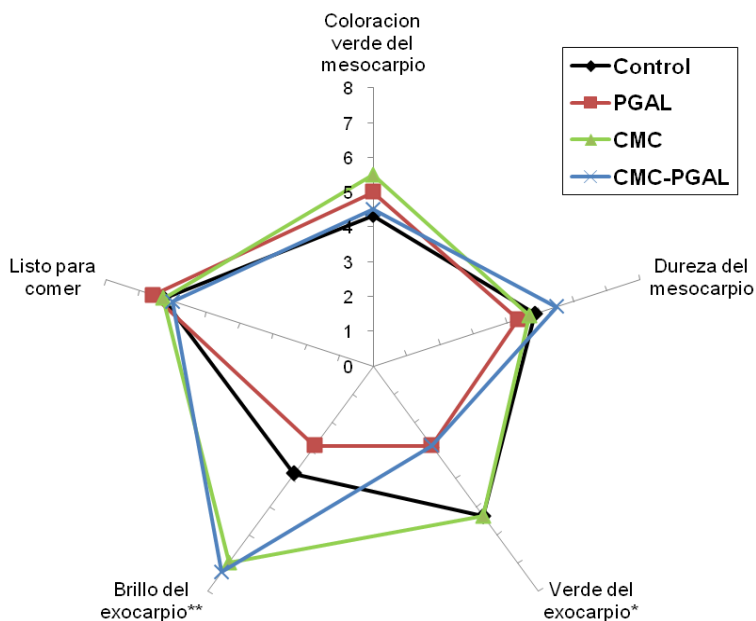
**Figura 30.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 7 en condiciones óptimas. \*Diferencias significativas entre CMC y las demás muestras.



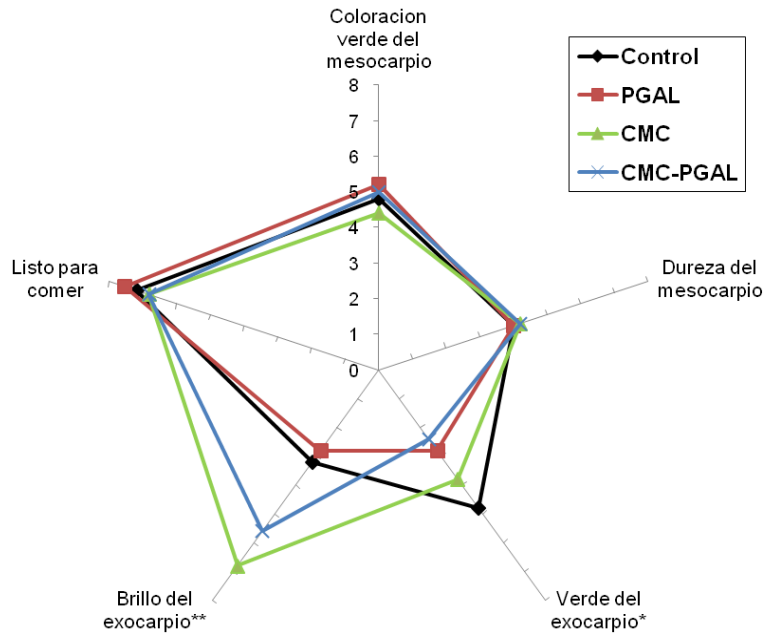
**Figura 31.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 7 en condiciones adversas. \*Diferencias significativas entre CMC y CMC-PGAL. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.



**Figura 32.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 14 en condiciones óptimas. \*Diferencias significativas entre CMC y PGAL. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.



**Figura 33.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 21 en condiciones óptimas. \*Diferencias significativas de Control y CMC a las muestras PGAL y CMC-PGAL. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.



