



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**"DIVERSOS RECUBRIMIENTOS DE MUCÍLAGO DE NOPAL CON
ACEITES ESENCIALES PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS EN
PAPAYA"**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN
CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

PRESENTA:

PEDRO SOL FLORES



**DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**Enero de 2016
Chapingo, Estado de México**

"DIVERSOS RECUBRIMIENTOS DE MUCÍLAGO DE NOPAL CON
ACEITES ESENCIALES PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS EN
PAPAYA"

Tesis realizada por Pedro Sol Flores bajo la dirección del Comité Asesor
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para
obtener el grado de:

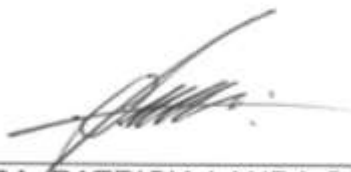
MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA

DIRECTOR:



DR. JOSÉ JOEL ENRIQUE CORRALES GARCÍA

ASESOR:



DRA. PATRICIA LANDA SALGADO

ASESOR:



DRA. MARÍA DEL ROSARIO GARCÍA MATEOS

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento para la realización de mis estudios de Posgrado.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por el apoyo financiero otorgado mediante el Programa de Becas para Tesis de Posgrado 2013.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Departamento de Ingeniería Agroindustrial, al personal docente que me ayudó en mi formación.

Al comité asesor, Dr. Joel Corrales García, Dra. María del Rosario García Mateos y a la Dra. Patricia Landa Salgado.

A la Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada y el Dr. Salvador Valle Guadarrama por asesorarme cuando lo necesité.

A mi compañero M. C. Alejandro Martínez Velazco por la asesoría brindada en la parte metodológica de este trabajo.

A mis compañeros de grupo: Eduardo, Ricardo, Leidy, Sergio, Francis, Laura, Lilia, Carmen y Miguel, por su amistad.

A Esperanza Salinas Banda, por su amabilidad y por su actitud de servicio.

DEDICATORIA

A mi esposa Katherine y a mi hija Regina.

Por su comprensión y amor.

A mi madre, Delia, mi hermana Alma y mi hermano Miguel Ángel

Por su estoicismo y las ganas de salir adelante.

A mi Familia, Flores Velasco, por alojarme cuando más lo necesité.

A mi abuela Hortencia, por darme su apoyo.

¡Muchas gracias!

“DIVERSOS RECUBRIMIENTOS DE MUCÍLAGO DE NOPAL CON ACEITES ESENCIALES PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS EN PAPAYA”

VARIOUS CACTUS MUCILAGE COATINGS WITH ESSENTIAL OILS FOR THE CONTROL OF PATHOGENS IN PAPAYA

Pedro Sol-Flores¹; Joel Corrales García²

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue desarrollar y caracterizar películas biodegradables a base de mucílago de nopal en combinación con otros polímeros y adicionadas con aceites esenciales mediante emulsiones, a las que se les evaluaron propiedades de: luminosidad, ángulo de tono, chroma, espesor, esfuerzo de tensión, porcentaje de elongación y permeabilidad a vapor de agua; así como su empleo como recubrimiento en papaya y su evaluación *in vivo* sobre *Salmonella* Typhimurium e *in vitro* en *Colletotrichum gloeosporioides*. Las películas formadas con mucílago de nopal, carboximetilcelulosa y aceites esenciales fueron las que mejores características fisicoquímicas y de barrera obtuvieron. Se logró inhibir el crecimiento *in vitro* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, no así para el experimento con *Salmonella* Typhimurium *in vivo*. De igual forma los recubrimientos usados en papaya lograron mantener mejores características de calidad respecto a los frutos testigo.

Palabras Clave: Mucílago de nopal, Aceites esenciales, *Salmonella* Typhimurium, *Colletotrichum gloeosporioides*.

ABSTRACT

The aim of this study was to develop and characterize biodegradable films based cactus mucilage in combination with other polymers and with added essential oils by emulsions, to which they were assessed properties: brightness, hue angle, chroma, thickness, effort stress, percent elongation and water vapor permeability; and their use as coating papaya and *in vivo* assessment of *Salmonella* Typhimurium and *in vitro* *Colletotrichum gloeosporioides*. Films formed with cactus mucilage carboxymethylcellulose and essential oils were the best physicochemical and barrier characteristics obtained. Was achieved inhibit the *in vitro* growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, not for the experiment with *Salmonella* Typhimurium *in vivo*. Likewise, the coatings used in papaya managed to maintain best quality characteristics regarding the control fruits.

Key words: Nopal Mucilage, Edible Coat, Essential Oil, *Salmonella*, *Colletotrichum*.

¹Tesista

²Director de Tesis

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. JUSTIFICACIÓN	4
3. OBJETIVOS.....	7
3.1 Objetivo General.....	7
3.2 Objetivos particulares	7
4. REVISIÓN DE LITERATURA	8
4.1 Generalidades del nopal.....	8
4.1.2 Clasificación botánica	11
4.1.3 Importancia económica.....	11
4.1.4 Usos del nopal.....	12
4.1.5 Propiedades funcionales del nopal	13
4.1.6 El mucilago de nopal	14
4.2 Emulsiones	16
4.2.1 Clasificación de las emulsiones.....	17
4.3 Agentes emulsificantes y plastificantes	17
4.4 Recubrimientos y películas comestibles: Generalidades.....	18
4.5 Aceites esenciales y su actividad fungicida en hongos poscosecha.....	20
4.6 Aceites esenciales y su actividad en bacterias que afectan la salud humana	21
4.7 Generalidades de la papaya.....	22
4.7.1 Índice de cosecha	24
4.7.2 Pérdidas poscosecha de frutos de papaya.....	24
4.8 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	25
5. MATERIALES Y MÉTODOS	26
5.1 Materiales	26
5.2 Extracción de mucílago de nopal.....	26
5.3 Dispersión de Polímeros.....	28

5.4 Formulación y preparación de las emulsiones sencillas aceite-en-agua (O/W).....	28
5.5 Elaboración de las películas biodegradables	29
5.6 Caracterización de las películas comestibles	29
5.6.1 Propiedades ópticas	29
5.6.2 Color	29
5.6.3 Evaluación del espesor	30
5.7 Propiedades mecánicas	30
5.8 Propiedades de barrera	31
5.8.1 Permeabilidad al vapor de agua (PVA)	31
5.9 Aislamiento de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> para su evaluación in vitro	34
5.9.1 Preparación del inóculo de <i>Salmonella</i> Typhimurium	35
5.9.2 Evaluación <i>in vivo</i> de las películas como recubrimiento	35
5.9.3 Material biológico.....	35
5.9.4 Tratamiento de los frutos para recubrimiento.....	36
5.9.5 Inoculación de papayas con <i>Salmonella</i> Typhimurium	36
5.9.6 Medición de parámetros físicos de la fruta tratada	37
5.9.6.1 Color	37
5.9.6.2 Pérdida de peso	37
5.9.6.3 Determinación de sólidos solubles totales	37
5.9.6.4 Determinación de pH	37
5.9.6.5 Determinación de acidez titulable.....	38
5.9.6.6 Determinación de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol)	38
5.9.7 Recuperación de <i>S. Typhimurium</i> de papayas inoculadas	39
5.9.8 Evaluación de recubrimientos sobre <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> in vitro	40
5.9.9 Diseño estadístico.....	40
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
6.1 Caracterización de las películas biodegradables a base de mucílago de nopal y aceites esenciales	41

6.1.2 Fase preliminar	41
6.2 Resultados de las propiedades físicas	42
6.2.1 Color	42
6.2.2 Angulo de tono (h°) “Hue”	44
6.2.3 Chroma.....	45
6.2.4 Espesor	46
6.3 Propiedades Mecánicas de las películas	48
6.3.1 Porcentaje de elongación (%E)	48
6.3.2 Esfuerzo de tensión (ET)	51
6.3.3 Permeabilidad a Vapor de Agua (PVA).....	53
7. Medición de parámetros físicos de la fruta tratada con los recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal y aceites esenciales.....	57
7.1.1 Color	57
7.1.2 Pérdida de Peso	59
7.1.3 Solidos solubles totales.....	60
7.1.4 Evaluación del pH	61
7.1.5 Acidez titulable.....	62
7.1.7 Determinación de acetaldehído y etanol.....	64
7.2 Resultados de la recuperación de Salmonella en frutos de papaya.	66
7.3 Resultados de la evaluación de recubrimientos sobre <i>Colletotrichum gloeosporioides in vitro</i>	68
8. CONCLUSIONES.....	71
9. BIBLIOGRAFÍA.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de nopal <i>Opuntia ficus indica</i>	9
Figura 2. Porcentaje de superficie sembrada de papaya por estado.....	23
Figura 3 Porcentaje de Luminosidad de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.. ..	42
Figura 4. Angulo de tono (°) Hue, de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.	44
Figura 5. índice de saturación Chroma de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.. ..	46
Figura 6. Espesor (mm) de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.. ..	47
Figura 7. Porcentaje de elongación (%) de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.	49
Figura 8. Esfuerzo de tensión (Mpa) de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.	51
Figura 9. Permeabilidad a vapor de agua ($\text{g/m}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$) de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.	54
Figura 10. Evolución del ángulo de tono “hue” (°) en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.....	58

Figura 11. Evolución de pérdida de peso en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.....	59
Figura 12. Evolución de sólidos solubles totales en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.....	61
Figura 13. Evolución del cambio de pH en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionados con aceites esenciales de canela y tomillo.....	62
Figura 14. Evolución de la acidez titulable (mg de ácido cítrico/100 g) en papayas con recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.....	63
Figura 15. Evolución del contenido de etanol en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo	65
Figura 16. Evolución del contenido de acetaldehído en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo.....	66
Figura 17. Evolución del descenso de $\log_{10}$ UFC/g en papayas.	68
Figura 18. Evolución del incremento micelial de <i>colletotrichum gloeosporioides</i> evaluados <i>in vitro</i> almacenados durante 15 días a 24 ± 0.5 °C.....	70

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del nopal.....	11
Cuadro 2. Aceites esenciales con efecto fungicida contra algunas especies de hongos postcosecha importantes en la producción hortofrutícola.....	21
Cuadro 3. Efecto bactericida de los aceites esenciales en bacterias patógenas en humanos.....	22
Cuadro 4. Componentes de los tratamientos formulados para la elaboración de películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales.....	28
Cuadro 5. Composición de emulsiones para la formación de películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal y aceites esenciales de canela y tomillo.....	41
Cuadro 6. Comparación de la permeabilidad a vapor de agua (a $25^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$) de algunos polímeros sintéticos y biodegradables.	55

1. INTRODUCCIÓN

El nopal (*Opuntia* spp) es uno de los vegetales más estrechamente vinculados al desarrollo de las civilizaciones que conformaban el norte de Mesoamérica, forma parte del paisaje rural mexicano, tanto en forma de cultivo o como parte de la vegetación natural. *Opuntia* spp, tiene una gran diversidad de usos: como alimento humano (frutos y pencas), como forraje para la alimentación del ganado, como especie medicinal, como adherente para la compactación de suelos y la conservación de pinturas rupestres, como especie ornamental, cerco vivo y como sustrato para el cultivo de insectos productores de colorantes naturales. La gran mayoría de estos usos están ligados a la alta concentración de mucílago que presentan los cladodios de las plantas de nopal.

La alta concentración de mucílago encontrado en algunas especies de nopal, así como su conformación polimérica y propiedades reológicas (en especial la elasticidad) de este compuesto, permite sugerir un potencial de consideración de estas cactáceas como materia prima para la elaboración de películas o recubrimientos biodegradables, o bien, para la obtención de aditivos destinados a la mejora de los alimentos, principalmente la textura.

Por otro lado, se ha reportado que durante el manejo poscosecha de los productos vegetales se pueden estimar pérdidas del 40% del total cosechado. Las pérdidas varían entre productos, áreas de producción y época del año (Aular, 2006). Una de las principales razones que generan estas pérdidas son las enfermedades poscosecha causadas por hongos de diversos géneros. Además de lo anterior, también existe la posibilidad de que bacterias patógenas de humanos tales como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., se encuentren como contaminantes en la superficie de frutos y afecten la salud de las personas que los consumen (Ogden *et al.*, 2005; Beverly *et al.*, 2008).

En el caso de los hongos, éstos no aparecen durante el crecimiento de las plantas, en ocasiones permanecen en estado latente hasta la maduración del producto hortícola y otros se adquieren durante la cosecha, el transporte y/o el manejo del producto. En relación a las bacterias enteropatógenas, éstas pueden contaminar el producto durante la etapa precosecha principalmente por aguas contaminadas o durante la manipulación de los productos hortícolas (Ogden *et al.*, 2005; Beverly *et al.*, 2008).

Para prolongar la vida poscosecha de los productos hortofrutícolas se han implementado diferentes tecnologías, entre ellas el almacenamiento a bajas temperaturas, utilización de empaques plásticos para crear atmósferas modificadas, la aplicación de tratamientos hidrotérmicos, irradiación y formulaciones que contienen agentes biológicos, entre otras (Quezada *et al.*, 2003).

Una alternativa con potencial viable para la conservación de frutas y vegetales frescos es la utilización de películas y recubrimientos biodegradables multicomponentes. Estas películas y recubrimientos pueden elaborarse con ingredientes básicos adecuados al producto para brindarle la protección de barrera deseada. Además, sirven como vehículos para incorporar aditivos como antioxidantes, colorantes y aceites esenciales mejorando su funcionalidad, así como para prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos en la superficie de los productos hortofrutícolas (Nussinovitch y Lurie, 1995; Cagri *et al.*, 2004; Martin-Belloso *et al.*, 2005).

Las películas biodegradables consisten en una capa delgada que se pre-forma o se forma directamente sobre la superficie de los frutos como una envoltura protectora (Del-Valle *et al.*, 2005; Bravin *et al.*, 2006). Se elaboran a partir de una gran variedad de proteínas, polisacáridos y lípidos ya sea como componentes únicos o combinados, con la finalidad de desarrollarlas con mejores propiedades (Kester and Fennema, 1986). El mecanismo por el cual los recubrimientos conservan la calidad de frutas y vegetales se debe a que crean una barrera física contra los gases, produciendo una atmósfera modificada al reducir la

disponibilidad de O₂ e incrementar la concentración de CO₂ (Avena-Bustillos *et al.*, 1997; González-Aguilar *et al.*, 2005).

La pérdida de humedad en frutas y vegetales frescos disminuye la firmeza y el peso de los productos, lo cual afecta su calidad y como consecuencia ocasiona pérdidas económicas durante su comercialización (Avena-Bustillos *et al.*, 1994). Ante este panorama y dada la creciente demanda de alimentos frescos, de fácil manipulación y de alta calidad, por parte de los consumidores, se plantea el reemplazo de los métodos tradicionales de preservación de productos hortofrutícolas, que permitan mejorar su apariencia y conserven sus propiedades sensoriales; una de estas alternativas es la formulación de una película biodegradable a base de mucilago de nopal y otros biopolímeros adicionada con aceites esenciales de canela y tomillo para el control biológico *in vivo* de *Salmonella* Typhimurium e *in vitro* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*.

2. JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial desde hace varias décadas el nopal ha adquirido interés para recuperar zonas áridas y semiáridas, sobre todo de países en vías de desarrollo. En nuestro país, este cultivo se ha aprovechado en todas sus facetas de explotación, aunque hay más de 500 mil ha de nopal sembradas y más de 3 millones de ha silvestres, las cuales no se cosechan en su totalidad, principalmente por falta de demanda.

Recientemente la investigación en empaques de alimentos se ha centrado más en películas o recubrimientos biodegradables que se obtienen a partir de vegetales que son utilizadas para la conservación poscosecha de frutos. Dentro de estas fuentes vegetales se puede incluir como polisacárido al mucílago de nopal, se ha propuesto y estudiado la inclusión de éste en la formulación de películas biodegradables, con resultados promisorios.

Por otro lado, los aceites esenciales se encuentran en abundancia en el reino vegetal y se pueden localizar en diferentes partes de la planta por ejemplo: en hojas como albahaca (*Ocimum basilicum* L.), en la corteza de canela, en cáscara de algunas frutas como el limón, mandarina, naranja (*Citrus sinensis* L.) y en frutos de anís (*Pimpinella anisum* L.), (Ronquillo, 2007). Los aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas.

El empleo de aceites esenciales ha resultado útil en el control de pudriciones postcosecha (Daferera *et al.*, 2000). Su efecto es atribuido a la presencia de monoterpenos y compuestos fenólicos que los componen o a la mezcla sinérgica con componentes presentes en menores proporciones (Burt, 2004), entre los que se encuentra el de tomillo (*Thymus vulgaris* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) y

clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunb), entre otros. La incorporación de agentes antimicrobiales o aceites esenciales (anís, canela y tomillo) en películas, cubiertas o empaques, se ha probado en varios productos alimenticios como carne y productos de panadería, inhibiendo el desarrollo de hongos, bacterias y levaduras.

Plotto *et al.* (2003), adicionaron aceite de tomillo (10 g L^{-1}) al recubrimiento, y obtuvieron una significativa inhibición del crecimiento de *B. cinérea* en frutos de tomate; Raybaudi-Massilia *et al.* (2008), al incorporar recubrimientos a base de alginato y glicerol, y 0.3% de ácido palmítico en melón cortado, inhibieron el crecimiento de *Salmonella entérica*, además que conservaron el producto fresco con buenos parámetros de calidad. La actividad antifúngica y antimicrobiana está relacionada a la respectiva composición de aceites volátiles de cada planta (Dorman & Deans, 2000). La hidrofobicidad (baja polaridad de sus compuestos) de los aceites esenciales les permite incorporarse a los lípidos de la membrana bacteriana, ocasionando trastornos en su estructura y permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros compuestos (Bosquez-Molina *et al.*, 2009).

Por otra parte, *Colletotrichum gloeosporioides* ocasiona la enfermedad conocida como antracnosis en una gran variedad de frutos, se le ha considerado como la enfermedad poscosecha más importante en Hawái, México, India y en muchas otras regiones tropicales. Los productores han estimado pérdidas en poscosecha de fruta de papaya fresca entre 40 y 100%. La antracnosis es considerada la principal enfermedad de frutos de papaya en postcosecha, sin embargo *C. gloeosporioides* también induce otro tipo de síntomas como el pelado del fruto, la mancha chocolate y la pudrición basal. En México el control de la antracnosis se ha basado en el uso de fungicidas, no obstante su control ha sido deficiente debido a la adquisición de resistencia (Ronquillo *et al.*, 2007).

En este sentido, es importante mencionar que existen muy pocos reportes o estudios sobre la aplicación de mucílago y aceites esenciales de tomillo y canela para la formulación de películas biodegradables y su uso como recubrimiento *in vivo* contra *Salmonella* Typhimurium en frutos de papaya, así como su evaluación

in vitro sobre *C. gloeosporioides*, por lo que se plantea que las películas y recubrimientos elaborados a base de mucílago-aceites esenciales, ejercerán control en el crecimiento de los microorganismos antes mencionados. Esta investigación contribuye con una alternativa al uso de fungicidas naturales y agentes microbiológicos, además se pretende aprovechar uno de los componentes químicos del nopal, evitando de esta manera el uso de envases de polietileno, dando mayor interés a los recursos de nuestro país.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

- Elaborar y caracterizar películas biodegradables elaboradas a base de mucilago de nopal con aceites esenciales de tomillo y de canela para el control *in vivo* en frutos de papaya sobre *Salmonella* Typhimurium e *in vitro* sobre *C. gloeosporioides*

3.2 Objetivos particulares

- Extraer, purificar y pulverizar el mucílago de nopal para su uso en combinación con biopolímeros y aceites esenciales para el desarrollo de emulsiones O/W
- Elaborar y caracterizar películas elaboradas a base de mucilago de nopal con aceites esenciales mediante emulsiones
- Con base en los resultados de caracterización seleccionar la mejor película y usarla como recubrimiento en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) para evaluar el efecto bactericida de los aceites esenciales sobre *Salmonella* Typhimurium así como sus parámetros de calidad
- Evaluar el efecto antifúngico de los recubrimientos a base de emulsiones con aceites esenciales de tomillo y de canela sobre *C. gloeosporioides in vitro*

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Generalidades del nopal

Los nopales son plantas arbustivas, rastreras o erectas, que pueden alcanzar de 3 a 5 m de altura. El sistema radical es muy extenso, densamente ramificado, rico en raíces finas absorbentes y superficiales en zonas áridas de escasa pluviometría. La longitud de las raíces está en relación con las condiciones hídricas y con el manejo cultural, especialmente el riego y la fertilización (Villegas y de Gante, 1997; Granados Sánchez y Castañeda Pérez, 2000; De la Rosa y Santana, 2001). Su tronco es leñoso y mide entre 20 y 50 cm de diámetro. Sus ramas están formadas por cladodios de 30 a 60 cm de largo x 20 a 40 cm de ancho y de 2 a 3 cm de espesor (Figura 1). El cladodio fresco recibe el nombre de nopalito y el adulto de penca. En las pencas, de color verde opaco, se realiza la fotosíntesis, pues éstas remplazan a las hojas con esa función. Se encuentran protegidas por una cutícula gruesa que, en ocasiones, está cubierta de cera o pelos que disminuyen la pérdida de agua, ya que poseen abundante parénquima. En este tejido se almacenan considerables cantidades de agua lo que permite a las plantas soportar largos periodos de sequía. Cabe destacar el papel de los mucílagos (hidrocoloides presentes en este tejido) que tienen la capacidad de retener el agua (Nobel *et al.*, 1992).

Sobre ambas caras del cladodio se presentan las yemas (areolas) que tienen la capacidad de desarrollar nuevos cladodios, flores y raíces aéreas según las condiciones ambientales en las que crece (Granados Sánchez y Castañeda Pérez, 2000). Las areolas presentan en su cavidad espinas, que generalmente son de dos tipos: algunas pequeñas, agrupadas en gran número (gloquidios) y las grandes que son hojas modificadas (Granados Sánchez y Castañeda Pérez,



Figura 1. Planta de nopal (*Opuntia ficus indica*)
Fuente: SIAP (2015)

2000). Presentan pocos estomas por unidad de superficie, con la particularidad de permanecer cerrados durante el día y abiertos en las noches. Esto evita la pérdida de agua por transpiración durante el día y permite, durante las horas nocturnas, la entrada de anhídrido carbónico, materia prima indispensable para la fotosíntesis. La hidratación normal del cladodio alcanza hasta un 95% de agua en peso. Las flores, de 7 a 10 cm de largo, son sésiles, hermafroditas, solitarias y de diversos colores y se desarrollan normalmente en el borde superior de las pencas (Granados Sánchez y Castañeda Pérez, 2000). Su fruto carnoso, llamado tuna, es una falsa baya oval de 5 a 10 cm de largo x 4 a 8 cm de diámetro y su color puede ser amarillo, anaranjado, rojo o púrpuro. La pulpa del fruto presenta numerosas semillas y es dulce, mientras que su epidermis es parecida a la de los cladodios. En terrenos con pH neutro puede llegar a vivir hasta 80 años. Las plantaciones comerciales de explotaciones intensivas, pueden durar tres años (Granados Sánchez y Castañeda Pérez, 2000).

Del genero *Opuntia* hay sólo 10 ó 12 especies hasta ahora utilizadas por el hombre, entre las que se encuentran como especies cultivadas, *Opuntia ficus-indica*, *O. amyclaea*, *O. xocconostle*, *O. megacantha* y *O. streptacantha* y como especies silvestres: *Opuntia hyptiacantha*, *O. leucotricha* y *O. robusta*. La más ampliamente cultivada en distintas partes del mundo es *Opuntia ficus-indica*. El nombre científico le fue asignado por Tournefort en 1700, por su semejanza con una planta espinosa que crecía en el poblado de Opus en Grecia (Saravia-

Tasayco, 2004; Velásquez, 1998). Las características de estas especies son variables, diferenciándose en la forma de los cladodios, en la presencia o ausencia de espinas, en el tamaño y color de los frutos, entre otras (Barrientos, 1983).

El cultivo y aprovechamiento del nopal se remonta a las antiguas civilizaciones mesoamericanas y su importancia en la vida social, económica y religiosa determinó las rutas migratorias de las tribus nómadas de Aridoamérica, los asentamientos humanos en el centro de México y formó parte del escudo de Tenochtitlán, símbolo que se conserva hasta nuestros días. El nopal utilizado en México tiene evidencias fechadas hace 7.000 años en semillas, cáscaras de tuna y fibras de pencas de nopal fosilizadas, encontradas en excavaciones realizadas en Tehuacán, Puebla (Pimienta, 1990).

La planta del nopal se distribuye en América, siendo México el país con mayor abundancia de especies por lo que se puede considerar como centro de origen y diversidad de esta especie. A partir de la conquista, las mejores variedades fueron llevadas por los conquistadores a Sudamérica y al resto del mundo. Actualmente, las plantas del género *Opuntia* son nativas de varios ambientes, desde zonas áridas al nivel del mar hasta territorios de gran altura como los Andes del Perú, desde regiones tropicales de México donde las temperaturas están siempre por sobre los 5 °C a áreas de Canadá que en el invierno llegan a -40°C (Nobel, 1991). Actualmente, el nopal se encuentra en forma silvestre o cultivada en el sur de España y en toda la cuenca del Mediterráneo: Francia, Grecia, Italia y Turquía, llegando hasta Israel. Los árabes la llevaron desde España a África, difundiendo en Argelia, Egipto, Eritrea, Etiopía, Libia, Marruecos y Túnez. Sin embargo, su distribución es aún mayor; en el continente americano se encuentra desde Canadá a Chile, en Argentina, Bolivia, Brasil, Colombia, Estados Unidos de América, México, Perú, Venezuela y varios países de América Central; en otros continentes se encuentra en Angola y Sudáfrica, en Australia y la India. En estos países, se localiza parte de las más de 5.000 millones de hectáreas de zonas áridas y semiáridas del planeta y sus pueblos

buscan especies que pueden desarrollarse y prosperar en ese peculiar y restrictivo hábitat (Sáenz & Berger, 2006).

4.1.2 Clasificación botánica

En México se le llama nopal a varias especies del género “*Opuntia*” de la familia “Cactacea” (Cuadro 1). El género *Opuntia* presenta cinco subgéneros, 17 series y 104 especies. El género *Nopalea* presenta diez especies, de las cuales la “*Nopalea cochenillifera*” se utiliza como nopal verdura. Se puede decir que de las 104 especies de *Opuntia* y de las diez de *Nopalea*, se utilizan para forraje 15 especies, cinco para fruta y tres para verdura; dos de *Opuntia* y una de *Nopalea* (Rios y Quintana, 2004).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del nopal

Reino	Vegetal
SubReino	Embriophita
División	Angiospermae
Clase	Dicotyledonea
Subclase	Dialipetalas
Orden	<i>Opuntiales</i>
Familia	Cactaceae
Subfamilia	Opuntioideae
Tribu	<i>Opuntiae</i>
Genero	<i>Opuntia</i> y <i>Nopalea</i>

Fuente: Rios y Quintana (2004)

4.1.3 Importancia económica

La producción de nopal en México puede clasificarse en tres tipos: nopaleras silvestres, de huertos familiares y plantaciones. La producción en nopaleras, en su gran mayoría silvestres, se estima en 3 millones de ha, distribuidas en 15 estados del país, entre los que destacan Sonora, Baja California Sur, Sinaloa y Chihuahua, utilizadas principalmente como forraje para el ganado. Las nopaleras

de huertos familiares son de gran relevancia en Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato y Aguascalientes; su producción es para autoconsumo y comercialización en mercados regionales. Las plantaciones comerciales cuentan con dos sistemas: el sistema tradicional y el sistema de microtúneles o sistema intensivo; el primero tiene densidades de plantación de 15 a 40 mil plantas por ha, mientras que el segundo emplea densidades de plantación de 120 a 160 mil plantas por ha, permitiendo altos rendimientos durante los meses más fríos del año (ASERCA 2011). El 52.5 % de la superficie nacional se caracteriza por la presencia de zonas áridas y semiáridas, ya que las condiciones climáticas que prevalecen en éstas impiden la producción de otros cultivos, es aquí donde el nopal se convierte en una de las alternativas económicas más viables para sus habitantes (Saravia-Tasayco, 2004).

Para el año 2014, el nopal cubrió una superficie sembrada de 16005.52 ha, con una superficie cosechada de 14533.37 ha, mostrando un crecimiento mayor del 48 % en la superficie desde el año 2000. La producción de las áreas cultivadas se ha incrementado a la par de la superficie y el rendimiento. Mientras que en el año 2000 se produjeron 405 mil toneladas (t), en el año 2014 la producción alcanzó las 836370.48 t con un valor de producción de \$3, 601,659.84 pesos. El rendimiento más alto en la producción de nopal lo alcanzó el Distrito Federal con 101.91 t/ha, seguido del estado de Morelos, Estado de México, Puebla y Jalisco con, 96.28, 93.16, 61.47 y 56.23 t/ha, respectivamente (SIAP-SAGARPA, 2015).

4.1.4 Usos del nopal

El interés del ser humano por el nopal se remonta a miles de años atrás. Su origen y su gran historia milenaria están estrechamente relacionados con las antiguas civilizaciones mesoamericanas establecidas principalmente en México, en particular con los orígenes de la cultura azteca. Se han encontrado evidencias arqueológicas que permiten afirmar que fueron las poblaciones indígenas

asentadas en las zonas semiáridas de Mesoamérica las que iniciaron su cultivo de modo formal (Pimienta, 1990).

La evidencia del conocimiento y uso del nopal por los primeros pobladores mexicanos se encuentra detallada en las excavaciones de Tamaulipas y Tehuacán, Puebla, donde cáscaras fosilizadas de tuna fueron encontradas; así como fibras de pencas de nopal, de una antigüedad de aproximadamente siete mil años (Flores-Valdez, 2003). Uno de los principales usos del nopal es como alimento, en diferentes recetas culinarias. Sin embargo, los nopales no constituyen en sí un alimento completo, sino que forman parte de; al igual que otras verduras, de la dieta de muchas familias en el mundo de escasos recursos, sobre todo en las zonas áridas y semiáridas de la zona norte de México y el mundo.

Entre los usos más comunes del nopal encontramos los siguientes (Sáenz, 2006).

- Uso alimenticio.
- Uso medicinal.
- Uso cosmético.
- Uso para obras civiles y de campo
- Uso alternativo.

4.1.5 Propiedades funcionales del nopal

En los años recientes la tendencia general en el consumo de alimentos está en función de la búsqueda de un buen aporte de nutrientes y que además los alimentos sean benéficos para la salud. Bajo este contexto surge una nueva gama de alimentos y sigue en desarrollo: son los llamados alimentos funcionales, de los que se espera no sólo un aporte nutritivo, sino un beneficio para la salud y para la prevención de enfermedades (Sáenz *et al.*, 2004). Los nopales y sus partes, como los cladodios, la tuna y sus flores son una fuente importante de compuestos funcionales; la fibra, los hidrocoloides (mucílago), los pigmentos

(betalaínas, carotenoides), los minerales (calcio, potasio) y algunas vitaminas como la C (Sáenz *et al.*, 2006), han sido considerados por diversos autores como los principales componentes de los nopales descubiertos en muchos estudios realizados.

Los cladodios, tienen su importancia debido a su alto contenido en fibra, y se les considera una rica fuente de ésta. La harina o polvo resultado de una molienda de los cladodios secos se destina tanto para la industria alimenticia, o complementos alimenticios ligada en cierto modo a la industria farmacéutica. En México se han efectuado numerosos estudios al respecto, tanto en *Opuntia ficus-indica* como en *O. streptacantha*; el resultado de estas investigaciones lleva a conclusiones en las que el nopal tiene varias propiedades curativas por su consumo cotidiano.

Galati *et al.*, (2001) y (2002) encontraron otros efectos fisiológicos, que sugieren nuevos productos farmacéuticos en base a extractos de cladodios y también de las cáscaras de los frutos. En ese estudio se habla acerca del poder protector de la mucosa gástrica, mediante el cual se podrían prevenir y curar las úlceras gástricas. Estudios realizados por Corrales-García *et al.* (2004), afirman que los nopalitos tienen una capacidad de efecto buffer que está relacionada con los estudios anteriormente mencionados. Vázquez-Ramírez *et al.* (2006), mencionan que el mucílago de nopal acelera la restauración de la mucosa gástrica con gastritis alcohólica provocada en roedores.

4.1.6 El mucilago de nopal

Este compuesto se presenta tanto en los cladodios como en la piel y pulpa de la fruta, aunque en muy diversas proporciones. Estudios efectuados por Sáenz y Sepúlveda *et al.* (1993) indican que el rendimiento en todos los casos es bajo: 0.5 % en la cáscara y 1.2 % en los cladodios. El mucílago es un carbohidrato complejo. Entre los monómeros contenidos en la cadena se encuentran: L arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-Xilosa y ácido galacturónico. La proporción de estos monómeros en la molécula varía de acuerdo a diversos

factores como: variedad, edad, condiciones ambientales y estructura empleada para la extracción (fruto, cáscara, cladodio), entre otros factores. El mucilago está presente al igual que su sal de calcio en las células de mucilago de parénquima de la penca (Trachtenberg y Mayer, 1981).

Este mucílago constituye un hidrocoloide que podría integrar la oferta de una gran gama de agentes espesantes de amplio uso en la industria de alimentos y farmacéutica, además de que tiene una gran capacidad de absorción de agua. Su poder espesante ha sido estudiado (Medina–Torres *et al.*, 2000; Medina-Torres *et al.*, 2003; Cárdenas *et al.*, 2008), con resultados interesantes, por lo que si se mejoran los rendimientos de extracción podría competir con gomas de gran uso como la goma garrofín, la goma guar u otros agentes espesantes. También se atribuyen a los mucílago propiedades como reemplazantes de grasas en diversos alimentos y también como ligante del sabor (Cárdenas *et al.*, 1998).

Al respecto, en Israel, Rwashda citado por Garti (1999), ha estudiado la capacidad como agente emulsionante de la goma o mucílago de *Opuntia ficus indica*, así mismo reporta que esta goma: (1) reduce la tensión superficial e interfacial; (2) estabiliza emulsiones del tipo aceite-agua; (3) forma gotas pequeñas de aceite; (4) los sistemas a los que se agrega no floculan. Espinosa (2002) estudió la adición de dispersiones de mucílago de nopal en distintas concentraciones (0.5 % y 0.8%) a espumas elaboradas con clara de huevo, demostrando que la adición de mucílago de nopal se manifestaba en una menor sinéresis y un mayor volumen después de 48 h.

Esta clase de ingredientes utilizados con frecuencia por su capacidad para mejorar la textura, también se emplean para estabilizar emulsiones, para controlar la cristalización, como estabilizadores de suspensiones, para inhibir la sinéresis y para crear películas comestibles. Algunos de ellos tienen la capacidad de formar geles.

Las metodologías de extracción del mucílago señaladas en los diferentes estudios realizados es muy variada, desde metodologías muy simples como las señalada por Vargas-Rodríguez y Ramos-Ramírez (2003) hasta otras más

complicadas como la utilizada por Habibi *et al.* (2005). El método cambia según la fuente de mucílago (cladodio o fruto) y la parte concreta de la que se extraerá el hidrocoloide (piel, pulpa o semillas). En función de lo anterior y el grado de pureza que se desea obtener serán las modificaciones al método simple que se deban realizar.

4.2 Emulsiones

La emulsión es un sistema que contiene por lo menos dos líquidos no miscibles (generalmente agua y aceite) con uno de ellos disperso en forma de pequeños glóbulos esféricos (gotas) en el otro. Las gotas de la emulsión se refieren a la fase dispersa o fase interna y el líquido circundante se denomina fase continua o fase externa (McClements, 1999). Para la elaboración de los recubrimientos y películas, la industria alimentaria se inclina por el uso de formulaciones emulsificadas en la que las sustancias formadoras de matrices estructurales están asociadas en una emulsión (Kester y Fennema, 1989).

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables debido a que el contacto entre las moléculas de agua y aceite no son favorables energéticamente, sin embargo, es posible formar emulsiones que son cinéticamente estables (metaestables) por un periodo razonable (días, semanas, meses, años) mediante la incorporación de un tercer componente previo a la homogeneización, que puede estar formado por sustancias conocidas como emulsificantes y/o agentes espesantes. Estos compuestos se adsorben en la superficie de las gotas, formando una membrana protectora que retarda la aproximación de las gotas y su agregación (McClements, 1999).

4.2.1 Clasificación de las emulsiones

Existen dos tipos importantes de emulsiones, simples y múltiples, las cuales son ampliamente usadas tanto en aplicaciones prácticas como en productos industriales, cosméticos, alimentos, entre otros. Las emulsiones simples se clasifican en dos tipos: 1) Emulsión aceite en agua (O/W, por sus siglas en inglés: oil-in-water) donde las gotas de aceite son suspendidas en una fase acuosa continua (Di mattia *et al.*, 2011). Estas emulsiones son las más versátiles, y se pueden encontrar en diversos tipos de alimentos (mayonesas, cremas de licores, helados, cremas batidas). 2) En las emulsiones agua en aceite (W/O, por sus siglas en inglés: water-in-oil) las gotas pequeñas de la fase dispersa son de agua y la fase continua es aceite, algunos ejemplos característicos de alimentos elaborados con este tipo de emulsiones son la mantequilla, la margarina y en general todos los productos untables elaborados a base de grasas (Nordby *et al.*, 2003).

4.3 Agentes emulsificantes y plastificantes

Los emulsificantes son moléculas anfifílicas que se adsorben fácilmente y se acumulan en la interfase entre la fase dispersa (como por ejemplo, lípidos y grasas) y la fase continua (por ejemplo, agua u otro solvente) de una emulsión (por ejemplo, aceite en agua o agua en aceite).

Estos disminuyen la tensión interfacial y producen interacciones repulsivas entre las gotitas para evitar la agregación o coalescencia de las gotas. El papel de los emulsificantes también puede ser importantes para prolongación de la estructura inicial que determina algunas características de las emulsiones alimenticias como sabor, olor y valor nutritivo (Mosca *et al.*, 2013). Para conseguir propiedades mecánicas, de barrera, sensoriales o nutricionales deseables en las películas terminadas, se emplean materiales que pueden incorporarse en las formulaciones; entre los más usuales se encuentran los plastificantes como el glicerol, propilenglicol y sorbitol, compuestos de baja volatilidad, que se adicionan

para conferir flexibilidad a una película o recubrimiento polimérico induciendo un debilitamiento de las fuerzas intermoleculares entre las cadenas adyacentes del polímero (Shaw *et al.*, 2002). Los plastificantes disminuyen las fuerzas intermoleculares entre las cadenas de biopolímeros, por lo tanto aumentan la flexibilidad y extensibilidad. Generalmente, los plastificantes actúan al entrar entre las cadenas moleculares poliméricas, asociadas fisicoquímicamente con el polímero, reduciendo la cohesión dentro de la red de la película, y extendiendo efectivamente y suavizando la estructura de la película (Pérez *et al.*, 2013).

4.4 Recubrimientos y películas comestibles: Generalidades

Una película comestible es una película que envuelve al alimento y que puede ser consumida como parte del mismo (Pastor *et al.*, 2005), presentando varias funciones: mantener la calidad de los productos recubiertos que permitan evitar la ganancia o pérdida de humedad, provocar una modificación de la textura, turgencia; retardar cambios químicos que pueden afectar el color, aroma o valor nutricional del alimento; además de actuar como barrera al intercambio de gases que puede influir en gran medida en la estabilidad de los alimentos sensibles a la oxidación de lípidos, vitaminas y pigmentos; mejorar la estabilidad microbiológica y aumentar la integridad mecánica en el caso de las frutas y hortalizas (Debeaufort, 1998).

Las películas biodegradables se emplean en forma de finas capas mediante inmersión, pulverización o envolturas, y el método depende de las propiedades reológicas de las películas y la superficie de los frutos. Cabe resaltar, que la divergencia en la aplicación de los recubrimientos, es un factor limitante para el desarrollo e implantación de esta tecnología poscosecha, lo que reduce su versatilidad y condicionan su efectividad. En general, los recubrimientos comestibles están compuestos de ceras naturales, polisacáridos y proteínas, formando un envase ideal desde el punto de vista del medio ambiente, puesto que son biodegradables y pueden ser consumidos con el producto. Además, en el futuro los recubrimientos comestibles podrían reducir la necesidad de

refrigeración y el coste de almacenamiento por el uso atmósferas controladas (Pérez-Gago *et al.*, 2008).

El uso de recubrimientos en aplicaciones alimentarias y en especial en productos altamente perecederos, como los pertenecientes a la cadena hortofrutícola, se basa en ciertas características tales como costo, disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas (tensión y flexibilidad), propiedades ópticas (brillo y opacidad), su efecto como barrera frente al flujo de gases, resistencia estructural al agua, a microorganismos y su aceptabilidad sensorial.

Estas características son influenciadas por parámetros como el tipo de material implementado como matriz estructural (conformación, masa molecular, distribución de cargas), las condiciones bajo las cuales se preforman las películas (tipo de solvente, pH, concentración de componentes, temperatura, entre otras), el tipo y concentración de los aditivos (plastificantes, agentes entrecruzantes antimicrobianos, antioxidantes, emulsificantes, etc.) (Quintero *et al.*, 2010). En cuanto a su campo de empleo, éste se extiende enormemente ya que esta tecnología permite diseñar y formular productos que se adapten según la forma de aplicación (directamente en campo, durante la confección en almacén o en el envasado), y el tipo de producto al que vayan destinados (fresco, entero, troceado, mínimamente procesado).