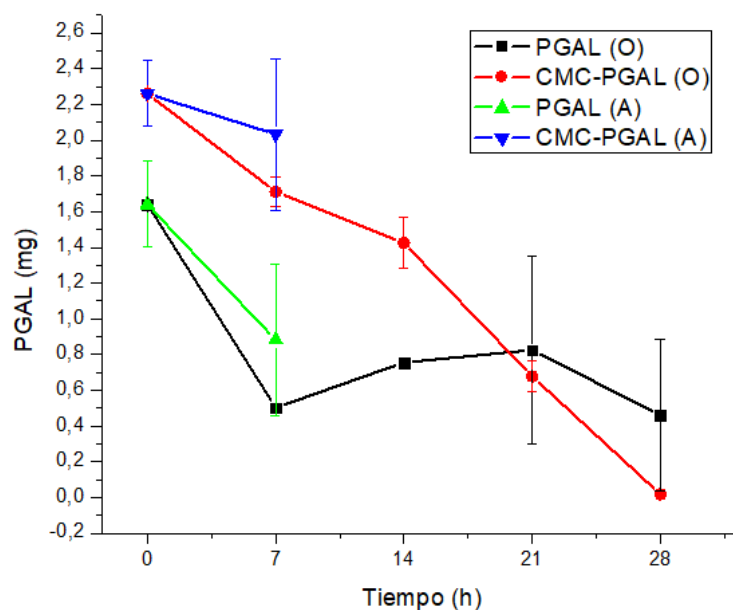
**Figura 34.** Cambios sensoriales entre las muestras del Lote 2, al día 28 en condiciones óptimas. \*Sin diferencias significativas entre PGAL y CMC-PGAL. \*\*Diferencias significativas de CMC y CMC-PGAL a las muestras Control y PGAL.

Lewis *et al.* (1979) examinaron aguacates Hass por color, textura, sabor y aceptabilidad general, aunque no se utilizaron descriptores. Se descubrió que el sabor es el atributo más importante que afecta la aceptabilidad, y las clasificaciones de aceptabilidad aumentan a medida que el fruto madura. Con base en lo anterior se evaluó “Listo para comer”, siendo la calificación a la suma de atributos evaluados (color en pulpa, dureza de la pulpa, color verde y brillo en cáscara) relacionados con la madurez y se observa un decremento con el tiempo en todos los grupos experimentales.

## 6.12. Determinación del PGAL en aguas de lavado

Solo se analizaron las aguas de lavado del Lote 2, en la Figura 35 se observa que en todos los tratamientos la cantidad de PGAL en el agua de lavado disminuye con respecto al día 0; en el caso del grupo CMC-PGAL (O) y PGAL (A) disminuye con el tiempo, esto podría significar que el PGAL se adhiere al fruto al

pasar el tiempo y que en el caso del grupo CMC-PGAL podría haber una interacción con el exocarpio del fruto que disminuye la cantidad al pasar el tiempo.



**Figura 35.** Cantidad de PGAL por aguacate (Lote 2) en aguas de lavado durante los diferentes tiempos y tratamientos.

## 7. Conclusiones

Se obtuvo exitosamente el poli(ácido gálico) y su entrecruzado con carboximetilcelulosa.

La pérdida de peso en los frutos de aguacate es menor con recubrimientos de PGAL y CMC-PGAL, estos recubrimientos proporcionan características de textura en mesocarpio más consistentes en cada evaluación y específicamente el PGAL mantiene la estructura del exocarpio. El PGAL en general proporciona una tonalidad más oscura a los frutos, y el entrecruzado con CMC proporciona un brillo significativo al exocarpio de aguacate. La concentración de PGAL en los recubrimientos no presentó actividad antimicrobiana frente a *L. monocytogenes*, sin embargo la película CMC-PGAL inhibió a la bacteria.



## 8. Trabajo futuro

Variar la concentración de PGAL en los recubrimientos, evaluar la permeabilidad a gases de los distintos recubrimientos. Así mismo detallar las variables presentes con pretratamientos en los fruto.

## 9. Referencias

1. Aguilar. M., San Martin. E., Tomás. S., Cruz. A., & Jaime. M. (2008). “Gelatine – Starch Films : Physicochemical Properties and Their Application in Extending the Post-Harvest Shelf Life of Avocado ( Persea Americana ). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. (88): 185–93.
2. Ashton, O., Wong, M., McGhie, T., Vather, R., Wang, Y. Raquejo, C., Ramankutty, P., & Woolf, A. (2006). Pigments in avocado tissue and oil , *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 ( 26 ), 10,151 – 10,158 .
3. Belitz, H., Grosch, W., Schieberle, P. (2006) Enzymes. *Food Chemistry*. Germany: Springer, 105-106.
4. Bourne, M. (2002). Food Texture and Viscosity. 2nd Edition. *Food Science and Technology*, International Series, 257–291.
5. Brown, H., & Williams, J. (2003). Packaged product quality and shelf life In: Brown H., Coles R., Day B., Edwards M., Girling P., Harte B., Kirwan M., May N., McDowell D., Mullan M., Page B., Strawbridge J., Tucker G., Twede D., Williams J. *Food Packaging Technology*. Canada, Blackwell Publishing, 65-69.
6. Chen, Y., Evans, P., Thomas, S., Hammack, E., Brown, W., & Macarisin D. (2016). Internalization of *Listeria monocytogenes* in Whole Avocado. *Journal of Food Protection*, Vol. 79, No. 8. 1440–1445.
7. Civille, V., & Szczesniak, S. (1973). Guidelines to training a texture profile panel. *Journal of Texture Studies*, 4, 204–223.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Vol. 29 No. 1.

9. Committee on Codex Specifications. (2004). Food and Nutrition Board, Division of Biological Sciences, Assembly of Life Sciences, National Research Council. 5 ed Food chemicals codex. Washington, D.C.:National Academy Press.
10. Cornejo, M. (2010). Deshidratación de rebanadas de aguacate variedad Hass por el método osmo-vac (osmótico-vacío) y evaluación de la calidad del producto. Tesis IPN. México, 27.
11. Cutting, J., Bower, J., & Woistenholme, B. (1988). Effect of harvest date and applied ABA on browning potential of avocado fruit. *Journal of Horticultural Science*, 63, 509–515.
12. Del Valle, V., Hernández, P., Guarda, A., & Galotto, M. (2005). Development of a cactusmucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chem*, 9, 751–756
13. DeMan, J. (1999). Capter 6 Color in: Principles of Food Chemistry, Era edition, Maryland, Aspen Publishers, 229-262.
14. Díaz, J., Rosas, A., Vivaldo, E., Hernández, J., Gracia, I., Vázquez, H., Ordoñez, L., Roquero, P., & Gimeno, M. (2017). Development and characterization of a flexible electrochromic device based on polyaniline and enzymatically synthesized poly (gallic acid), *Synthetic Metals* 223, 43-48.
15. FAO, FAOSTAT. (2018). Datos estadísticos de agricultura [En línea] (Actualizado en 2017) disponible en: [www.fao.org/faostat/es/#data/QC](http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC) [Último acceso 20 de julio de 2018].
16. FAO. (2013). Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en México 2012, [En línea] Disponible en: <ftp://ftp.sagarpa.gob.mx/CGCS/Documentos/2013/Panorama%20Seguridad%20Alimentaria%20Mexico%202012.pdf> [Último acceso 3 de octubre de 2017].
17. FDA. (2018). FDA Sampling Fresh Herbs, Guacamole and Processed Avocado [En línea] Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/NewsEvents/ConstituentUpdates/ucm597356.htm> [Último acceso 20 de agosto de 2018].

18. Freitag, N. (2006). From hot dogs to host cells: how the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* regulates virulence gene expression. *Future Microbiol*, 1: 89-101.
19. Gennadios, A., Weller, C., & Gooding, C. (1994). Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of food engineering*, 21(4), 395-409.
20. Gutierrez, T., Tapia, M., Pérez, E., & Famá, L. (2015). Structural and mechanical properties of edible films made from native and modified cush-cush yam and cassava starch, *Food Hydrocolloids* (45) 211-217.
21. Hassan, E., & Norziah, M. (2012). Starchgelatin edible film: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer, *Food Hydrocolloids* (26), 108-117.
22. Hernández, E. (2005). Evaluación Sensorial. Bogotá. UNAD.
23. Hohmann, E., & Portnoy, A. (2008). Infections caused by *Listeria monocytogenes*. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al., editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th Ed. New York: McGraw-Hill Education, 895-897.
24. Iturriaga, M., Arvizu, S., & Escartin, E. (2002). Behavior of *Listeria monocytogenes* in avocado pulp and processed guacamole. *J. Food Prot.* 65, 1745–1749.
25. Jeong, J., Huber, D., & Sargent, S. (2003). Delay of avocado (*Persea americana*) fruit by 1-methylcyclopropene and wax treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 28, 247–257.
26. Johnston, J., & Banks, N. (1998). Selection of a surface coating and optimization of its concentration for use on “Hass” avocado (*Persea americana* Mill) fruit. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 26(2), 143–151.
27. Jung, H., & Gennadios, A. (2005). Edible films and Coating: a review *Innovations in Food Packaging*, 9, 213-255.
28. Kathariou, S. (2002). *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. *J. Food Prot.* 65:1811–1829.