Los recubrimientos comestibles dependiendo del tipo de compuesto que incluyen en su formulación pueden agruparse en tres categorías: 1) Hidrocoloides: por lo general forman recubrimientos con buenas propiedades mecánicas y son una buena barrera para los gases (O_2 y CO_2) pero no impiden suficientemente la transmisión de vapor de agua. 2) Lípidos: formados por compuestos hidrofóbicos y no poliméricos con buenas propiedades barrera para la humedad, pero con poca capacidad para formar films. Reducen la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y pueden mejorar el brillo y el sabor; y 3) composites o compuestos: formulaciones mixtas de hidrocoloides y lípidos que aprovechan las ventajas de cada grupo y disminuyen los inconvenientes. En general, los lípidos aportan resistencia al vapor de agua y los hidrocoloides,

permeabilidad selectiva al O₂ y CO₂, la duración de la película comestible y la buena cohesión estructural o integridad de la misma (Pastor *et al.*, 2005).

Los recubrimientos comestibles que se han estudiado en poscosecha son formulaciones mixtas de compuestos lipídicos e hidrocoloides. Los lípidos aportan la barrera al vapor de agua y los hidrocoloides la permeabilidad selectiva al CO₂ y O₂ (Pérez-Gago *et al.*, 2008). Generalmente ambos se usan combinadamente para contrarrestar las deficiencias que presentan cada grupo por separado. Entre los carbohidratos estudiados para el desarrollo de películas y recubrimientos comestibles se encuentran: celulosa y sus derivados, metilcelulosa, alginatos, pectinas, goma arábiga, almidones y almidones modificados. En el caso de proteínas; las provenientes de cereales como maíz, trigo o avena, las lácteas, las obtenidas de animales marinos como peces y camarones, la gelatina o las proteínas de soya. Los lípidos empleados incluyen ceras (carnauba, abeja), acilglicéridos y ácidos grasos (Abraján, 2008).

4.5 Aceites esenciales y su actividad fungicida en hongos poscosecha

Los aceites esenciales han mostrado una actividad fungicida contra patógenos postcosecha en un amplio intervalo de hongos (Daferera *et al.*, 2000). Actualmente, se han reportado varias investigaciones en donde se demuestra la actividad fungicida de los aceites esenciales, como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Aceites esenciales con efecto fungicida contra algunas especies de hongos postcosecha importantes en la producción hortofrutícola.

Patógeno	Aceite	Concentración	Resultados	Referencias
<i>Alternaria citri</i>	Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i> L).	250 mg L ⁻¹	Inhibición del crecimiento micelial	Arras y Usai, 2001
<i>Botrytis cinérea</i>	<i>Cymbopogon martini</i> Rox	7800 mg L ⁻¹	Inhibición de la germinación	Wilson, 1997
	Clavo (<i>Syzygium aromaticum</i> L).			
<i>Penicillium digitatum</i>	Tomillo (<i>T. vulgaris</i> L.), Planta del té (<i>C. sinensis</i> L.)	250, 275, 246 mg L ⁻¹	Inhibición del crecimiento micelial	Arras y Usai, 2001
<i>P. italicum</i>	Naranja (<i>Poncirus trifoliata</i> L).			
<i>P. citrinum</i>				
<i>Fusarium graminearum</i>	Eneldo (<i>Anethum graveolens</i> L).	6 mg L ⁻¹	Inhibición del crecimiento micelial	Singh <i>et al.</i> , 2005

Fuente: elaboración propia.

4.6 Aceites esenciales y su actividad en bacterias que afectan la salud humana

La actividad bactericida de los aceites esenciales ha sido reportada por varios autores (Cuadro 3). Esta actividad podría estar relacionada a la respectiva composición de aceites volátiles de cada planta, a la configuración estructural de los componentes constituyentes de los aceites, a sus grupos funcionales y a posibles interacciones sinérgicas entre sus componentes (Dorman y Deans, 2000). La hidrofobicidad de los aceites esenciales les permite incorporarse a los lípidos de la membrana bacteriana, ocasionando trastornos en su estructura y

permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros compuestos (Bosquez-Molina *et al.*, 2009).

Cuadro 3. Efecto bactericida de los aceites esenciales en bacterias patógenas en humanos.

Patógeno	Aceite	Concentración	Resultados	Referencias
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Zyzygium aromaticum</i> L.	10000 mg L ⁻¹	Inhibición de su crecimiento	Mytle <i>et al.</i> , 2008
	<i>Thymus vulgaris</i> L.			
	<i>Cinnamomum Zeylanicum</i> Blume	1000 mg L ⁻¹	Redujo el desarrollo	Smith-Palmet <i>et al.</i> , 2001
<i>Escherichia coli</i>	<i>Thymus vulgaris</i> L.	300 mg L ⁻¹	Inhibición de su crecimiento	Hammer <i>et al.</i> , 1999
<i>Salmonella spp</i>	<i>Citrus cinensis</i> L.	1250 mg L ⁻¹	Inhibición de su crecimiento	O' Bryan <i>et al.</i> , 2008
	<i>Zyzygium aromaticum</i> L.			
	<i>Cinnamomum Zeylanicum</i> Blume			
<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Thymus vulgaris</i> L.	750 mg L ⁻¹	Detuvo el desarrollo	Smith-Palmet <i>et al.</i> , 2008

Fuente: Elaboración propia.

4.7 Generalidades de la papaya

El cultivo de papaya (*Carica papaya* L.) pertenece a la familia *Caricaceae* y es la única especie del género *Carica* (Antunes y Renner, 2012). *Caricaceae* es una familia pequeña de plantas dicotiledóneas con seis géneros; cuatro de origen tropical Americano (*Carica*, *Jarilla*, *Jacaratia*, *Vasconcella*) y uno, *Cylicomorpha*, de África ecuatorial. La papaya es, económicamente, la especie más importante de esta familia (Paull y Duarte, 2011).

La producción en México fue aproximadamente de 300 mil t, de la cual se exportaron 131391 t, por un valor de 87 millones de dólares, ubicándose como el primer exportador mundial en el 2014. La mayor parte de las exportaciones de papaya se destinan a los Estados Unidos y Canadá, mercados dominados casi por completo por la papaya mexicana de la variedad Maradol. Las principales plantaciones de papaya en México están ubicadas al suroriente del país, en la Figura 2 se muestra el porcentaje de superficie sembrada por estado, donde se observa que el primer estado con mayor producción es Veracruz con 2500 ha sembradas, seguido de Colima con 1994 ha, Michoacán 1700 ha y Chiapas 900 ha (Propapaya, 2014).

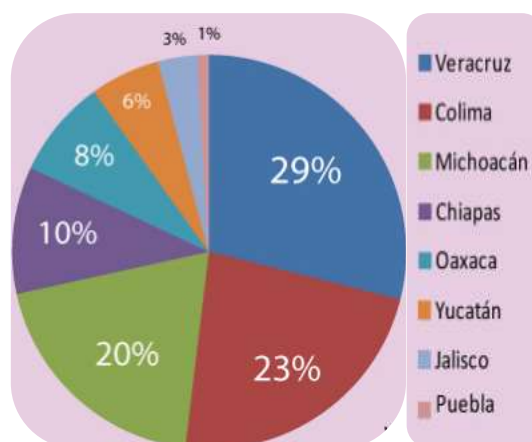


Figura 2. Porcentaje de superficie sembrada de papaya por estado
Fuente: Propapaya, 2014

La papaya nunca ha sido encontrada en forma silvestre, pero se cree que es originaria de América tropical, probablemente en el sureste de México y en las regiones cercanas de América Central. Fue llevada por los Españoles a las Filipinas en el siglo XVI, de donde fue luego introducida a la India, y desde entonces, el cultivo de papaya se ha extendido a otros países tropicales y subtropicales situados geográficamente entre latitudes de los 32° LN y LS, y hasta altitudes de 1300 m cerca del ecuador (Lim, *et al.*, 2012; Carr *et al.*, 2013).

4.7.1 Índice de cosecha

El color de la cáscara es la característica más utilizada para evaluar el estado de maduración de los frutos de papaya. Las recomendaciones para la cosecha se basan en el cambio del color verde oscuro a verde claro y la aparición de tonos amarillos en el extremo distal (Kader, 2004). La comercialización se realiza desde el estado de rompimiento del color verde a $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ y $\frac{3}{4}$ de madurez, mientras que el consumo se recomienda cuando la cáscara de los frutos presenta 75 % o más de color amarillo (Zhou *et al.*, 2004).

En México, la principal variedad de papaya cultivada es maradol. La norma mexicana NMX–FF–041–SCFI–2007, describe el color externo de esta variedad con base en la designación de rayas y porcentajes de color verde, amarillo o naranja, de acuerdo con siete grados de maduración que incluyen a los frutos en madurez fisiológica y en madurez de consumo. Los trabajos que describen las características del fruto con variables objetivas están enfocados al efecto de la antracnosis (Acosta *et al.*, 2001), o describen los cambios de color en las etapas iniciales o finales de la maduración (Pérez–Carrillo y Yahia, 2004).

4.7.2 Pérdidas poscosecha de frutos de papaya

Dentro de las principales pérdidas poscosecha de frutos destacan las enfermedades, estas reducen la calidad del fruto en campo y en el mercado, son las principales responsables de pérdidas que ocurren durante el transporte; las mismas que van del 10 al 40 % en transporte terrestre y del 5 % al 30 % en transporte aéreo, pudiendo alcanzar hasta el 75 % en la fase de comercialización. Las pérdidas ocasionadas por enfermedades varían dependiendo el manejo poscosecha y los procesos de empaque (Paull *et al.*, 1997).

4.8 *Colletotrichum gloeosporioides*

El hongo del genero *Colletotrichum*, es una patógeno de distribución cosmopolita y con predominancia en los trópicos y subtrópicos (Xiao et al., 2004). Este hongo es causante de un grupo de enfermedades conocidas como antracnosis, las cuales pueden manifestarse tanto en precosecha como en poscosecha. Generalmente, se presenta en todas las etapas fenológicas del cultivo, y causa pérdidas considerables en la producción y poscosecha de frutos tropicales entre ellos la papaya. En México, la principal limitante fitopatológica de la papaya es la antracnosis, causando pérdidas de 40 a 100 %, cuyos síntomas son mancha chocolate (café), pelado y pudrición basal del fruto (Acosta et al., 2001).

El hongo afecta hojas, ramas, inflorescencias y frutos, ocasionando severos daños que demeritan la calidad externa e interna de los frutos en cosecha y poscosecha, lo que causa pérdida de valor comercial y menor rendimiento por unidad de superficie. La enfermedad inicia con manchas pequeñas y redondas, tornándose acuosas y de color oscuro cuando está en estado avanzado. Además de provocar daño superficial, la lesión también penetra en el fruto deteriorando la pulpa, provocando que los frutos se pudran totalmente y se desprendan de la planta con facilidad (Suzuki et al., 2010).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

Para la formación de las películas biodegradables se realizaron complejos solubles polisacárido-polisacárido; se utilizaron cladodios de nopal variedad Milpa Alta de los cuales se extrajo el mucílago de nopal, carboximetilcelulosa (CMC) y pectina cítrica de alto metoxilo comercial ((GE)Grinsted ® Pectin LC 710, México, S.A. de C.V., México, D.F.). Para la elaboración de emulsiones aceite-en-agua se usó como fase oleosa (O) aceite de oliva extra virgen (Olave, Valle Grande, S.A. Milipilla, Chile), monoestearato de sorbitán polioxietileno (tween80) como emulsificante hidrofílico (Sigma Aldrich® Quimica, S.A. de C.V., Toluca, Edo. Méx, México), monoestearato de glicerilo como emulsificante lipofílico (J.T. Baker, S.A. de C.V. México) y los aceites esenciales de canela y tomillo (Laboratorios Laitz, S.A. de C.V., México). Otros reactivos utilizados fueron: glicerol como agente plastificante (J.T. Baker, S.A. de C.V. México), ácido clorhídrico (HCl) 0.1N. Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, etanol 96% v/v (Ferandhel, S.A. de C.V., México). En todos los experimentos se utilizó agua desionizada y destilada.

5.2 Extracción de mucílago de nopal

Para obtener el material de estudio (mucílago) se utilizaron pencas de nopal (*Opuntia ficus-indica*) de aproximadamente 20 cm, de 3 meses de desarrollo. Las pencas se obtuvieron de una parcela ubicada en la localidad Milpa Alta; los cladodios se cepillaron para eliminar las espinas y facilitar su manipulación. El pelado se hizo manualmente con cuchillo, tratando de eliminar la menor cantidad de pulpa junto con la piel. Los nopales se cortaron en cuadros de 3 x 3 cm y a

cada kg de nopal se le adicionaron 50 mL de agua para facilitar la molienda en una licuadora (Osterizer 465-13, Sunbeam Mexicana, S.A. DE C.V. México). El nopal molido se depositó en bolsas de polietileno de 25 x 35 cm, las cuales se introdujeron en un congelador horizontal (-18°C) para su congelación por dos días.

Las bolsas congeladas se sacaron del congelador horizontal, se les realizó una perforación de 2 cm de diámetro en uno de sus extremos y se colocaron en tinajas de plástico para permitir la salida de la fibra de nopal y el mucílago al momento del descongelamiento. Posteriormente, se filtró el mucílago con manta de cielo para eliminar impurezas. Se añadió etanol al 96 % (Reactivos Ferandhel) en relación 1:1 (v/v) y se dejó separar el mucílago del alcohol por una hora; después se cortaron pedazos de membrana de 15 cm de largo para que el mucílago se introdujera, con ayuda de una espátula, en la membrana de diálisis (MWCO: Molecular Weight Cut-Off, =15,000 D; Dialysis Membrane, Spectrum Laboratories Inc., CA, EUA); cada membrana se amarró en cada borde con hilo desinfectado; después, las membranas con mucílago se colocaron en el interior de botes de plástico de 3 L con agua desionizada para el proceso de purificación por 72 h; se cambió el agua 3 veces/día.

Una vez purificado el mucílago se congeló en el congelador horizontal por un día; posterior a esto se depositó en pequeños sacos de tela magitel y se liofilizó por dos días en un liofilizador (LABCONCO, Freeze Dry System I Lyph Lock@4.5, Labconco Corporation, Kansas City, Missouri, EUA). Hecho todo lo anterior, el mucílago se pulverizó en un molino para granos hasta obtener un polvo blanco, el cual se almacenó en un frasco de PET con tapa, conteniendo en su interior una bolsa con sílica gel y se introdujo en un desecador hasta su hidratación para la elaboración de las emulsiones.

5.3 Dispersión de Polímeros

Se prepararon 100 mL de dispersiones a base de mucílago de nopal al 0.5 % p/v, carboximetilcelulosa 1 % y 1.5 % p/v y pectina cítrica 1.5 % p/v utilizando agua destilada y desionizada. Cada una de las dispersiones de biopolímeros fue sometida a agitación constante por 24 h hasta su dispersión completa. Las dispersiones se almacenaron bajo refrigeración ($4 \pm 1^{\circ}\text{C}$) por 24 h, para lograr una hidratación completa (Espinoza-Andrews *et al.*, 2013).

5.4 Formulación y preparación de las emulsiones sencillas aceite-en-agua (O/W)

Se prepararon seis emulsiones aceite-en-agua (O/W) con una fracción gravimétrica de fase oleosa (Φ) igual a 0.05. La composición de cada emulsión O/W se muestra en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Componentes de los tratamientos formulados para la elaboración de películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales.

Componente	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Mucílago (% p/v)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Pectina (% p/v)			1.5			1.5
Carboximetilcelulosa (% p/v)	1	1.5		1	1.5	
Monoesterato de glicerilo (% p/v)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Tween (% v/v)	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Glicerol (% v/v)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Aceite de oliva (% v/v)	4	4	4	4	4	4
Aceite esencial de tomillo (% v/v)				1000 μL	1000 μL	1000 μL
Aceite esencial de canela (% v/v)	1000 μL	1000 μL	1000 μL			

T= Tratamiento

La preparación de las emulsiones involucró los siguientes procedimientos: la fase acuosa se homogeneizó con un equipo Ultra-turrax® (modelo T50basic, IKA Labortechnik, Staufen, Alemania) operado a 4 500 rpm durante 1 min; después se continuó el proceso aplicando homogeneización a 5400 rpm por 1 min, hasta integrar toda la fase continua y finalmente se integró gota a gota a la mezcla la fase oleosa, previamente preparada, hasta adicionarla por completo utilizando 6700 rpm hasta completar 3 min en total.

5.5 Elaboración de las películas biodegradables

Se elaboraron seis películas biodegradables, tres con aceite esencial de canela y tres con aceite esencial de tomillo a partir de las emulsiones descritas en el Cuadro 1. El método de preparación de las películas fue mediante la técnica de vaciado en placa (Bósquez-Molina *et al.*, 2003); para ello 9 g de emulsión se vertieron en cajas Petri de plástico (diámetro de 9.5cm) y se secaron en una incubadora (Binder, Mittleren Osch, Tuttlingen, Alemania) a 37 ± 1 °C por 24 h. Las películas formadas se removieron y se almacenaron en un ambiente controlado de humedad (30 % HR) en un desecador con sílica gel por 72 h, previo a las mediciones de color, fuerza de tensión, elongación de ruptura y permeabilidad a vapor de agua (PVA).

5.6 Caracterización de las películas comestibles

5.6.1 Propiedades ópticas

5.6.2 Color

Los parámetros de color (L^* , a^* , b^*) de las diferentes películas fueron determinados con un colorímetro (HUNTER LAB, modelo MiniScan XE Phy). Las lecturas fueron obtenidas en la escala CIELAB y se calculó el ángulo de tono ($^{\circ}$) *hue* ($h^{\circ} = \arctan(b^*/a^*)$) y *chroma* ($C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$). El color fue determinado en la media de 6 réplicas. (Atarés *et al.*, 2010).

5.6.3 Evaluación del espesor

El espesor de las películas se midió en cinco zonas (una en el centro y cuatro alrededor del perímetro de las películas) (Galus y Lenart, 2013) con un micrómetro digital (modelo Coolant proof IP65, Mitutoyo® Co. Tokyo, Japón), con precisión de 0.001 mm. Cada película se colocó entre los sujetadores del micrómetro y posteriormente se ajustó éste último a la muestra para medir el espesor. Los resultados se reportaron en milímetros y los valores promedio del espesor se utilizaron para los cálculos de las propiedades mecánicas y la permeabilidad al vapor de agua de las películas.

5.7 Propiedades mecánicas

A las películas se les determinó el esfuerzo tensil (ET) y porcentaje de elongación al corte (% E), de acuerdo al método D882 de la ASTM (American Society for Testing Materials, por sus siglas en inglés) con ligeras modificaciones (Galus y Lenart., 2013), usando un equipo analizador de textura TA.XT2i (Stable Micro Systems UK, Surrey, RU), con una celda de 5 kg. El ET se calculó dividiendo la fuerza máxima (N) entre el área de la sección transversal inicial de la muestra (ancho x espesor promedio de las películas) y se expresó en Mpa (Ecuación 1). La elongación al corte (%) se calculó como la elongación al punto de rotura de la muestra, respecto a la longitud inicial de dicha muestra (Ecuación 2), expresado como porcentaje (Cissé *et al.*, 2012).

$$ET = \frac{\text{Fuerza máxima}}{\text{Ancho x espesor}}$$

(1)

Donde: la ET= Esfuerzo de tensión, expresada en Mpa; la fuerza máxima se expresó en N, el ancho y el espesor en m

$$E = \frac{\text{longitud de estiramiento}}{\text{longitud inicial}} \times 100 \quad (2)$$

Donde: E= Elongación, expresada en porcentaje (%), la longitud de estiramiento y longitud inicial se expresaron en cm.

Para las mediciones, se cortaron fracciones rectangulares de película de 60 mm de largo y 25 mm de ancho, las cuales fueron acondicionadas previamente en un desecador (30 % HR, con sílica gel) para evitar la absorción de humedad del ambiente. La distancia inicial de separación de las pinzas para sujetar la muestra de cada película a lo largo y la velocidad de medición se ajustaron a 50 mm y 1 mms⁻¹, respectivamente. Estas determinaciones se realizaron por triplicado y se reportó la media.

5.8 Propiedades de barrera

5.8.1 Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

La permeabilidad a vapor de agua (PVA) de las películas se determinó por el método descrito por Gennadios *et al.* (1994) y McHugh *et al.* (1993), con modificaciones. Previo a la medición de la PVA, se prepararon disoluciones acuosas saturadas de K₂CO₃ y de K₂SO₄. Cantidades de 10 mL de disoluciones saturadas de K₂CO₃ y de K₂SO₄ se colocaron en vasos rectos de vidrio de 50 mL por separado, adaptados como celdas de permeabilidad. Después, cada una de ellas se colocaron en un desecador, donde se monitoreó cada diez minutos tanto el cambio de HR y presión a una temperatura constante (25 ± 2 °C) con un sensor de HR (Testo, Cabriels, Barcelona España) hasta que dichos parámetros fueron estables. Los valores de humedad relativa y presión obtenidos, se utilizaron para el cálculo de la PVA de las películas.

Para la evaluación de la PVA de las películas, se utilizaron vasos de precipitados de vidrio (8.35 cm de alto y 4.93 cm de diámetro) de 50 mL, de peso conocido,

como celdas de permeabilidad. Se colocaron 10 mL de la disolución acuosa saturada de K_2SO_4 (94 % de HR) en los vasos de precipitados y se cubrieron con muestras circulares de película (9.5 cm, correspondiente al diámetro de la caja Petri). Para fijar las películas al borde de los vasos, se utilizaron ligas. Después, 3 celdas de permeabilidad se colocaron durante 2 h en la parte superior del desecador, conteniendo en el interior de cada una de ellas 10 mL de la disolución de K_2SO_4 con HR de 94 % y enseguida se determinaron sus pesos iniciales (P_1 : peso del vaso + sal + película + ligas). Al mismo tiempo, en el mismo desecador pero en la parte inferior se colocaron 150 mL de la disolución saturada de K_2CO_3 (74 % de HR), correspondiendo a una relación 25:1 (p/p) de la disolución de K_2CO_3 , respecto a la de K_2SO_4 . Lo anterior, con el fin de crear un gradiente de HR y así propiciar la migración del vapor de agua desde el interior de la celda de permeabilidad, atravesando la muestra de película, hacia el exterior. Las variaciones en el peso de la celda de permeabilidad se monitorearon por 24 h a intervalos de 2.5 h, hasta alcanzar un peso constante (P_2).

Los valores de PVA de las películas se calcularon usando la ecuación 3, 4, 5 y 6 (Murillo *et al.*, 2011).

$$PVA = \frac{\Delta m * x}{A * \Delta t * \Delta p} = \frac{WVTR * x}{P_1 - P_2} \quad (3)$$

Donde:

PVA = permeabilidad al vapor de agua ($g/m^2 \cdot s \cdot Pa^{-1}$)

Δm = pérdida de peso (g) de la celda de ensayo después de 24 h

x = espesor de la película (m);

A = área expuesta de la película (m^2)

Δt = diferencial de tiempo (s) entre cada medición

$WVTR$ = tasa de transferencia de vapor de agua expresado en $\text{moles} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

P_1 = presión de vapor de agua (Pa)

P_2 = presión de vapor corregida (Pa)

$$P_1 = P - P_0 * e^{\frac{VTVA * R * T * Z}{P * D}} \quad (4)$$

P = es la presión atmosférica en Chapingo (77,993 Pa)

P_0 = presión parcial de vapor de agua ($P_0 = 4.84T^2 - 52.24T + 1449.63$ (T en $^{\circ}\text{C}$))

$VTVA$ = velocidad de transferencia al vapor de agua ($\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

T = temperatura absoluta durante la prueba ($^{\circ}\text{K}$)

Z = altura de la capa de aire (m)

R = constante universal de los gases $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$

D = coeficiente de difusión del vapor de agua en el aire ($\text{m}^2 \text{día}^{-1}$)

$$P_2 = \frac{Hr}{100} x P v^* \quad (5)$$

Hr = humedad relativa al interior del desecador, en la zona de estabilidad después de 24 h.

$$Pv^* = 10^{A - \left(\frac{B}{C+T}\right)} \quad (6)$$

A, B y C son constantes, donde A= 8.0713; B= 1730.63; C= 233.426 y T= temperatura en la zona de estabilidad, después de 24 h (°C). Finalmente la permeabilidad a vapor de agua (PVA) se expresó en $\text{g/m}^2\text{S}^{-1}\text{Pa}^{-1}$. Se analizaron tres repeticiones de cada película y se reportó la media.

5.9 Aislamiento de *Colletotrichum gloeosporioides* para su evaluación *in vitro*

Frutos de papaya infectados (Variedad Maradol) fueron obtenidos del mercado central de Texcoco. Los frutos infectados con *Colletotrichum gloeosporioides* se sometieron a un proceso de esporulación en cámara húmeda a una temperatura de 28 °C y humedad relativa cercanas a 90 %. El primer paso del aislamiento consistió en realizar cortes aproximadamente de 1 cm directamente de la parte infectada de los frutos; fue necesario desinfectar con hipoclorito de sodio al 1.5 % para eliminar otros microorganismos, después se enjuagó en agua destilada. Posteriormente las partes infectadas con *Colletotrichum gloeosporioides* se sembraron en cajas de Petri con Papa Dextrosa Agar (PDA) a una temperatura de 28 °C y se incubaron durante 3 días para después proceder a multiplicar el hongo. Una vez crecido el hongo en las cajas de Petri se realizaron cortes en la parte donde se encontraba el hongo de aproximadamente 1 cm, tomados de sólo un lado para después multiplicarlo en 3 cajas Petri, se dejó en incubación a una temperatura de 28 °C por 8 días.

Para obtener la solución de esporas a cada caja Petri donde se realizó el crecimiento del hongo, se agregaron 10 mL de solución de Tween al 0.1 % (v/v),

previamente esterilizada, y se rasparon las colonias con una varilla de vidrio con cabeza triangular previamente esterilizada de manera que todas las esporas posibles fueran colectadas, posteriormente, se vació 1 mL de la solución concentrada a un tubo de vidrio (No. 9825, Pyrex®), después con una micropipeta se tomó 1 mL hasta obtener diluciones que se ajustaron a 1×10^6 esporas/mL⁻¹.

5.9.1 Preparación del inóculo de *Salmonella* Typhimurium

De una cepa de *Salmonella* Typhimurium (donada por el Dr. Carlos Eslava Campos, UNAM), mantenida en congelación (-20 °C), se tomó una muestra con un asa previamente esterilizada. La muestra se depositó en una caja con agar soya tripticaseína (TSA, por sus siglas en inglés) y se dispersó por ralladura sobre la superficie de la caja. Después la caja se incubó a 37 °C por 24 h. A partir de este cultivo, se preparó una suspensión bacteriana en 9 mL de agua buferada peptonada (ABP) a 0.1 %. La concentración bacteriana se ajustó a 8 Log₁₀ UFC/mL⁻¹. El inóculo se usó inmediatamente después de su preparación.

5.9.2 Evaluación *in vivo* de las películas como recubrimiento

5.9.3 Material biológico

Las papayas estudiadas fueron de la variedad Maradol; las cuales procedieron del estado de Oaxaca y fueron adquiridas en el mercado municipal de Texcoco provenientes de la Central de Abastos de la Ciudad de México, en donde se verificó que no fueran tratadas previamente con fungicidas, o algún otro agente que acelerara la maduración. Posteriormente, se trasladaron al laboratorio de Fisiología Postcosecha del Departamento de Ingeniería Agroindustrial de la UACH, donde se almacenaron a 11 ± 1.5 °C durante aproximadamente seis horas, hasta iniciar sus tratamientos.

5.9.4 Tratamiento de los frutos para recubrimiento

Los frutos utilizados se encontraban en 3/4 de madurez fisiológica, se seleccionaron de acuerdo al color de manera visual y se verificó que los frutos no tuvieran daños fisiológicos, enfermedades o plagas. Se formaron cinco lotes de tres frutos, los cuales fueron seleccionados lavados y desinfectados con una solución de agua clorada (200ppm), y se secaron perfectamente para después recubrir cinco frutos con emulsión de mucilago de nopal + carboximetilcelulosa + aceite de canela, cinco frutos con emulsión de mucílago de nopal + carboximetilcelulosa + aceite de tomillo y cinco frutos más se dejaron como testigo. Se tomaron los tratamientos de mucilago de nopal + carboximetilcelulosa con 1.5 % de biopolímeros por exhibir valores deseables de luminosidad, ángulo de tono, esfuerzo de tensión y porcentaje de elongación.

5.9.5 Inoculación de papayas con *Salmonella Typhimurium*

Papayas previamente recubiertas y a las que se removió la piel con un sacabocados (1.2 cm, de diámetro), para aplicar el inóculo bacteriano se colocaron sobre la superficie de una mesa de manera que no se movieran, para evitar la dispersión del inóculo. Posteriormente, de la suspensión bacteriana preparada con anterioridad se tomaron 100 µL, y se depositaron en el centro de cada círculo previamente hecho con el sacabocados. El inóculo se dejó secar por dos horas a temperatura ambiente (20 °C) con la ayuda de un ventilador. Después de secar el inóculo, las papayas se mantuvieron a temperatura ambiente (24 °C), hasta su uso para recuperar las células bacterianas.

5.9.6 Medición de parámetros físicos de la fruta tratada

5.9.6.1 Color

Los parámetros de color (L^* , a^* , b^*) fueron determinados en un colorímetro (HUNTER LAB, modelo MiniScan XE Phy). Las lecturas fueron obtenidas en la escala CIELAB y se calculó el ángulo de tono ($^\circ$) *hue* ($h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$) y *chroma* ($C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$). El color fue determinado en la media de 3 réplicas. (Atarés *et al.*, 2010).

5.9.6.2 Pérdida de peso

El peso de los frutos se midió con una balanza digital (Ohaus® Corporation, modelo: Scout Pro SP2001, Pine Brook, NJ, EUA). Se obtuvieron los porcentajes de pérdida de peso cada dos días bajo condiciones de temperatura ambiente (24°C) con la Ecuación 7

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} * 100 \quad (7)$$

5.9.6.3 Determinación de sólidos solubles totales

El contenido de sólidos solubles totales ($^\circ\text{Bx}$) se determinó con un refractómetro digital Atago® (modelo PAL-1; Atago Co. Ltd, Japón), con rango de medida de 0 a 53 %. Los resultados se expresaron como la media aritmética de tres replicas.

5.9.6.4 Determinación de pH

El pH se determinó con ayuda de un potenciómetro Hanna® Instruments (modelo HI-9124). Para realizar la determinación, se tomaron 10 g de muestra del fruto, se mezcló con 50 mL de agua destilada y se filtró. La solución obtenida se

depositó en un vaso de precipitados de 250 mL y se le colocó el electrodo del potenciómetro. El valor de pH se determinó como la media aritmética de tres replicas.

5.9.6.5 Determinación de acidez titulable

Esta variable se evaluó por titulación directa de jugo de la pulpa de papaya con una solución de NaOH 0.1 N y fenolftaleína como indicador (30 µL). Se calculó la cantidad de ácido cítrico presente en los frutos y se expresó como g de ácido cítrico por 100 g de peso fresco mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Ácido cítrico} = \frac{\text{gasto} \times N \times \text{Meq} \times Vm}{Pm \times \text{alícuota}} * 100$$

Donde:

Gasto = gasto de NaOH (0.1 N) en mL

N = normalidad del NaOH

Meq = miliequivalentes de ácido cítrico = 0.064

Pm = peso de la muestra (g)

Vm = volumen recuperado (mL)

5.9.6.6 Determinación de metabolitos anaerobios (acetaldehído y etanol)

Las concentraciones de acetaldehído y etanol se determinaron por cromatografía de gases mediante la técnica de espacio de cabeza descrita por Davis y Chase (1969). Se tomó una muestra de pulpa de los frutos (5 g) y se introdujo en un vial

de vidrio de 25 mL, éste inmediatamente se selló y enseguida se introdujo en un congelador horizontal a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de realizar las mediciones correspondientes. Para hacer la cuantificación, las muestras congeladas se incubaron en baño maría a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min para provocar la volatilización total de los compuestos de interés (acetaldehído y etanol). Luego se homogeneizó por 1 min y después se tomó una muestra gaseosa del espacio de cabeza del vial con una jeringa ($1000\text{ }\mu\text{L}$) y se inyectó en el cromatógrafo de gases (Agilent® Technologies). El tiempo de retención para identificar acetaldehído fue 2.80 min y el de etanol 4.116 min. Se realizó una curva para obtener las concentraciones de etanol y acetaldehído en las muestras analizadas, con estándares comerciales de etanol y acetaldehído (J.T. Baker®, México), Los valores registrados se reportaron en $\text{mg}/5\text{ g}^{-1}$ de pulpa.

5.9.7 Recuperación de *S. Typhimurium* de papayas inoculadas

La recuperación de las células de *S. Typhimurium* se hizo cada 48 h después de la aplicación del inóculo, por un periodo de incubación de 10 días. En cada muestreo se tomó una papaya por tratamiento con tres replicas. Primeramente cada papaya se colocó sobre una mesa para inmovilizarla y con un sacabocados (1.6 cm , de diámetro) previamente esterilizado se tomó el segmento de tejido inoculado. El tejido se depositó en una bolsa sandwichera nueva con cierre ($16.5 \times 14.9\text{ cm}$, Ziploc®), una vez cortados todos los segmentos de tejido, se agregaron 50 mL de ABP a 0.1 % en cada bolsa. El tejido se macero por 1 minuto de manera manual, en seguida se tomó un mL de este macerado y se depositó dentro de un tubo (No. 9825, Pyrex®) con 9 mL de ABP 0.1 % (dilución 10^{-2}), la muestra continuó diluyéndose hasta 10^{-4} . De los tubos 10^{-2} a 10^{-4} de cada muestra se tomaron $100\text{ }\mu\text{L}$ y se depositaron en cajas Petri con agar entérico Hektoen (AEH). El volumen vertido en las cajas se dispersó por un minuto con una varilla de vidrio con cabeza triangular previamente esterilizada. Las cajas se incubaron a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h. Una vez terminado el periodo de incubación, se

hicieron cuentas manuales de cada caja para estimar la población bacteriana recuperada.

5.9.8 Evaluación de recubrimientos sobre *Colletotrichum gloeosporioides* *in vitro*

Para la evaluación de los recubrimientos sobre *C. gloeosporioides in vitro* se evaluaron tres tratamientos, dos con emulsiones elaboradas a base de mucílago de nopal + carboximetilcelulosa + aceite esencial de tomillo y de canela (2500 µL) y uno sin recubrimiento o testigo. Para ello 200 µL de emulsión de cada tratamiento se extendieron sobre la caja Petri con PDA hasta crear una superficie homogénea, posteriormente con un sacabocado de aproximadamente 2 cm se cortaron pedazos circulares de *C. gloeosporioides* y se colocaron en el centro de la caja de Petri donde previamente se homogeneizó la emulsión, finalmente cada caja se selló con plástico adherente. En esta fase los tres tratamientos se hicieron por triplicado

5.9.9 Diseño estadístico

Para la caracterización de las películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal en combinación con polímeros y adicionadas con aceites esenciales se realizó un diseño experimental de bloques completamente al azar donde los bloques fueron los aceites esenciales y los factores los tratamientos, para la evaluación *in vivo* e *in vitro* de los recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal se realizó un diseño completamente al azar. Los datos obtenidos de las variables de respuesta evaluadas corresponden a las medias $\pm$ desviación estándar. Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA), y en los casos pertinentes, a pruebas de comparación de medias de Tukey. La significancia se estableció como $p \leq 0.05$. Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS System 9.0 – Cary, N.C., USA).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización de las películas biodegradables a base de mucílago de nopal y aceites esenciales

6.1.2 Fase preliminar

El trabajo experimental que se llevó a cabo para la formulación de las emulsiones permitió determinar las proporciones que mejor se adaptaron para la formulación de las películas. Se optó por las mejores emulsiones con base en sus características para formar películas como se muestra en el Cuadro 5, además de su apariencia visual y el tiempo en el cual no hubo separación de fases.

Cuadro 5. Composición de emulsiones para la formación de películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal y aceites esenciales de canela y tomillo.

FASE ACUOSA	FASE LIPÍDICA	Formación de Película	Tiempo Sin separación de fases (días)
	Aceite Esencial		
M+0.5CMC	Canela+1000 MI	No	25
M+1CMC*	Canela+1000 MI	Sí	30
M+1.5CMC*	Canela+1000 µL	Sí	30
M+0.5CMC	Canela+2500 MI	Sí	20
M+1CMC**	Canela+2500 µL	Sí	20
M+1.5CMC**	Canela+2500 µL	Sí	20
M+0.5P	Tomillo+1000 µL	No	23
M+1P*	Tomillo+1000 µL	Sí	30
M+1.5P*	Tomillo+1000 µL	Sí	31
M+1P**	Tomillo+2500 µL	Sí	20
M+1.5P**	Tomillo+2500 µL	Sí	20

M=mucilago, CMC= Carboximetilcelulosa.

*Fueron las películas que se caracterizaron y las emulsiones se probaron como recubrimiento *in vivo* en papaya para el control de *S. Typhimurium*.

**Fueron las emulsiones que se evaluaron *in vitro* para el control de *C. gloeosporioides*.

6.2 Resultados de las propiedades físicas

6.2.1 Color

Para el caso de los recubrimientos o las películas biodegradables, el color depende de varios factores y tienen mucha importancia desde el punto de vista comercial, ya que determina su aceptación o rechazo cuando es empleado sobre algún alimento o fruto. La luminosidad que presentaron las seis películas evaluadas con sus respectivas repeticiones se encuentran en un intervalo de 55 a 83 %; las películas elaboradas a base de mucilago y aceites esenciales de canela y de tomillo obtuvieron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con base en su formulación, siendo las películas conformadas por mucílago, carboximetilcelulosa, pectina y aceite esencial de canela las de mayor luminosidad (T1, T2 y T3), respecto a aquellas con la misma formulación pero conformadas con aceite esencial de tomillo (T4, T5, y T6), (Figura 3).

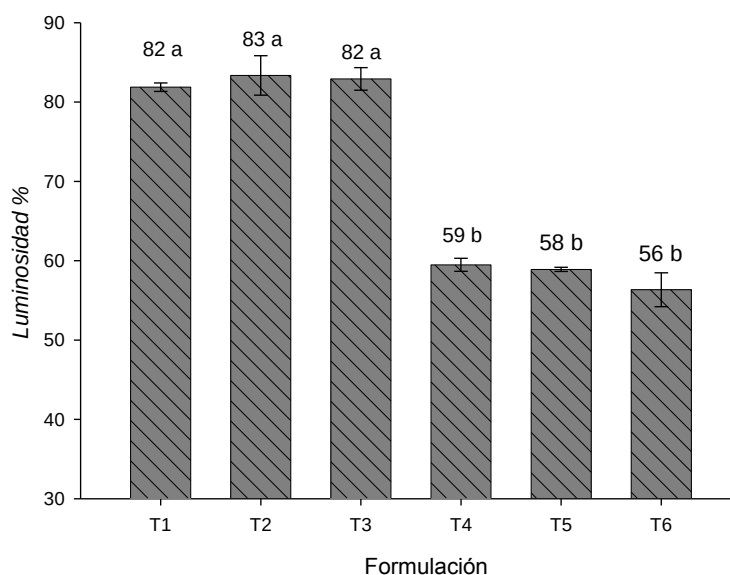


Figura 3. Porcentaje de *Luminosidad* de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal, adicionadas con aceites esenciales. Los códigos en el eje de las abscisas representan la formulación para cada película biodegradable. T1 (M, CMC1, AEC), T2 (M, CMC2, AEC), T3 (M, P2, AEC), T4 (M, CMC1, AET), T5 (M, CMC2, AET), T6 (M, P2, AET). M= 0.5 % de mucílago, CMC= carboximetilcelulosa, P= pectina, AEC= aceite esencial de canela, AET= aceite

esencial de tomillo y 1= 1 %, 2=1.5 %. Las barras verticales representan el promedio de tres películas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Estos resultados sugieren que la mayor luminosidad se deba a la incorporación del aceite esencial de canela, lo cual afectó significativamente la luminosidad de las películas, hasta en un 20 % más, respecto a las películas elaboradas con aceite de tomillo. Al respecto, Salinas (2014), evaluó películas elaboradas a base de mucílago de nopal en combinación con grenetina y cera de carnauba con lo cual obtuvo valores de luminosidad en un intervalo de 78 a 83.3 % semejantes al presente trabajo; estos valores también son similares a los reportados por Laureano (2013), quien encontró valores de entre 80 y 90 % en películas elaboradas a base de mucílago de nopal en combinación con otros biopolímeros, el autor menciona que los valores más altos se deben a la formulación de mucílago y cera de abeja, ya que este tipo de lípidos poseen color amarillo lo cual explica la mayor luminosidad en los tratamientos evaluados. De igual forma los valores presentados en esta investigación son muy parecidos a los reportados por Bourtoom (2008) quien obtuvo valores de luminosidad superiores a 80 % en películas de quitosano y glicerol y similares a los reportados por Joaquín *et al.* (2013) en películas de almidón de 83.92 y 87.89 %. Lira (2012), reportó valores de luminosidad de películas de mucílago de nopal de 37.7 % y 41.6 %, los cuales son menores a los obtenidos en este trabajo, probablemente porque utilizaron una variedad de componentes para su formulación. En este contexto, Torres (2013), mencionó que las películas a base de goma arábiga y cera de candelilla mostraron valores promedio de luminosidad de 83.6 % en películas cuya concentración de cera de candelilla no rebasó el 6 %, el autor indica que a mayor contenido de cera la luminosidad disminuye de manera proporcional, lo cual concuerda con este trabajo.