29. Kader, A.A. (1986). Biochemical and physiological basis for effects of controlled atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technology*, 40, 99–100, 102–104.
30. Kremer, S., & Duvenhage, A. (1997). Alternatives to polyethylene wax as post-harvest treatment for avocados. *South Africa Avocado Growers Association. Yrb.*, 20, 97–98.
31. Lee S., Young R., Schiffman, P., & Coggins, C. (1983). Maturity studies of avocado fruit based on picking dates and dry weight, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 108, 390-394.
32. Lewis, C., Dettman, E., & Battye, W. (1979). The use of test panels in evaluating the maturity of NSW avocados, *Food Technol Aust*, 31, 394 – 396.
33. López, J., Hernández, J. M., Roquero, P., Montiel, C., Shirai, K., Gimeno, M., & Bázquez, E. (2013). *Trametes versicolor* laccase oxidation of gallic acid toward a polyconjugated semiconducting material. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 97, 100-105.
34. Maftoonazad, N., & Ramaswamy H. (2005). Postharvest Shelf-Life Extension of Avocados Using Methyl Cellulose-Based Coating. *LWT* (38), 617–24.
35. McMullen, D., & Freitag, N. (2015). *Molecular Medical Microbiology, Three-Volume Set Listeria Monocytogenes*. 1345-1361.
36. Neiras, G., & Cañas, L. (2007). Procedure to measure contact angles in fine divided solids, *Scientia et Technica Año XIII, No 36, Pereira*, 833-38.
37. NOM-110-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Norma Oficial Mexicana. México.
38. Norma ISO 6887-1983 (E) Microbiology General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination. International Organization for Standardization.
39. NMX-FF-016-SCFI-2016 Productos alimenticios no industrializados para uso humano – fruta fresca – Aguacate (*Persea americana* Mill) – especificaciones (cancela a la nmx-ff-016-scfi-2006).
40. OPS/OMS. (2015). Enfermedades transmitidas por alimentos [En línea] Disponible en:

[http://www.paho.org/mex/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1066:fomentaran-opsoms-y-fao-acciones-integradas-de-agricultura-alimentacion-nutricion-y-salud](http://www.paho.org/mex/index.php?option=com_content&view=article&id=1066:fomentaran-opsoms-y-fao-acciones-integradas-de-agricultura-alimentacion-nutricion-y-salud) [Último acceso 3 de octubre de 2017].

41. Rodríguez, J., Morcuende, D., Andrade, M., Kylli, P., & Estévez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 5625–5635.
42. Romero, A., Tecante, A., García, R., Montiel, C., Del Valle, L., Puiggali, J., & Gimeno, M. (2017). Growth of epithelial cells on films of enzymatically synthesized poly(gallic acid) crosslinked to carboxymethylcellulose, *RSC Advances*, 7, 17660–17669.
43. SAGARPA. (2011). Subsecretaria de fomentos a los agronegocios Monografía de cultivos, Aguacate, México, 1-10.
44. Sánchez, R., Romero, A., Montiel, C., Malgarejo, Y., Sánchez, C., Lugo, H., Cabello, B., García, R., Velasquillo, C., & Gimeno, M. (2017). Cytoprotective effect of the enzyme-mediated polygallic acid on fibroblast cells under exposure of UV irradiation, *Materials Science and Engineering*, 76, 417–424.
45. Saucedo, S., Rojas, R., Aguilera, A., Saenz, A., La Garza, H., Jasso, D., & Aguilar, C. (2009). Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado, *Food Research International*, 42, 511–515.
46. Schroeder, C. (1950). The structure of the skin or rind of the avocado, *California Avocado Society 1950 Yearbook* 34, 169-176.
47. Secretaría de Economía. (2018). Se consolida México como el primer productor de aguacate a nivel mundial con casi dos millones de toneladas en 2017 [En línea] (Publicado el 31 de enero de 2018). Disponible en: <https://www.gob.mx/sagarpa/prensa/se-consolida-mexico-como-el-primer-productor-de-aguacate-a-nivel-mundial-con-casi-dos-millones-de-toneladas-en-2017?idiom=es> [Último acceso 20 de junio de 2018].
48. SINAVE. (2014). Programa sectorial de salud [En línea] Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/225246/3\\_Enfermedades\\_Transmitidas\\_por\\_Alimentos](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/225246/3_Enfermedades_Transmitidas_por_Alimentos) [Último acceso 23 de septiembre de 2017].