Por su parte, Martínez (2013), reportó valores de luminosidad menores a los reportados en este trabajo de 72 a 75 % en películas comestibles elaboradas a base de quitosano y pectina de tejocote. De igual modo, Espino *et al.* (2010) trabajaron con películas de mucílago de nopal con la adición de calcio, con

valores de luminosidad en un intervalo de 91 a 94 % ligeramente mayores a los que se hallaron en este trabajo.

6.2.2 Angulo de tono (h°) “Hue”

Para el caso del ángulo de tono (h°) hue, evaluados en las películas indican que todas las películas se encuentran en el ángulo de los tonos verdes-amarillos. De acuerdo a la Figura 4, las películas formuladas como T4, T5 y T6 obtuvieron valores más bajos de hue, lo que indica que se encuentran en los tonos amarillos. Cabe mencionar que la película con la formulación T4 presentó tonos más amarillos y es estadísticamente diferente a las formulaciones T5 y T6, aunque estas películas se elaboraron con aceite esencial de tomillo la diferencia entre los tratamientos pudo haber sido ocasionada por la diferencia entre el porcentaje de polímeros que se usó en las formulaciones, lo cual se puede confirmar con la formulación T1, ya que tiene el mismo porcentaje de polímeros que T4; a diferencia de los tratamientos anteriores T1, T2 y T3 mostraron orientación hacia el color verde; la formulación T1 es estadísticamente diferente de T2 y T3.

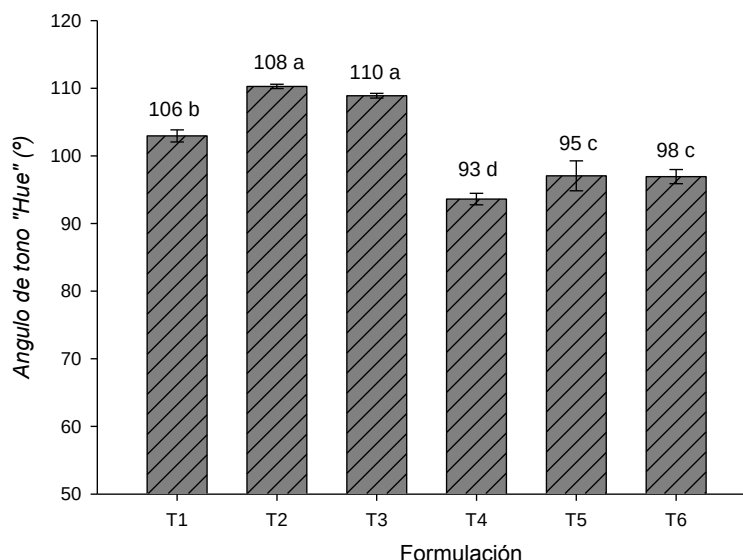


Figura 4. Angulo de Tono (°) Hue de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal, adicionadas con aceites esenciales. Los códigos en el eje de las abscisas representan la formulación para cada película biodegradable. T1 (M, CMC1, AEC), T2 (M, CMC2,

AEC), T3 (M, P2, AEC), T4 (M, CMC1, AET), T5 (M, CMC2, AET), T6 (M, P2, AET). M= 0.5 % de mucílago, CMC= carboximetilcelulosa, P= pectina, AEC= aceite esencial de canela, AET= aceite esencial de tomillo y 1= 1 %, 2=1.5 %. Las barras verticales representan el promedio de tres películas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Martínez (2013) en su trabajo de películas a base de quitosano y pectina reportó valores muy similares al presente trabajo en un intervalo de 98 a 105° debido a que el material que utilizó (pectina de tejocote) le confirió un mayor color amarillo a las mismas. Espino *et al.*, (2010), reportaron valores de ángulo de tono de 96° en películas de mucílago de nopal con la adición de calcio, concordando con los valores de las películas elaborados con aceite esencial de tomillo y no así para las películas elaboradas con aceite de canela. De igual modo existe similitud con el trabajo de Torres (2013) quien reportó valores de tono de 93.7 a 96.7° en películas elaboradas con goma arábiga y cera de candelilla. Pires *et al.*, (2011), en su caracterización de películas biodegradables elaboradas a base de proteínas y aceites esenciales reportaron valores similares de 106 a 107° lo cual sugiere que la concentración de los polímeros, así como los aceites esenciales imparten color a las películas. Por su parte Abraham *et al.* (2008) y Lira (2012) reportaron valores de 64 - 71.3 y 70° respectivamente, inferiores a los encontrados en este trabajo.

6.2.3 Chroma

Para el caso de las películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal se reportan valores bajos de chroma, principalmente para las películas T2 y T3, lo cual indica que existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a las demás películas como se observa en la Figura 5. Esto significa que los tratamientos T1, T4, T5 y T6 mostraron mayor chroma respecto a las primeras. Esto indica que los tratamientos T2 y T3 tienen color verde más tenue que los otros tratamientos. Los valores más altos de chroma indican saturación de color más intensa, además de presentar cierta transparencia en las películas lo que es deseable si se requiere cubrir un alimento. En este contexto, Salinas (2014)

reportó valores de chroma en películas de mucílago de nopal con grenetina de 6.52 muy parecidos a los observados en el presente trabajo. De igual forma, Espino *et al.* (2010) reportan valores similares en películas elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con calcio con valores de 7.93; por su parte Torres (2013) muestra valores más altos de 13.37 a 19.81 en películas de goma arábica y cera de candelilla.

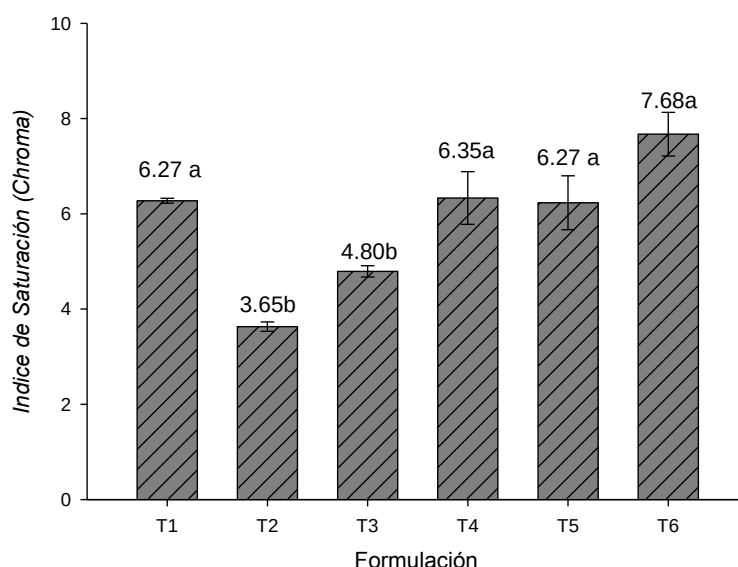


Figura 5. *Índice de Saturación Chroma* de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal, adicionadas con aceites esenciales. Los códigos en el eje de las abscisas representan la formulación para cada película biodegradable. T1 (M, CMC1, AEC), T2 (M, CMC2, AEC), T3 (M, P2, AEC), T4 (M, CMC1, AET), T5 (M, CMC2, AET), T6 (M, P2, AET). M= 0.5 % de mucílago, CMC= carboximetilcelulosa, P= pectina, AEC= aceite esencial de canela, AET= aceite esencial de tomillo y 1= 1 %, 2=1.5 %. Las barras verticales representan el promedio de tres películas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

6.2.4 Espesor

El espesor es una medición muy importante y necesaria que se debe de hacer en películas biodegradables, en este caso, las películas obtuvieron ligera variación con base en su composición, es decir, los valores más altos en espesor

lo presentaron las películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal, pectina cítrica y aceites esenciales de canela (T3) y tomillo (T6) respectivamente, mientras que los valores menores los mostraron las películas elaboradas a base de mucílago de nopal, carboximetilcelulosa y aceites esenciales de canela y tomillo (T1, T2, T4 y T5).

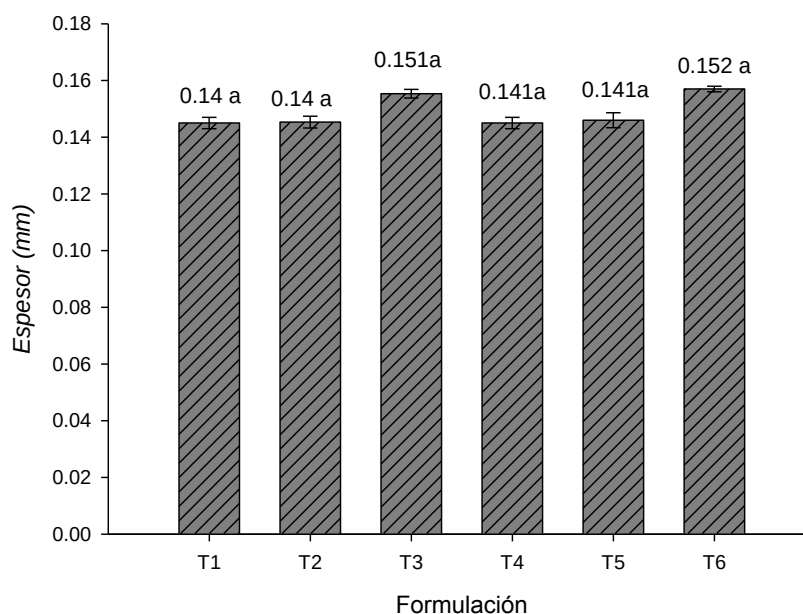


Figura 6. *Espesor (mm)* de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal, adicionadas con aceites esenciales. Los códigos en el eje de las abscisas representan la formulación para cada película biodegradable. T1 (M, CMC1, AEC), T2 (M, CMC2, AEC), T3 (M, P2, AEC), T4 (M, CMC1, AET), T5 (M, CMC2, AET), T6 (M, P2, AET). M= 0.5 % de mucílago, CMC= carboximetilcelulosa, P= pectina, AEC= aceite esencial de canela, AET= aceite esencial de tomillo y 1= 1 %, 2=1.5 %. Las barras verticales representan el promedio de tres películas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Estos valores indican que el espesor de las tienen mayor espesor en aquellas formuladas con pectina respecto a las formuladas con carboximetilcelulosa como se observa en la Figura 6, las películas que presentaron mayor espesor son aquellas con el 1.5 g de pectina y 0.5 g de mucílago de nopal; En este contexto,

se puede decir que los resultados del presente trabajo concuerdan con los reportados por Salinas (2014) quien reportó valores de espesor de 0.131 mm para películas elaboradas a base de mucílago-grenetina y 0.161 mm para películas de mucílago y cera de abeja, al igual que los reportados por Soazo *et al.*, (2011) en la caracterización de películas de suero con cera de abeja formadas por emulsiones, con valores promedio de 0.154 mm. Por otro lado Espino *et al.* (2010) reportaron valores de espesor cercanos a los datos presentados en este trabajo, en películas elaboradas a base de mucílago de nopal con la adición de calcio de 0.127 a 139 mm. Martínez (2013) reportó valores de espesor mayores en películas a base de quitosano y pectina de tejocote de 0.213 mm a 0.219 mm probablemente por la interacción molecular entre el quitosano y la pectina, además de la concentración elevada de glicerol y demás componentes.

6.3 Propiedades Mecánicas de las películas

6.3.1 Porcentaje de elongación (%E)

La elongación es una propiedad usualmente tomada como el punto de ruptura y es expresada como el cambio en el porcentaje de la longitud de referencia de la película (%E), es decir, la capacidad que tiene una película de extenderse antes de romperse. Para el caso de las películas biodegradables que se elaboraron a base de mucílago de nopal, carboximetilcelulosa, pectina (1.5%) y aceites esenciales (T2 y T5) fueron las que mostraron un porcentaje de elongación significativamente más alto, como se observa en la Figura 7, esto sugiere que la concentración de los biopolímeros incrementa el porcentaje de elongación y, a medida en que estos disminuyen, la elongación también. De igual forma las películas cuya formulación fue T3 y T6 mostraron un punto intermedio de elongación, en tanto que las películas T1 y T4 fueron las que menor porcentaje de elongación mostraron debido a que estos últimos se constituyeron por 1 % de biopolímeros, lo que confirma que a menor o mayor proporción disminuye o aumenta el porcentaje de elongación, respectivamente; además se puede decir que los aceites esenciales, no influyeron directamente en esta característica

evaluada debido posiblemente a que la concentración fue similar (1000 μ L) tanto de aceite esencial de canela y de tomillo. Esto demuestra que, el mucílago de nopal en combinación con la carboximetilcelulosa 1.5 % (CMC) y pectina (1.5 %), a medida que incrementa su concentración, hace más resistente la matriz estructural, con lo cual se obtienen películas más resistentes y por tanto, valores relativamente altos de elongación al corte. Lo anterior pudo haber sido ocasionado a la formación de conjunciones intermoleculares más fuertes que en aquellas películas donde sólo se usó el 1% de biopolímeros, provocando que las películas elaboradas a base de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa con 1.5 % y mucílago-pectina 1.5% obtuvieran una mejor estructura al generar mayor interconexión entre los complejos solubles.

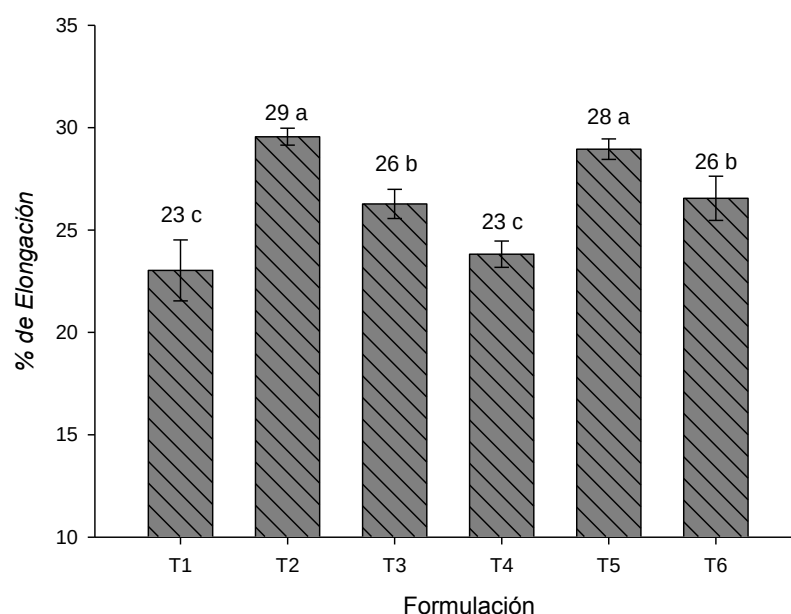


Figura 7. *Porcentaje de Elongación (%)* de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal, adicionadas con aceites esenciales. Los códigos en el eje de las abscisas representan la formulación para cada película biodegradable. T1 (M, CMC1, AEC), T2 (M, CMC2, AEC), T3 (M, P2, AEC), T4 (M, CMC1, AET), T5 (M, CMC2, AET), T6 (M, P2, AET). M= 0.5 % de mucílago, CMC= carboximetilcelulosa, P= pectina, AEC= aceite esencial de canela, AET= aceite esencial de tomillo y 1= 1 %, 2=1.5 %. Las barras verticales representan el promedio de tres películas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Al respecto, Coughlan *et al.* (2004) mencionan que las mezclas de complejos solubles contribuyen en un mejor desempeño de las propiedades funcionales de las películas que sólo los polisacáridos por separado. Bonilla *et al.* (2012) encontraron que la adición de una fase lipídica a películas biodegradables disminuye sus propiedades mecánicas, porque existe una discontinuidad en la matriz estructural, provocando pérdida de cohesión y una caída en la resistencia mecánica. En éste contexto, se puede decir que las películas a pesar de estar constituidas por una fracción gravimétrica (Φ) de fase oleosa de 0.05 no mostraron esa tendencia, sino lo contrario, ya que las películas elaboradas con mucílago-carboximetilcelulosa al 1.5% y mucílago-pectina al 1.5% conservaron sus características mecánicas en cuanto al porcentaje de elongación. Espino *et al.* (2010) reportaron valores similares a los del presente trabajo con un 24.06 % de elongación; Torres (2013) obtuvo valores muy similares en el porcentaje de elongación en la caracterización de películas a base de goma arábica y cera de candelilla con un promedio de 24.39 % de elongación, en tanto Martínez (2013) obtuvo valores superiores a los reportados en este trabajo (pero más cercanos a las películas que exhiben porcentajes de elongación altos) con promedios de 34.93% en películas de quitosano-pectina y aceite de oliva con una fracción gravimétrica de 0.1; Lozano (2014) reportó valores parecidos con un 23.93 % en películas de pectina de tejocote y cera de candelilla. En este contexto, se puede decir que las propiedades mecánicas son importantes para las películas biodegradables, porque una resistencia mecánica adecuada asegura la integridad de la película y su ausencia de defectos menores, como agujeros pequeños. La información cuantitativa de parámetros mecánicos de las películas comestibles es esencial para su diseño adecuado, (Murillo *et al.*, 2011).

Las películas basadas en complejos biopoliméricos (mucilago, carboximetilcelulosa, pectina) son materiales viscoelásticos que poseen características tanto de un material sólido como de un líquido. Una matriz tridimensional, construida por la interacción entre los biopolímeros y la formación del complejo soluble, hace suponer que la estructura de soporte dicta las propiedades mecánicas de las películas (Murillo-Martínez *et al.*, 2011). Las

interacciones que se llevan a cabo entre los biopolímeros, el tipo de disolvente, los plastificantes, lípidos y otros aditivos dispersados en el espacio de la matriz estructural, también contribuyen a las propiedades mecánicas de las películas (Chen *et al.*, 1995).

6.3.2 Esfuerzo de tensión (ET)

En la Figura 8 se observa como el esfuerzo de tensión aumentó con base en su composición, ya que las películas elaboradas a base de mucílago de nopal con 1.5 % de biopolímeros tanto de carboximetilcelulosa como de pectina obtuvieron mayor valor, independientemente del aceite esencial con que fueron elaborados. De igual modo las películas con menor valor de fuerza de tensión fueron las de mucílago con carboximetilcelulosa con 1 % de biopolímeros, tanto para aceite esencial de canela como para el aceite esencial de tomillo; se esperaba que las películas con pectina y carboximetilcelulosa a la misma concentración (1.5 %) tuvieran diferencia, pero no fue así, ya que estadísticamente son iguales, pero diferentes entre sus concentraciones 1 % y 1.5 % ($p \leq 0.05$).

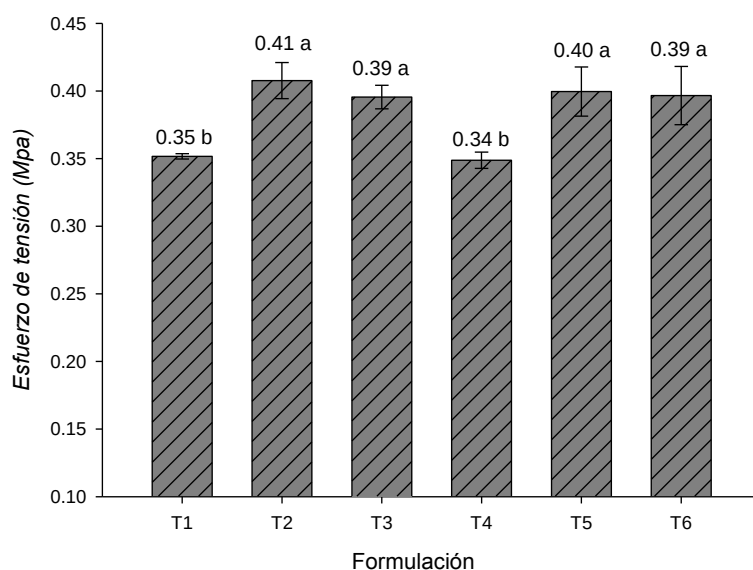


Figura 8. *Esfuerzo de tensión (Mpa)* de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal, adicionadas con aceites esenciales. Los códigos en el eje de las abscisas

representan la formulación para cada película biodegradable. T1 (M, CMC1, AEC), T2 (M, CMC2, AEC), T3 (M, P2, AEC), T4 (M, CMC1, AET), T5 (M, CMC2, AET), T6 (M, P2, AET). M= 0.5 % de mucílago, CMC= carboximetilcelulosa, P= pectina, AEC= aceite esencial de canela, AET= aceite esencial de tomillo y 1= 1 %, 2=1.5 %. Las barras verticales representan el promedio de tres películas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

La adición de lípidos en películas a base de hidrocoloides producen una estructura heterogénea, debido a que las moléculas del lípido interrumpen la matriz del hidrocoloide, produciendo pequeños puntos de fractura que reducen la resistencia a pruebas mecánicas, y por lo tanto a la obtención de películas frágiles (Perez-Gago y Krochta, 2001; Shellhamer y Krochta, 1997). Lo anterior indica que el aumento en la concentración de biopolímeros hace más resistentes a las películas, mientras que la adición de la fase lipídica, es decir, los aceites esenciales, no parecen afectar la matriz estructural debido en parte a que la concentración de los aceites fue constante (1000 μ L) o muy pequeña para afectarla.

Se sabe que en películas emulsionadas con hidrocoloides y lípidos existe un menor contenido de agua en las mismas, además de que hay valores más bajos en sus propiedades mecánicas, comparándolas con películas formadas únicamente con hidrocoloides. En este contexto, se esperaría que las películas tuvieran un menor esfuerzo de tensión, sin embargo no fue así, ya que se obtuvieron valores relativamente altos, ya que las asociaciones intermoleculares (como ya se había mencionado en el apartado anterior), pudieron haber provocado que las películas con mayor concentración de polímeros e igual concentración de aceite presentaran una mejor y más regular red interna (Martínez, 2013).

Los mayores esfuerzos de tensión concuerdan con lo reportado por Salinas (2014), cuyos valores promedio fueron de 0.38 Mpa para películas elaboradas a base de mucílago de nopal con cera de abeja y grenetina en concentraciones del 1 %, al igual que los valores reportados por Lira (2012) con promedios de 0.39 Mpa en películas de mucílago de nopal variedad Milpa Alta; de igual forma estos

resultados están por encima de los reportados por Martínez (2013) quienes reportan valores de 0.26 y 0.30 Mpa en películas de quitosano y aceite de oliva; los valores que más se asemejan a este trabajo para las películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales con esfuerzos de tensión de 0.41 Mpa son los reportados por Espino *et al.* (2010) quienes reportaron valores de 0.40 a 0.58 Mpa en películas de mucílago con la adición de calcio.

Las propiedades mecánicas de las películas biodegradables están directamente relacionadas con su estructura química; los valores de fuerza de tensión encontrados en películas de mucílago de nopal pueden ser dependientes del tamaño de las moléculas, las asociaciones intra e intermoleculares, el peso y su arreglo molecular del mucílago, a partir de ello, se demuestra que las películas elaboradas por la asociación polisacárido -polisacárido tienen mayor resistencia a pruebas mecánicas (Fabra *et al.*, 2010).

6.3.3 Permeabilidad a Vapor de Agua (PVA)

Las películas elaboradas a base de mucílago de nopal con carboximetilcelulosa adicionadas con aceites esenciales de canela y de tomillo exhibieron una ligera mayor permeabilidad a vapor de agua con base en su formulación (T1, T2, T4 y T5), como se muestra en la Figura 9, en tanto que las películas elaboradas con mucílago de nopal, pectina y aceites esenciales de canela y tomillo con 1.5% de biopolímeros (T3 y T6), obtuvieron una menor permeabilidad a vapor de agua. Lo anterior confirma que los polisacáridos (hidrocoloides) pueden formar una buena matriz estructural para formar películas con una buena permeabilidad a vapor de agua, siempre y cuando exista la agregación de una fase lipídica.

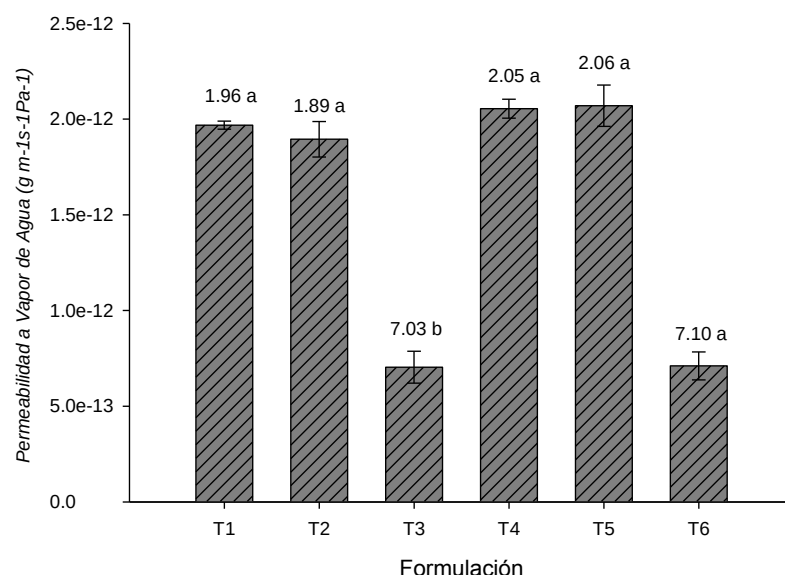


Figura 9. Permeabilidad a Vapor de Agua ($\text{g m}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$) de diferentes películas biodegradables elaboradas a base de mucílago de nopal, adicionadas con aceites esenciales. Los códigos en el eje de las abscisas representan la formulación para cada película biodegradable. T1 (M, CMC1, AEC), T2 (M, CMC2, AEC), T3 (M, P2, AEC), T4 (M, CMC1, AET), T5 (M, CMC2, AET), T6 (M, P2, AET). M= 0.5 % de mucílago, CMC= carboximetilcelulosa, P= pectina, AEC= aceite esencial de canela, AET= aceite esencial de tomillo y 1= 1 %, 2=1.5 %. Las barras verticales representan el promedio de tres películas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

En este contexto y de acuerdo con Pérez-Gago *et al.* (2005); Mc Hugh y Krochta, (1994), al aumentarse el contenido de lípidos se mejora la barrera a PVA de las películas, con la restricción de que se distribuya de manera uniforme en la matriz del hidrocoloide, lo que podría aumentar la longitud de la trayectoria de migración conocido como “tortuosidad” de las moléculas de agua, inmovilizando el hidrocoloide en la interface, dando como resultado una estructura más ordenada y fuertemente hilada o entrelazada.

Los datos obtenidos en este trabajo resultaron ser ligeramente mejores que los reportados por Abrajam (2008) cuyos valores son de $3.45 \times 10^{-9} \text{ g m}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ a $8.81 \times 10^{-9} \text{ g m}^{-1}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ en películas a base de mucílago de nopal con ácido oleico a una humedad relativa del 75.5 %. De igual forma los datos que se presentan en este trabajo se acercan a los presentados por Martínez (2013) en películas de

quitosano y aceite de oliva con promedios de 0.79×10^{-11} a $1.54 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ y a los reportados por Bosques, *et al.* (2010) con 60.2×10^{-11} a $101.2 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ en películas comestibles de goma de mezquite, cera de candelilla y aceite mineral; de manera similar Torres (2013) reportó valores de $1.253 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para películas de goma arábica y cera de candelilla; Souza *et al.* (2015) determinaron valores de $23.38 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para películas de quitosano y $24 \times 10^{-11} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ para películas de quitosano y quercetina. En contexto, se puede apreciar que la permeabilidad varía entre cada película, lo cual depende en gran medida de los componentes con los cuales se elaboren y sobre todo a la concentración hidrofílica que se utilice.

El Cuadro 6 muestra otras comparaciones de películas elaboradas con diferentes biopolímeros, incluso con materiales sintéticos, donde se observan los diferentes gradientes de PVA con base en su composición.

Cuadro 6. Comparación de la permeabilidad a vapor de agua (a $25^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$) de algunos polímeros sintéticos y biodegradables.

Material formador de película	Permeabilidad a Vapor de Agua
	$\text{g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
<i>Sintético</i>	
Poliéster	3.6×10^{-13}
Polipropileno (PP)	6.5×10^{-13}
Cloruro de Polivinilo (PVC)	2.16×10^{-11}
Polietilen Tereftalato (PET)	S/D*
Polietileno de Baja Densidad (LDPE)	8.1×10^{-13}
Polietileno de Alta Densidad (HDPE)	2.52×10^{-13}
<i>Biodegradable</i>	
Metilcelulosa (MC)	9.35×10^{-13}
Hidroxipropilcelulosa (HPC)	5.55×10^{-7}
Poliéster de Sacarosa	4.2×10^{-13}
Zeína	1.17×10^{-10}
Chitosan	4.9×10^{-10}
Gluten de trigo	9.18×10^{-11}
Proteína de soya	3.49×10^{-10}

*S/D: Sin Determinar

Fuente: Miller y Krochta (1997) y Park (1999)

Lo anterior indica que tanto los polímeros sintéticos como los biopolímeros ejercen una buena PVA, en este caso los biopolímeros mucílago de nopal-pectina de alto metoxílo, ejercieron un mejor control a la PVA, incluso parecidos a los polímeros sintéticos como el polipropileno, el poliéster y el polietileno de baja densidad, de igual manera con los biopolímeros como el poliéster de sacarosa o la metilcelulosa; para el caso las películas de mucílago de nopal-carboximetilcelulosa los valores que más se asemejan a los polímeros sintéticos son el cloruro de polivinilo y para el caso de biopolímeros los datos se asemejan más al gluten de trigo.

La permeabilidad a vapor de agua es uno de los principales parámetros que se evalúan en la conservación de alimentos, particularmente para recubrir alimentos como las frutas u hortalizas, ya que indica su capacidad para proteger al alimento de agentes físicos externos. Las películas elaboradas a base mucílago de nopal - pectina, ejercieron una mejor PVA al parecer por: a) el peso molecular y el arreglo estructural que tiene el mucílago, b) una parte de la composición del mucílago está conformada por ácido galacturónico, haciéndolo más compatible con los enlaces del mismo componente (ácido galacturónico) pero de la pectina de alto metoxílo, dando como resultado un mejor arreglo estructural, además de la capacidad que tiene el mucílago de retener agua y, c) la adición de la fase lipídica al complejo soluble (Fabra *et al.*, 2010).

7. Medición de parámetros físicos de la fruta tratada con los recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal y aceites esenciales

7.1.1 Color

Variaciones en el color se identificaron a través del tiempo en frutos de papaya a los que se recubrieron con emulsiones elaboradas a base de mucílago de nopal y aceites esenciales, pues adquirieron un cambio de color, ya que, del color verde que presentaban los frutos al inicio se reportaron colores más amarillos al finalizar este experimento, con valores “hue” cerca de los 90°. Como se puede apreciar, los frutos con mayor cambio hacia los tonos amarillos fueron los que se recubrieron con aceite esencial de canela y los frutos testigo, en tanto que los frutos que se recubrieron con aceite esencial de tomillo mostraron una menor orientación hacia los tonos amarillos, lo que hace suponer que los frutos con este tipo de recubrimiento pudo conservar el cambio de color en frutos, lo que significa que podrían tener un mejor comportamiento poscosecha. Posiblemente este comportamiento también se deba a la homogeneidad de los frutos, el tiempo de almacenamiento, la temperatura, entre otros factores. Santamaría-Basulto *et al.* (2009), indican que el proceso de maduración de la papaya involucra degradación de clorofila y síntesis de pigmentos carotenoides, lo que se traduce en una disminución en el ángulo de tono (°) hue. El color de la cáscara es la característica más utilizada para evaluar el estado de maduración de las frutas de papaya. Las recomendaciones para la cosecha se basan en el cambio del color verde oscuro a verde claro y la aparición de tonos amarillos en el extremo distal (Kader, 2009), lo anterior indica que los frutos de papaya evaluados mostraron esta característica, como se observa en la Figura 10.

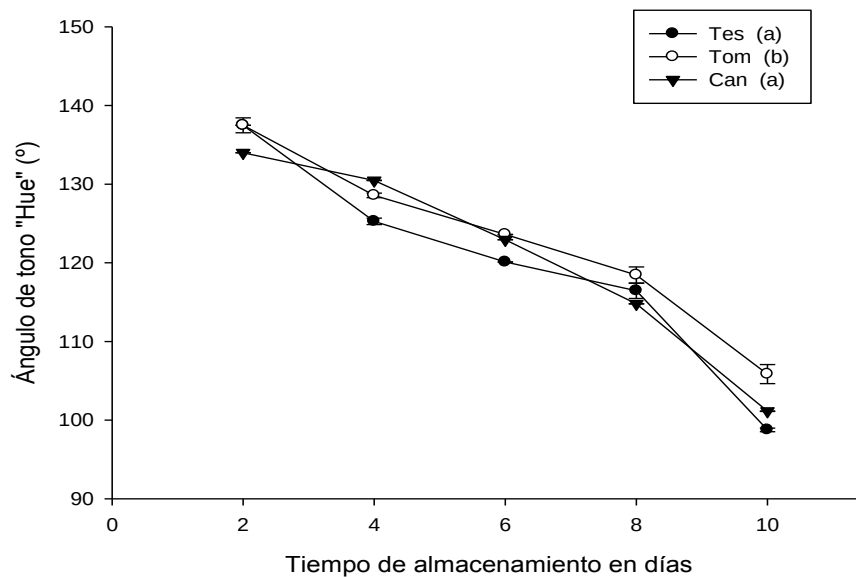


Figura 10. Evolución del ángulo de tono “Hue” (°) en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo almacenadas durante 10 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el promedio de tres replicas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Dado que existe poca documentación en trabajos sobre recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal y aceites esenciales aplicados a papaya, se tomaron como referencia otros recubrimientos, principalmente para contrastar los valores de ángulo de tono (°) hue. Según Lira (2012) quien evaluó el color en chirimoyas con recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal con grenetina, encontraron que los frutos recubiertos mostraron un ángulo de tono mayor respecto a los frutos sin recubrimiento almacenados a diferentes temperaturas, al igual que Almeida *et al.* (2011), reportaron valores mayores de ángulo de tono (°) hue, para frutos de papaya recubiertos con película de almidón de yuca al 2 % respecto a los frutos sin película; de igual modo Laureano (2013), encontraron que los frutos de papaya con recubrimiento elaborado a base

mucílago de nopal con extracto de orégano mostraron un ángulo de tono mayor respecto a los frutos que no fueron recubiertos.

7.1.2 Pérdida de Peso

De acuerdo con la Figura 11, la tendencia observada es un incremento en la pérdida de peso durante el almacenamiento, siendo mayor en las muestras sin recubrimiento y menor en las muestras con recubrimiento. Castricini *et al.* (2009), han señalado que en muestras de papaya con recubrimientos de almidón con un 3 % obtuvieron mejores propiedades de retención de vapor de agua y que la pérdida de peso está directamente relacionada con la tasa de transpiración de los productos frescos. Este factor es crucial para preservar la fruta, una pérdida de peso en relación al peso inicial deprecia el valor de la apariencia de los frutos, debido a que presentan una superficie arrugada. La papaya se comercializa por unidad de peso, y la pérdida del mismo resulta en menor rendimiento.

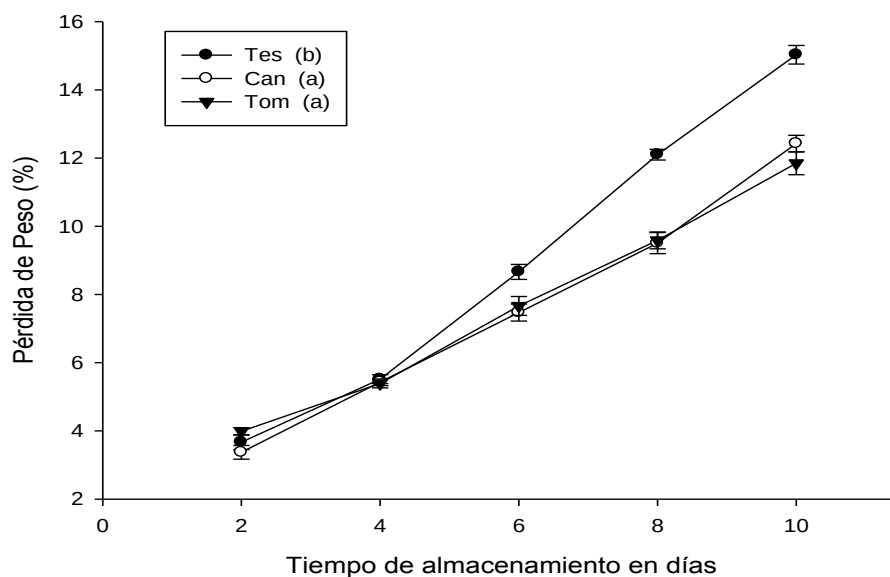


Figura 11. Evolución de pérdida de peso en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo durante 10 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el

promedio de tres replicas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

7.1.3 Sólidos solubles totales.

Con la maduración el contenido de sólidos solubles totales (SST) tiende a aumentar (Santamaría-Basulto *et al.*, 2009). Este comportamiento se observó de manera discreta en las muestras testigo, las muestras con y sin recubrimiento mostraron similitud hasta el sexto día, posterior a este tiempo hubo un aumento de SST. De acuerdo con Fan *et al.* (1992), puede ocurrir un descenso o estabilidad en los sólidos solubles durante el almacenamiento, que se justifica por el consumo de sustratos en el metabolismo respiratorio de la fruta. Las frutas recubiertas con la emulsión presentaron menores valores de sólidos solubles que los frutos testigo en el décimo día de almacenamiento. Esta tendencia podría estar relacionada con el retardo del proceso de maduración en los frutos revestidos con el recubrimiento. Similar comportamiento fue observado por Castricini *et al.* (2009) en muestras testigo de papayas recubiertas con almidón de yuca al 3 % por igual período y almacenadas en refrigeración a 5 °C. Para todas las muestras los valores alcanzados el último día, fueron mayores a los indicados por Santamaría-Basulto *et al.* (2009), de 10 °Bx en papaya en madurez de consumo y por Sañudo-Barajas *et al.* (2008), de 12 °Bx.

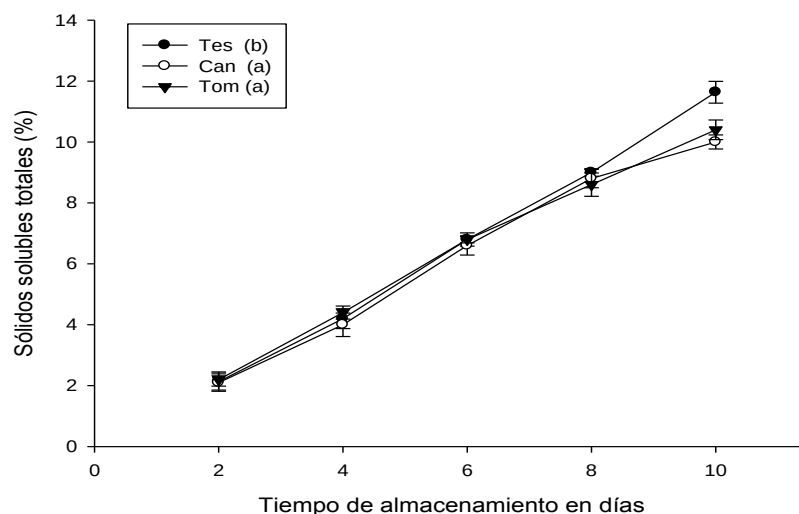


Figura 12. Evolución de Sólidos solubles totales en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo almacenadas durante 10 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el promedio de tres replicas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

7.1.4 Evaluación del pH

Como se observa en la Figura 13, esta variable aumento con el transcurso del tiempo, pero no se encontraron diferencias significativas entre cada tratamiento. En este contexto Pinto *et al.*, 2006, explican que la razón del aumento del pH puede ser debido a la mayor actividad metabólica en el pico climatérico característico de la papaya, lo que llevaría a la síntesis de ácidos orgánicos de la fruta y que mayores valores de pH se deben probablemente a la reducción de la actividad metabólica durante el climaterio.

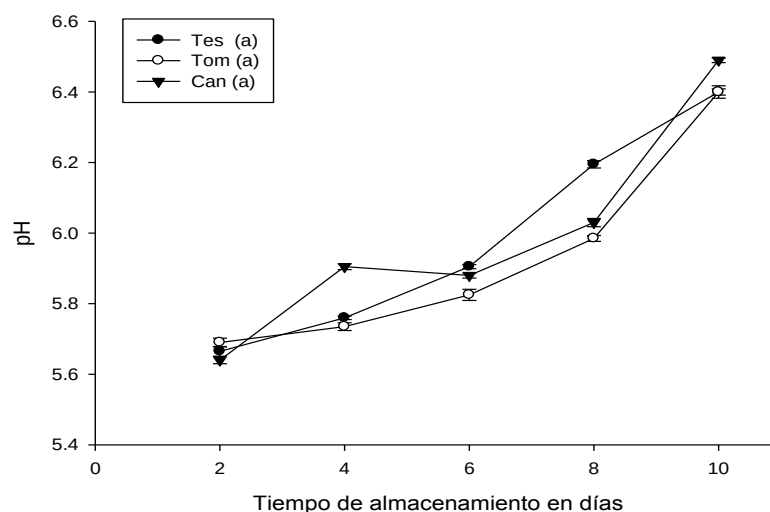


Figura 13. Evolución del cambio de pH en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionados con aceites esenciales de tomillo y canela, almacenadas durante 10 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el promedio de tres replicas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

7.1.5 Acidez titulable

En general la acidez titulable disminuyó a través del tiempo de almacenamiento, sin embargo los frutos con recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal en combinación con otros polímeros adicionados con aceites esenciales de canela y tomillo tuvieron valores mayores respecto a los frutos que no fueron tratados con el recubrimiento, presentando estos últimos menores valores de acidez titulable hasta el décimo día como se puede observar en la Figura 14. En contexto, el proceso de maduración de la papaya se debe al consumo de ácidos orgánicos, ya que la fruta no tiene reservas de almidón (Draetta *et al.* 1975). Éste comportamiento fue similar según Sañudo-Barajas *et al.* (2008) en una muestra, testigo de papaya. Por otra parte, Pinto *et al.* (2006) señalan que la disminución de la acidez de la fruta se debe probablemente a la reducción de la actividad

metabólica durante el climaterio. Henrique y Evangelista *et al.*, 2006 observaron que después de cinco días de almacenamiento a 5 °C, zanahorias mínimamente procesadas y cubiertas con recubrimiento biodegradable, produjeron una disminución de la acidez en los diez primeros días.