49. Scott, K., & Chaplin, R. (1978). Reduction of chilling injury in avocado stored in sealed polyethylene bags. *Tropical Agriculture (Trinidad)*, 55, 87–90.
50. Tesfay, Z., Bertling I., & Bower, P. (2011). Effects of postharvest potassium silicate application on phenolics and other anti-oxidant systems aligned to avocado fruit quality. *Postharvest Biology and Technology* 60, 92–99.
51. Tesfay, Z., & Magwaza, S. (2017). Evaluating the efficacy of moringa leaf extract, chitosan and carboxymethyl cellulose as edible coatings for enhancing quality and extending postharvest life of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *Food Packaging and Shelf Life* 11, 40–48.
52. Yahia, E. (2011). Chapter 8 Avocado in Rees D., Farrell G. Orchard J., *Crop Postharvest: Science and Technology*, Vol 3, Perishables Wiley-Blackwell Publishing, Oxford, UK.
53. Yahia, E., & Gonzalez, G. (1998). Use of passive and semi-active atmospheres to prolong the postharvest life of avocado fruit. *Food science and Technology*, 31, 602–606.
54. Yahia, E., & Woolf, A. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) In: Yahia, E. *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: Volume 2: Açaí to citrus*. New Zeland, 125-185.
55. Yaman, Ö., & Bayoindirli, L. (2002). Effect of and edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *Food science and Technology*, 35, 146–150.

## Apéndice A

Curva patrón de PGAL en agua

**Tabla A.1.** Absorbancia en función de la concentración de PGAL

Concentración PGAL (mg mL <sup>-1</sup> )	Absorbancia
0,2	1,429
0,1	0,727
0,05	0,366
0,025	0,184
0,0125	0,094

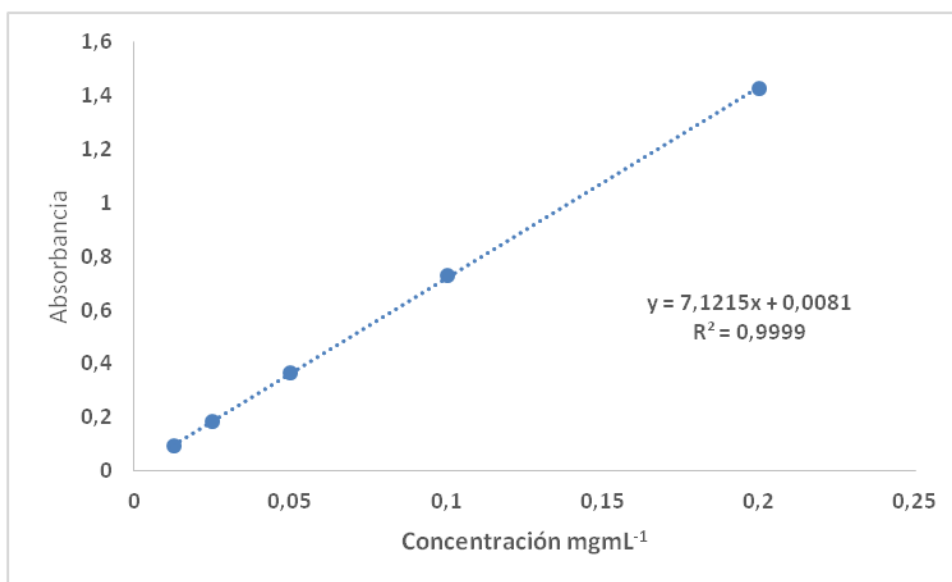


Figura A.1. Curva patrón de PGAL en agua.