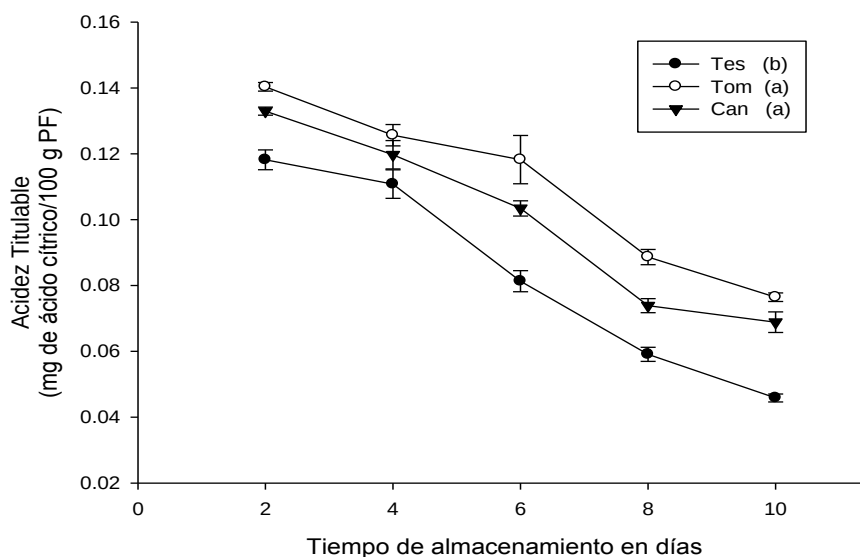


Figura 14. Evolución de la acidez titulable (mg de ácido cítrico/100 g PF) en papayas con recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal en combinación con otros polímeros adicionadas con aceites esenciales, almacenadas durante 10 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el promedio de tres replicas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

7.1.7 Determinación de acetaldehído y etanol.

Los frutos que fueron tratados con los recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal adicionados con aceites esenciales presentaron el mayor aumento en el contenido de etanol respecto al testigo, como se observa en la Figura 16. Se observa que a partir del día seis se empieza a notar una marcada diferencia en los frutos recubiertos respecto al testigo, ambos recubrimientos presentaron diferencia estadística ($p \leq 0.05$), respecto al testigo, se observa que los frutos tratados con el recubrimiento elaborado a base de mucílago con aceite esencial de canela presento mayor contenido de etanol, respecto a los frutos con recubrimiento de mucílago de nopal y aceite esencial de tomillo, esto pudo haber sido ocasionado posiblemente porque al generar una cubierta sobre los frutos en estos se presentara anaerobiosis. Podd y Van Staden (1998) mencionaron que en condiciones naturales la proporción acetaldehído/etanol es 1:1, y se puede incrementar a 1:5 ó 1:2 por la exposición del fruto a niveles elevados de CO₂.

La velocidad de respiración de frutas y hortalizas se mide mediante la cantidad de oxígeno consumido, CO₂ producido o ambos. La mayor parte de la energía requerida por las frutas y hortalizas se obtiene mediante la respiración aeróbica (Balwin *et al.*, 1995), sin embargo si el contenido de O₂ es limitante, lo que ocurre con algunos recubrimientos biodegradables y en condiciones de almacenamiento, los tejidos de los frutos pueden experimentar respiración anaerobia; en este caso la glucosa se convierte en piruvato, el cual se metaboliza ya sea a ácido láctico o acetaldehído y etanol, dando como resultado la fermentación (Wills *et al.*, 1999).

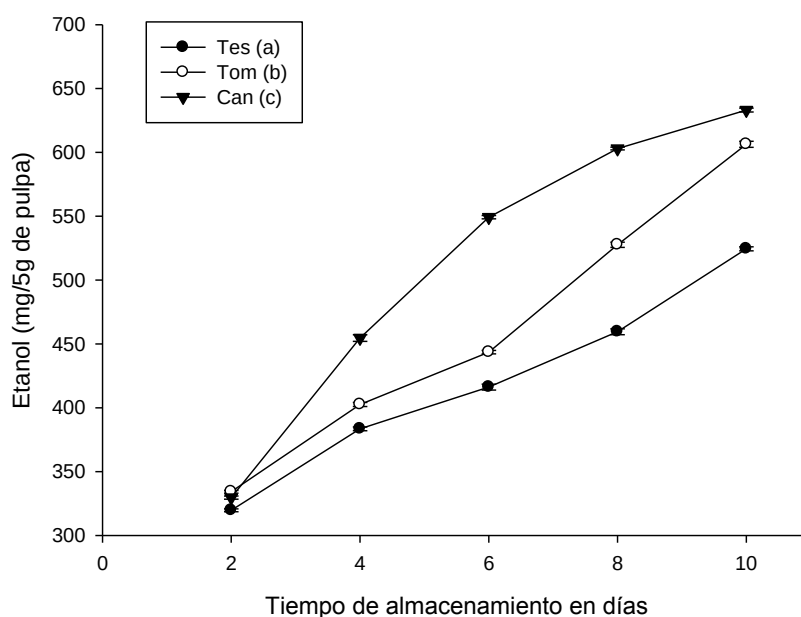


Figura 16. Evolución del contenido de etanol en papayas con recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago nopal y aceites esenciales de canela y tomillo almacenadas durante 10 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el promedio de tres replicas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

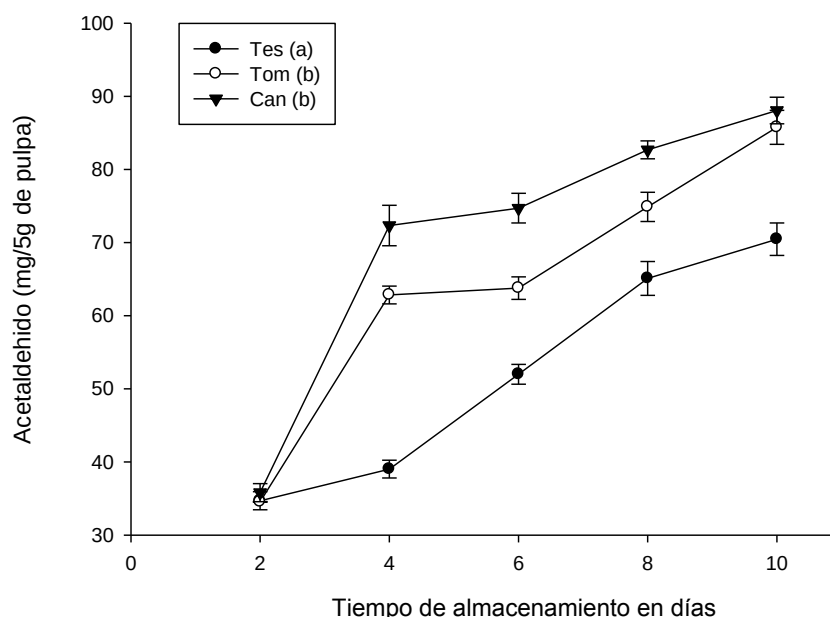


Figura 17. Evolución del contenido de acetaldehído en papayas con recubrimiento biodegradable a base de mucílago de nopal adicionados con aceites esenciales, almacenadas durante 10 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el promedio de tres replicas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

De igual forma, el acetaldehído incrementó en aquellos frutos que fueron tratados con los recubrimientos biodegradables elaborados a base de mucílago de nopal, lo cual concuerda con los datos anteriores de etanol.

7.2 Resultados de la recuperación de *Salmonella* en frutos de papaya.

Existen pocos trabajos sobre el uso de recubrimientos a base de mucílago de nopal con la adición de aceites esenciales para el control de *Salmonella* Typhimurium en frutos de papaya, sin embargo existen reportes sobre el uso de estos aceites cuyos resultados han tenido efectos benéficos para el control de microorganismos enteropatógenos. Rojas-Grau *et al.* (2007), reportaron que el

recubrimiento a base de puré de manzana alginato, glicerol y aceite esencial de tomillo y canela en trozos de mango, disminuyó el desarrollo de *Listeria innocua*, hasta un 50 % más que en los no tratados.

Para el presente trabajo los resultados de éste experimento no fueron los deseados, ya que no se logró inhibir a la bacteria *Salmonella* Typhimurium. Como se observa en la Figura 18, para el sexto día de almacenamiento los frutos tratados con el recubrimiento a base de mucilago de nopal y aceite esencial de tomillo mostró un decremento respecto al tratamiento de canela y el testigo, sin embargo, para el día diez de almacenamiento, los conteos de unidades formadoras de colonias no tuvieron diferencia significativa, esto probablemente pudo haber sucedido por las siguientes razones: a) la bacteria que se proporcionó para éste estudio fue muy resistente al tratamiento, b) la temperatura de experimentación influyó directamente en el crecimiento de la bacteria, pues la temperatura de este microorganismo debe ser de 36 °C y c) la concentración de 1000 µL en el recubrimiento no fue suficiente para notar un efecto bactericida o bacteriostático. Ante este hecho Bozquez-Molina *et al.* (2010) indican que la concentración de los aceites esenciales es primordial para llevar a cabo una reducción considerable en los microorganismos tratados. No obstante, Plotto *et al.* (2003), reportaron que en frutos de papaya tratados con aceites esenciales para la reducción de microorganismos, hubo una mayor infección debido a las altas concentraciones de los aceites esenciales utilizados, estos autores mencionan que las altas concentraciones podrían ser el resultado de los efectos fitotóxicos de los aceites esenciales en la herida que se provocó a los frutos, el cambio de la capacidad de la epidermis del tejido de la fruta para detener la germinación de esporas.

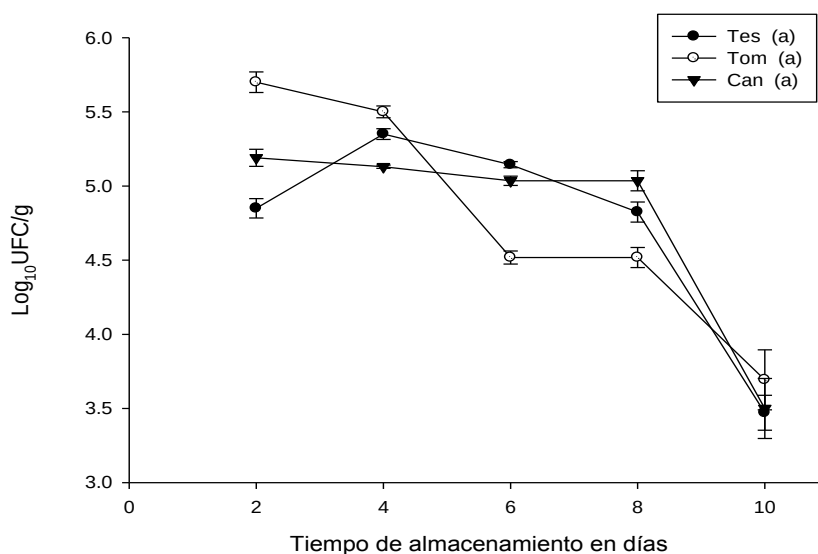


Figura 18. Evolución del descenso de Log₁₀UFC/g en papayas sometidas a diferentes tratamientos, almacenadas durante 10 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el promedio de tres replicas $\pm$ SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

7.3 Resultados de la evaluación de recubrimientos sobre *Colletotrichum gloeosporioides* *in vitro*.

Las propiedades antimicrobianas de aceites esenciales a partir de varias especies de plantas han sido probadas para afectar y detener el desarrollo de hongos *in vitro* e *in vivo* en diversos productos hortícolas. El aceite esencial de Tomillo (*Thymus vulgaris*) ha sido utilizado por ser un agente antibacterial y antifúngico sobre diversos microorganismos patógenos (Hammer *et al.*, 1999; Vanneste y Boyd, 2002; Rassooli y Mirmostafa, 2003; Yang y Clausen, 2007).

En este contexto, en esta parte del estudio, se encontró que las emulsiones elaboradas a base de mucílago de nopal más la adición de carboximetilcelulosa y aceites esenciales de tomillo y de canela en una concentración de 2500 μ L

usadas como recubrimiento ejercieron un control efectivo en el crecimiento de *C. gloeosporioides* evaluados *in vitro*, como se muestra en la Figura 19. Las cajas que fueron tratadas con recubrimientos biodegradables y aceites esenciales no tuvieron incremento en el diámetro micelial, en tanto que las cajas testigo que no fueron tratadas con los recubrimientos obtuvieron un crecimiento del 100 % al finalizar el experimento, esto concuerda con Abd-Alla *et al.* (2006); Feng y Zheng, *et al.*, (2007) quienes encontraron que la concentración de aceite esencial de tomillo afectó de manera significativa el crecimiento *in vitro* de *C. gloeosporioides* y *R. stolonifer* en lugar del tiempo de incubación. De igual forma en estudios postcosecha, los ensayos *in vitro* mostraron que los hongos tales como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, y *Alternaria alternata* se controlaron en un 100% con aceite esencial de tomillo incorporado en agar nutriente a 500 mg L⁻¹ (Plotto *et al.*, 2003).

Está documentado que, fungicidas sintéticos no sistémicos y agentes de control biológicos son ineficaces en el control de infecciones latentes. Los aceites esenciales pueden proporcionar una amplia variedad de compuestos como alternativas a los fungicidas sintéticos; Sin embargo, no se han desarrollado en productos para tratamientos de postcosecha. Su potencial como alternativas para el control de la enfermedad reside precisamente en que su actividad antimicrobiana no es atribuible a un mecanismo específico por lo que es difícil crear resistencia en los microorganismos (Burg, 2004).

Esta parte del experimento en comparación con la anterior (*in vivo*) ha demostrado el potencial de utilizar recubrimientos comestibles a base de mucílago de nopal con aceites esenciales de canela y tomillo en la inhibición y desarrollo de *Colletotrichum gloeosporioides in vitro*. Además, se considera que estos recubrimientos elaborados a base de emulsiones encubren los olores de los aceites utilizados, por lo que podrían utilizarse en alimentos mínimamente procesados.

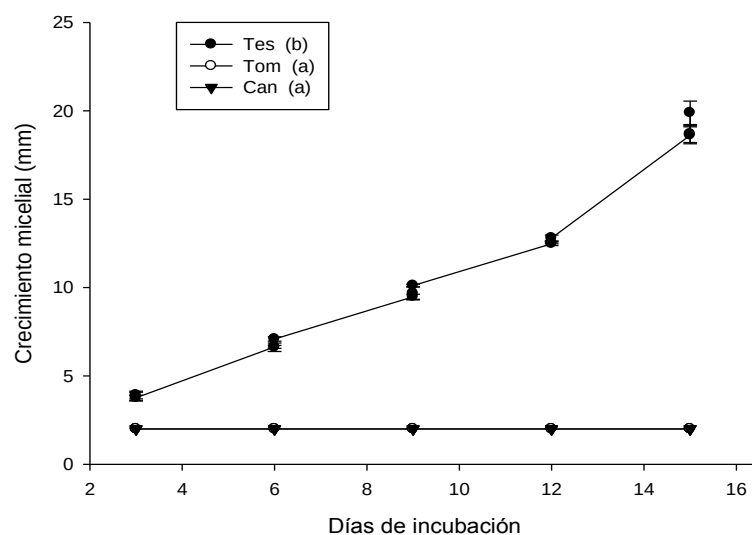


Figura 19. Evolución del incremento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. Tratamientos *in vitro* almacenados durante 15 días a 24 ± 0.5 °C. Tes: Testigo, Tom: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Tomillo, Can: mucílago de nopal + CMC + Aceite Esencial de Canela. Las barras verticales representan el promedio de tres repeticiones ±SD. Diferentes letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

8. CONCLUSIONES

- Se logró extraer y purificar el mucílago de nopal de la variedad Milpa Alta (100 gramos aproximadamente) para la formulación de las emulsiones aceite en agua que se usaron para las películas y recubrimientos biodegradables.
- Se lograron estabilizar (no existió la separación de fases) emulsiones formadoras de películas a base de mucílago de nopal con la adición de otros biopolímeros como carboximetilcelulosa y pectina, además de la incorporación de los aceites esenciales de canela y tomillo, lo cual fue un gran reto por las características fisicoquímicas que estos presentan.
- Las películas que se formaron mediante emulsiones tanto de canela como de tomillo presentaron características idóneas en comparación con las reportadas por diversas literaturas. Las películas que se formaron con mucílago y carboximetilcelulosa (1.5 % de biopolímeros) adicionadas con aceites esenciales de canela y tomillo fueron las que mejores características presentaron en cuanto a luminosidad, hue, espesor, esfuerzo de tensión y porcentaje de elongación, respecto a las elaboradas con mucílago de nopal y pectina.
- Los recubrimientos elaborados a base de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa (1.5 %) con la adición de aceites esenciales de tomillo, logró conservar alguno parámetros de calidad en frutos de papaya como el color, la pérdida de peso y sólidos solubles totales, respecto al recubrimiento con la misma formulación pero con aceite esencial de canela, ya que éste presentó diferencia significativa en el contenido de etanol.
- Los recubrimientos que se usaron en la parte experimental en frutos de papaya no tuvieron un efecto en el control de *Salmonella Typhimurium*, respecto a los frutos testigo, ya que al término del experimento (diez días)

todos los recubrimientos mostraron la misma carga bacteriana, es decir, 3.5 Log₁₀UFC/g.

- Los recubrimientos a base de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa (1.5 %) con 2500 µL de aceite esencial de canela y de tomillo tuvieron efecto *in vitro* sobre el crecimiento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, lo que indica que los recubrimientos con mayor cantidad de aceite esencial obtuvieron mejores resultados respecto a los usados en el experimento *in vivo*.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, R. M.; Nieto–Ángel, D.; Domínguez–Álvarez, J. L. y Delgadillo–Sánchez, F. (2001). Calidad y tolerancia en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., en postcosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura*.7:119–130.
- Abraján, V.M. (2008). Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago del nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de Tecnología de Alimentos. Valencia, España.
- Abd-Alla, M.A., El-Mohamedy, R.S.R., Badeaa, R.I., (2006). Effect of some volatile compounds on black mould disease on onion bulbs during storage. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 2, 384–390.
- Arras, G., and Usai, M. (2001). Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection* 64:1025-1029.
- Atarés, L; Bonilla, J. and Chiralt, A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*. 100: 678–687.
- Aular, J. (2006). Consideraciones sobre el manejo postcosecha de frutas en Venezuela. *In*: Salamanca, G. (Ed.) Anales del Seminario Hortofrutícola Colombiano y I Congreso Iberoamericano sobre Sistemas de Procesado. Ibagué-Tolima: 59-62 (Abstract).
- Antunes, C. F.; Renner S.S. (2012). A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 65:46 – 53.

- Almeida, C. A.; Resi, P. J. D; Santos, S. D; Vieira de Oliveira T; da Costa O. M. (2011). Estudio de la conservación de la papaya (*Carica papaya* L.) asociado a la aplicación de películas comestibles. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2 (1): 049-060.
- Avena- Bustillos, R. J., Krochta, J.M., Salveit, M.E., Rojas- Villegas, R.J., and Saucedo-Perez, J.A. (1994). Optimization of edible coating formulations on zucchini to reduce water loss. *Journal Food Engineering* 21:197-214.
- Barrientos, P.F. (1983). Nopal y agaves como recurso de zonas áridas y semiáridas de México en recursos agrícolas de zonas áridas y semiáridas de México. Centro de genética, Chapingo, México.
- Beverly, R. L., Janes, M.E., Prinyawiwatkula, W., and No, H. K. (2008). Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology* 25:534- 537.
- Bósquez-Molina, E., Guerrero-Legarreta, M. I., Vernon-Carter, E. J. (2003). Moisture barrier properties and morphology of mesquite gumcandelilla wax based edible emulsion coatings. *Food Research International*, 36: 885-893.
- Bosquez-Molina, E., Bautista-Baños, S., y Morales-López, J. (2009). Aceites esenciales: Bioconservadores con alto potencial en la industria alimentaria. *Industria Alimentaria* 31:12-24.
- Bosquez, M.E., Tomás, S.A., Rodríguez, H.M.E. (2010). Influence of CaCl₂ on the water vapor permeability and the surface morphology of mesquite gum based edible films. *LWT. Food Science and Technology* 43: 1419-1425.
- Bonilla, J., Atarés, L., Vargas, M., Chiralt, A. (2012). Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. *Food Hydrocolloids*, 26: 9-16
- Bourtoom, T. 2008. Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan. *Songklanakarin Journal Science and Technology* 30(1): 149-165.

- **Bravin, B., Peressini, D., and Sensidoni, A. (2006).** Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. *Journal of Food Engineering*. 76:280-290.
- **Bravo H., H. (1978).** Las Cactáceas de México. Tomo 1. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- **Burg, S., (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223–253.
- **Cardenas, A., Goycoolea, F.M. y Rinauto, M. (2008).** On the gelling behaviour of nopal (*Opuntia ficus-indica*) low methoxyl pectin. *Carbohydrate Polymers*, 73: 212-222.
- **Castricini, Ariane. (2009).** Aplicação de revestimentos comestíveis para conservação de mamões (*Carica papaya* L.) ‘Golden’. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 117 p.
- **Carr, M.K.V. (2013).** The water relations and irrigation requirements of papaya (*Carica papaya* L.): A review. *Experimental Agriculture*: 1 – 14 ©Cambridge University Press 2013. doi: 10.1017/S0014479713000380.
- **Cárdenas, A., Higuera-Ciapara, I. y Goycoolea, F. (1997).** Rheology and aggregation of cactus (*Opuntia ficus-indica*) mucilage in solution. *J. Profess. Assoc. Cactus Develop.* 2: 152-159.
- **Cagri, A., Ustunol, Z., and Ryser, E. (2004).** Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection* 67:833-848.
- **Corrales-García, J., Ayala-Valencia, G., Franco-Espinosa, A. M. y García Olivares, P. (2004).** Procesamiento mínimo de tuna y nopal verdura. pp. 4-21. In: Memorias. X Congreso Nacional y VIII Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Chapingo, México.
- **Coughlan, K.; Shaw, N. B.; Kerry, J. F. Kerr, J. P. (2004).** Combined effects of proteins and polysaccharides on Physical Properties of Whey Protein Concentrate-based Edible Films. *Journal of Food Science*, 69 (6): E271-E275.

- Cissé, M., Montet, D., Loiseau, G., Noelle, M., Collin, D. (2012). Influence of the concentrations of chitosan and glycerol on edible film properties showed by response surface methodology. *Journal and Polymer Environment*, 20: 830-837.
- Chen, H. (1995). Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 78, 2563e2583.
- Daferera, D., Ziogas, B., and Polissiou, M. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:2576-2581.
- Da Costa, A.F.S. e Balbino, J.M.S. (2002). Características da fruta para exportação e normas de qualidade. In Mamão: póscolheita (Capítulo 2). (pp. 12-18). Brasília, Brasil: Embrapa Informação Tecnológica. (Série Frutas do Brasil, 21).
- Davis, P.L.; Chace, W.G., Jr., (1969). Determination of alcohol in citrus juice by gas chromatographic analysis of headspace. *HortScience* 4,117.
- De la Rosa, J.P. y Santana, D. (2001). El nopal. Usos, manejo agronómico y costes de producción en México. CONAZA-UACH-CIESTAAM. Texcoco, pp: 23-35.
- Del-Valle, V., Hernandez-Muños, P., Guarda, A., and Galotto, M. (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia Picus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry* 91:751-756.
- Di Mattia, C. D., Sacchetti, G., Pittia, P. (2011). Interfacial behavior and antioxidant efficiency of olive phenolic compounds in O/W olive oil emulsions as affected by surface active agent type. *Food Biophysics*, 6: 295-302.
- Dorman, H., and Deans, S. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88:308-316.

- Draetta, I. dos S.; Shimokami, M.; Yokomizo, Y.; Fujita, J.T.; Menezes, H.C. e Bleinorith, E.W. (1975). Transformações bioquímicas do mamão (*Carica papaya* L.) durante a maturação. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*. 6(2):395-408.
- Espino-Díaz, M.; Ornelas-Paz, J.J.; Martínez-Tellez, M.A.; Santillán, C.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Zamudio-Flores, PB. Y Olivas, G.I. (2010). Development and Characterization of Edible Films bases on mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). *Journal of Food Science*. 75(6): 347-352.
- Espinosa-Andrews, H., Enríquez-Ramírez, K. E., García-Márquez, E., Ramírez-Santiago, C., Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E. J. (2013). Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes. *Carbohydrate Polymers*, 95: 161-166.
- Espinosa, S. (2002). Estudio de algunas características físicas de hidrocoloides provenientes de semilla de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz) y de cladodios de nopal (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill). Tesis para optar al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Ciencias Agronómicas y Forestales. Universidad de Chile. Santiago.
- Fabra MJ, Talens P, Chiralt A. (2010). Influence of calcium on tensile, optical and water vapour permeability properties of sodium caseinate edible films. *J Food Eng* 96:356–64.
- Fan, X. (1992). Maturity and storage of “Fuji” apples. Tese Mestrado. Washington State University, Washington, USA. 201 p.
- Feng, W., Zheng, X., (2007). Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. *Food Control* 18, 1126–1130
- Flores-Valdez, C. (2003). Importancia del nopal. pp. 1-18. In: C. A. Flores Valdez, ed. Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización. 1ª Ed. Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM. México.
- Galati, E.M., Monforte, M.T., Tripodo, M.M., d’Aquino, A. y Mondello, M.R. (2001). Antiulcer activity of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study. *Journal of Ethnopharmacology*, 76: 1-9.

- **Galati, E. M., Pergolizzi, N., Monforte, M. T. y Tripodo, M. M. (2002).** Study on the increment of the production of gastric mucus in rats treated with *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes. *J. Ethnopharmacol.* 83: 229-233.
- **Galus, S., Lenart, A. (2013).** Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering*, 115: 459-465.
- **Garti, N. (1999).** Hydrocolloids as emulsifying agents for oil-in-water emulsions. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 20: 327-355
- **Gennadios, A., Weller, C. L., Gooding, C. H. (1994).** Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21: 395–409.
- **Goldstein, G. y Nobel, P.S. (1991).** Changes in osmotic pressure and mucilage during low-temperature acclimation of *Opuntia ficus-indica*. *Plant Physiology*, 97:954-961.
- **González-Aguilar, G., Monroy-García, I., Goycoolea- Valencia, F., Díaz-Cinco, M., y Ayala-Zavala. (2005).** Cubiertas comestibles de quitosano. Una alternativa para prevenir el deterioro microbiano y conservar la calidad de papaya fresca cortada. Simposium nuevas tecnologías de conservación y envasado de frutas y hortalizas. *Vegetales frescos cortados* 1:121-133. (Abstract).
- **Granados Sánchez, D. y Castañeda Pérez, A.D. 2000** El Nopal. Historia, Fisiología, Genética e Importancia Frutícola. Editorial Trillas. México.
- **Habibi, Y., Mahrouz, M. y Vignon, M.R. (2005).** Isolation and structural characterization of protopectin from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydrate Polymers*, 60: 205-213.
- **Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V., (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86, 985–990.
- **Henrique, Celina Maria e Evangelista, Regina Marta. (2006).** Processamento mínimo de cenouras orgânicas com uso de películas

biodegradáveis. Publicatio UEPG (Ciências Exatas e da Terra, *Ciências Agrárias e Engenharia*). 12(3):7-14.

- Kader, A. A. (2009). Recommendations for maintaining postharvest quality. Papaya produce facts. postharvest technology research information center, department of pomology University of California. Davis.<http://rics.ucdavis.edu/postharvest2/Produce/ProduceFacts/Fruit/papaya.sht>
- Kester, J., and Fennema, O. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology* 40:47-59.
- Kester, J. J., Fennema, O. (1989). Resistance of lipid films to water vapor transmission. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 66: 1139-1146.
- Laureano, L. B., (2013). Elaboración y caracterización de películas biodegradables a base de mucílago de nopal (*Opuntia* spp.) en combinación con otros polímeros y adicionadas con un extracto antifúngico. Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Instituto de Alimentos (IDEA), Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Lim, T.K. (2012). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 1, Fruits, © Springer Science+Business Media B.V. 2012. DOI 10.1007/978-90-481-8661-7_97
- Lira, V. A. A., (2012) Caracterización de películas biodegradables a base de mucílago de nopal (*Opuntia* spp.) y su empleo como recubrimiento en chirimoya y nectarina mínimamente procesada. Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Instituto de Alimentos (IDEA), Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Lozano, G. M. A. (2014). Recubrimiento comestible de pectina de tejocote y cera de candelilla para la conservación de hongo zeta mínimamente procesado. Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Instituto de Alimentos (IDEA), Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Majdoub, H., Roudesli, S., Picton, L., Le Cerf, D., Muller, G. y Grisel, M. (2001). Prickly pear nopal pectin from *Opuntia ficus-indica* physico-

chemical study in dilute and semidilute solutions. *Carbohydrate Polymers*, 46: 69-79.

- **Martínez, V. A.**, (2013). Desarrollo y caracterización de películas comestibles preparadas a partir de emulsiones aceite-en-agua estabilizadas por complejos pectina de tejocote-quitosano. Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Instituto de Alimentos (IDEA), Universidad Autónoma Chapingo. México.
- **Martin-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., and Baldwin, A.** (2005). Conservación mediante recubrimientos comestibles. In: Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. González-Aguilar, G; Gardea, A.; Cuamea-Navarro, F. Editores. Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, México p. 558.
- **McClements, D. J.** (1999). *Food Emulsions. Principles, Practice and Techniques*. Florida, EUA, Boca Raton: CRC Press.
- **McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., Krochta, J. M.** (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58: 899-903.
- **McHugh, T. H. and Krochta, J. M.** (1994). Sorbitol vs glycerol plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 42:841-850.
- **Medina-Torres, L., Brito-De la Fuente, E., Torrestiana-Sánchez, B. and Katthain, R.** (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus-indica*). *Food Hydrocoll.* 14: 417-424.
- **Medina-Torres, L. Brito-de la Fuente, E., Torrestiana- Sanchez, B. y Alonso, S.** (2003). Mechanical properties of ges formed by mixtures of mucilage gum (*Opuntia ficus-indica*) and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 52: 143-150.

- **Meza, R. J.** (1995). Preacondicionamiento en el control de daños por frío y calidad en toronja cv Ruby Red. Tesis de Maestría en Ciencias, Área de fruticultura, Colegio de Postgraduados, México. 78 p.
- **Mytle, N., Anderson, G., Doyle, M., and Smith, M.** (2006). Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food Control* 17:102-107.
- **Mosca, M., Cuomo, F., Lopez, F., Ceglie, A.** (2013). Role of emulsifier layer, antioxidants and radical initiators in the oxidation of olive oil-inwater emulsions. *Food Research International*, 50: 377-383.
- **Monedero, F. M., Fabra, M. J., Talens, P. Chiralt, A.** (2009). Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolated based films. *Journal of Food Engineering*, 91 (4): 509-515.
- **Miller KS, Krochta JM.** (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. *Trends Food Sci Technol* 8:228–37.
- **Murillo, M. M. M., Pedroza-Islas, R., Lobato-Calleros, C., Martínez-Férez, A., Vernon-Carter, E. J.** (2011). Designing W1/O/W2 double emulsions stabilized by protein-polysaccharide complexes for producing edible films: Rheological, mechanical and water vapour properties. *Food Hydrocolloids*, 25: 577-585.
- **Navarro-Tarazaga, M. Ll., Sothornvit, R., Pérez-Gago, M. B.** (2008). Effect of plasticizer type and amount on hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible film properties and postharvest quality of coated plums (cv. Angeleno). *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 56:9502-9509.
- **Nobel, P.S., Cavelier, J. y Andrade J.L.** (1992). Mucilage in cacti: its apoplastic capacitance, associated solutes, and influence on tissue water relations. *Journal of Experimental Botany*, 43: 641-648.
- **Nordby, M. H., Kjøniksen, A. L., Nystrom, B., Roots, J.** (2003). Thermoreversible gelation of aqueous mixture of pectin and chitosan. Rheology. *Biomacromolecules*, 4: 337-343.

- Nussinovitch, A., and Lurie, S. (1995). Edible coatings for fruits and vegetables. *Postharvest News and Information* 6:53-57.
- NMX–FF–041–SCFI–2007. (2007). Productos alimenticios no industrializados para consumo humano fruta fresca – papaya (*Carica papaya* L.) – Especificaciones (Cancela a la NMX–FF–041–SCFI–2003).
- O´Bryan, C., Crandall, P., Chalova, V., and Ricke, S. (2008). Orange essential oils antimicrobial activities against *Salmonella* spp. *Journal of Food Science* 73:264-267.
- Ogden, I., Rosa, E., Wyss, G., and Brandt, K. (2005). Seguridad y contaminación. Información destinada al consumidor para el control, de la calidad y la seguridad en las cadenas de producción orgánica. Research Institute of Organic Agriculture FiBL and University of Newcastle. Australia. 4 p.
- Paull, R.E.; Duarte, O. (2011). Papaya. In: Paull, R.E.; Duarte, O. (2011). Tropical Fruits, 2nd Edition, Volume 1, ©CAB International (2011).
- Paull, R.E.; Nishijima, W.; Reyes, M.; Cavaletto, C.C. (1997). Postharvest handling and losses during marketing of papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 11: 165 – 179.
- Park HJ. (1999). Development of advanced edible coatings for fruits. *Trends Food Sci Technol* 10:254–60.
- Pastor, C.; Vargas, M.; González-Martínez, C. (2005). Recubrimientos comestibles: Aplicación a frutas y hortalizas. Revista: *Alimentación, Equipos y Tecnología* 197(24):130-135.
- Perez-Gago, M. B. y Krochta, J. M. (2001). Lipid particle size effect on the water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49: 996-1002.
- Perez-Gago, M. B. y Krochta, J. M. (2005). Emulsion and bilayer edible films. En: Han, J. H. (ed) *Innovations in food Packaging*. pp. 384-402.

- **Pérez–Carrillo, E. and Yahia, E. M. (2004).** Effect of postharvest hot air and fungicide treatments on the quality of 'maradol' papaya (*Carica papaya* L.) *J. Food Qual.* 27:127–139.
- **Pérez, E. P. J., Xian, D. W., Avena Bustillos, R. J., Ferreira, S. N. F., McHugh, T. H. (2013).** Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids*: 1-10.
- **Pimienta, E. (1990).** El nopal tunero. Universidad de Guadalajara, México.
- **Pires, C.; Ramos, G.; Teixeira, I.; Batista, R.; Méndez, L.; Nuñez, A. y Márquez, J. (2011).** Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *Journal of Food Engineering.* 105:422.
- **Pinto, Luciana Konda de Azevedo; Martins, Meire Leis Leal; de Resende, Eder Dutra; de Almeida, Robson Ferreira; Vitorazi, Letícia e Pereira, Sílvia Menezes de Faria. (2006).** Influência da atmosfera modificada por filmes plásticos sobre a qualidade do mamão armazenado sob refrigeração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos (Brazil).* 26(4):744-748.
- **Plotto A.; D. D. Roberts and R.G. Roberts. (2003).** Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Acta hort.* 628:737-745.
- **Podd, L.A., Van Staden, J. (1998).** The role of ethanol and acetaldehyde in flower senescence and fruit. *Plant Growth Reg* 2: 183-189.
- **Quezada-Gallo, J. A. Debeaufort, F., Callegarin, F. and Voilley, A. (2000).** Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based films. *J. Membrane Sci.* 180:37-46.
- **Quezada, J., Díaz, M.; Gutiérrez, M., and Debeaufort, F. (2003).** Application of edible coatings to improve shelf-life of mexican guava. *Acta Horticulturae* 599:589-594.
- **Raybaudi-Massilia, R., Mosqueda-Melgar, J., and Martín-Belloso, O. (2008).** Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of freshcut melon. *International Journal of Food Microbiology* 121:313-327.

- **Rassooli, I., Mirmostafa, S.A., (2003).** Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *J. Agric. Food Chem.* 51, 2200–2205.
- **Ronquillo, E. (2007).** Evaluación del potencial antimicrobiano de películas comestibles con aceites esenciales in vitro e in situ. Tesis de Maestro en Ciencias. Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, Iztapalapa, D. F., México. 46 p.
- **Rojas-Graü, M, Raybaudi-Massilia, R., Soliva-Fortuny, R., Avena-Bustillos, R., McHugh, T., and Martin- Belloso, O. (2007).** Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology* 45:254-264.
- **Sáenz, C., Sepúlveda, E., Araya, E. and Calvo, C. (1993).** Colour changes in concentrated juices of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) during storage at different temperatures. *Lebens.Wiss. Technol.* 26, 417- 421.
- **Sáenz, C. & Berger, H., (2006).** Utilización agroindustrial del nopal. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO.
- **SAS. 2000.** Institute. SAS/STAT. User´s Guide. Release 9.1.3. ed. SAS Institute, Inc. Cary, North Carolina.
- **Salinas, S. V. M., (2014).** Caracterización de películas comestibles a base de mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) y evaluación de su aplicación como recubrimiento comestible en ciruela (*Prunus salicina* L.) para su conservación en fresco. Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán, Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería, UNAM. México.
- **Santamaría-Basulto, Felipe; Díaz-Plaza, Raúl Sauri-Duch, Enrique; Espadas y Gil, Francisco; Santamaría-Fernández, Jorge Manuel y Larqué-Saavedra, Alfonso. (2009).** Características de calidad de frutos de papaya Maradol en la madurez de consumo. *Agricultura Técnica en México.* 35(3):347-353.
- **Sañudo-Barajas, J. Adriana; Siller-Cepeda, Jorge; Osuna-Enciso, Tomás; Muy-Rangel, Dolores; López-Álvarez, Guadalupe y Labavitch, John. (2008).** Control de la maduración en frutos de papaya (*Carica papaya* L.)

con 1- metilciclopropeno y ácido 2-cloroetil fosfónico. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 31(2):141-147.

- Saravia-Tasayco, P.L. (2004). Programa fundamental para el desarrollo económico del Estado de México hacia el 2005 y de competitividad visión 2020. Cluster Nopal.Tecnológico de Monterrey, México.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. SIAP (2015) Consultado: Diciembre-2015. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Soazo, M., Rubiolo, A. C. y Verdini, R. A. (2011). Effect of drying temperatura and beeswax content on physical properties of whey protein emulsion films. *Food Hydrocolloids*, 25 (5): 1251-1255.
- Souza, M. P., Vaz, A. F. M., Silva, H. D., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A. Carneiro-da-Cunha, M. G. (2015). Development and Characterization of an Active Chitosan-Based Film Containing Quercetin. *Food Bioprocess Technology, Springer Sci*, 8:2183-2191.
- Smith-Palmer, A., Stewartb, J., and Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne. *Letters in Applied Microbiology* 26:118-122.
- Shellhammer, T. H., Krochta, J. M. (1997). Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. *J. Food Sci.* 62 (2): 390-394.
- Shaw, N. B., Monahan, F. J., O'Riordan, E. D. y O'Sullivan, M. (2002). Physical Properties of WPI films Plasticized with Glycerol, Xylitol or Sorbitol. *Journal of Food. Science*, 67: 164-167.
- Takur, B. R.; Singh. R. K.;Handa, A. K. (1997). Chemistry and use of pectin-a review. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*. 37: 47-73.
- Torres, Ch. A. M., (2013) Recubrimientos de Goma Arábica y Cera de Candelilla aplicados en zapote mamey en postcosecha. Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Instituto de Alimentos (IDEA), Universidad Autónoma Chapingo. México.

- Trachtenberg, S. and Mayer, A.M. (1981). Composition and properties of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *Phytochemistry*, 20: 2665-2668.
- Vargas-Rodriguez, L. y Ramos-Ramírez, E. (2003). Un método simple de extracción de mucílago en nopal verdura. I Congreso de Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Chapingo, México.
- Vázquez-Ramírez, R., Olguín-Martínez, M. y Hernández-Muñoz, R. (2006). Reversing gastric mucosal alterations during ethenol-induced chronic gastritis in rats by oral administration of *Opuntia ficus-indica* mucilage. *World Journal Gastroenterol*, 12: 4318-4324.
- Vanneste, J.L., Boyd, R.J., (2002). Inhibition of *Erwinia amylovora* and potential antagonistic bacteria by essential oils and natural compounds. *Acta Horticulturae* 590, 315–317.
- Velásquez, E. (1998). El nopal y su historia. Editorial Clío. México.
- Villegas, C. y De Gante, M. (1997). Los Nopales (*Opuntia* spp.) recursos y símbolos tradicionales en México. pp. 271-273. In. Memorias. VII Congreso Nacional y V Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México.
- Wilson, L. (1997). Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant disease* 81:204-210.
- Zhou, L.; Paull, R. E. and Chen, N. J. (2004). Papaya. In: Gross. K. C.; Wang, Ch. Y. and Saltveit, M. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks agricultural. *Agriculture Handbook*. Number 66. USDA–ARS.
- Yang, V.W., Clausen, C.A., (2007). Antifungal effect of essential oils on southern yellow pine. *Int. Biodeter. Biodegrad.* 59, 302–306.