

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



Estudio de la Actividad Antifúngica de Cubiertas Comestibles en Ensayos *in vitro* e
in situ Sobre Aguacate Hass

Por:

ROMEO ROJAS MOLINA

Tesis

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Agosto de 2008

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Estudio de la Actividad Antifúngica de Cubiertas Comestibles en Ensayos *in vitro* e
in situ Sobre Aguacate Hass

Presentado por:
ROMEO ROJAS MOLINA
TESIS

Que se Somete a Consideración del H. Jurado Examinador Como Requisito
Parcial Para Obtener el Titulo de:
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprobado

Presidente

Vocal

MC. Antonio Francisco Aguilera Carbó

Dr. Cristóbal Noé Aguilar González

Vocal

Vocal Suplente

Dr. Heliodoro de la Garza Toledo

Lic. Saúl Saucedo Pompa

CORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Ing. José Rodolfo Peña Oranday

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Agosto de 2008

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Estudio de la Actividad Antifúngica de Cubiertas Comestibles en ensayos *in vitro* e
in situ Sobre Aguacate Hass

Presentado por:

ROMEO ROJAS MOLINA

TESIS

Que se Somete a Consideración del H. Jurado Examinador Como Requisito
Parcial Para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

COMITÉ ASESOR

Aprobado

Director interno

Director externo

MC. Antonio Francisco Aguilera Carbó

Dr. Cristóbal Noé Aguilar González

Vocal

Vocal

Dr. Heliodoro de la Garza Toledo

LCQ. Saúl Saucedo Pompa

Agradecimientos

A mi “**Alma Mater**”, por abrirme las puertas durante mi estancia en esta casa de estudios y por haberme brindado lo mas valioso que alguien puede brindar en esta vida, “su sabiduría”, por esto y por todos los momentos que pase en esta casa de estudios te estaré eternamente agradecido.

Al **MC. Antonio Francisco Aguilera Carbó**, por confiar en mí para la realización de esta investigación, por su amistad y por su valiosa colaboración para la realización de este proyecto.

Al **Dr. Cristóbal Noé Aguilar González**, por confiar en mi y por la oportunidad brindada para la realización de este trabajo, por su magnifica asesoría, por su comprensión y ayuda para la culminación del presente trabajo.

Al **LCQ. Saúl Saucedo Pompa**, por su valiosa aportación en la realización y culminación de esta investigación, por su magnifica y acertada asesoría y por su disposición en todo momento.

Al **Dr. Heliodoro de la Garza Toledo**, por su valiosa colaboración en la realización de esta investigación, por su disponibilidad, por sus llamadas de atención, por sus consejos y por lo que yo considero más importante que todo, “Su Amistad” por esto y por todo mil gracias, le estaré eternamente agradecido padrino.

Al **M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla**, por haber compartido sus conocimientos conmigo, pero sobre todo por su amistad brindada.

Al **MC. Gerardo Sánchez**, por ser mas que un maestro, un amigo que me regalo parte de sus conocimientos y compartió buenos y malos momentos conmigo, gracias!!!

Al **Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos** y todos mis **maestros** que durante mi estancia en la universidad contribuyeron a mi formación como ingeniero.

A mis compañeros de la generación VII de Ing. En Ciencia y Tecnología de Alimentos de la generación CIV de la UAAAN; Armando (Odi), José Juan

(Pollo), Emilio (Amigajonadito), Julio Cesar (El crustáceo cascarudo), Omar (El Puerco), Francisco Virgilio (Changuito), Carolina (La tortillera), Lusvia (Vos), Alejandra Magali (La ñoña), Aricelda (La ñoña), Jorge (El Morelos), Gerardo (El pollo chilango), Enrique (Barrabaz), José Juan (Villada), Paula Lidia, Iris, Dodany (Doda), Guillermo (Greñas), Guadalupe (Lupita Tabasco), Brenda, Hugo, Lisbeth, Beatriz (Betty), Adrian (Dino), Chuy (Oax).

A mis amigos de la Narro y de la UAdeC: Abel (Gallo), Ana Lilia, Azucena, Rosalio (Chali), Juan de Dios, Virgilio (Viño), Elvia, Valentina (Vale), Juana, Michel (El valla), Quevedo, Néstor, Jorge (Coutiño), MP. Francisco (Paco), Juan Manuel (Tirado), Daniel (Dedos), Luis (Chiter), Mike, Mario, Ascacio, Simón, Diego, Memo Parras, Roxana, Mónica, Ruth, Rocha

Dedicatorias

A **Dios**, por permitirme vivir para realizar este sueño tan anhelado, por ser mi guía y estar conmigo en todo momento, en mis triunfos y fracasos, gracias de todo corazón por dejarme ser lo que siempre anhelé.

Con todo mi cariño, amor y respeto, a mis padres:

Sr. José Rojas Lazarini

Sra. Ma. Dolores Molina Olvera

A ellos les dedico este humilde trabajo con todo mi corazón ya que ellos me dieron lo mas preciado que se pueda tener, “**La Vida**” a los dos siempre los llevo en mi corazón, gracias por confiar en mi para la realización de este sueño tan anhelado, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas y que nunca tendré con que pagarles todos sus consejos, regaños y malos ratos que les he hecho pasar, pero sobre todo por siempre estar al pendiente de mi, por todo esto gracias de todo corazón, los amo!!!

A mis padrinos de Bautizo:

Ing. Alberto Rico Arellano

Sra. Ma. del Carmen Rubio de Rico

Por ser una guía, estar al pendiente de mi todos estos años, por sus palabras de aliento, consejos y por todos los momentos felices que he pasado a su lado, gracias.

A mis hermanos (as). René, Roxana (La Bana-Mostra), **Rogelio** (El Gordolobo) y **Rosalina** (La Rosa-Mostra) y mis sobrinas Carmelita y René Kristal quienes me han hecho compañía en todo momento, por sus consejos de aliento y por haber depositado su confianza en mi.

A mi **Tío Martin**, por su apoyo brindado, por su confianza, por sus consejos y por todos los momentos que hemos pasado, gracias.

Al **padre Manolo**, el tío, gracias por todo su apoyo durante este trayecto, usted es parte fundamental de todo esto, le doy gracias a dios por haberlo conocido y a usted le estaré eternamente agradecido.

Índice General

	Pág.
Índice de tablas.	XI
Índice de figuras.	XII
Resumen.	XIII
Abstract.	XV
1. Introducción.	1
2. Hipótesis.	4
3. Objetivos.	5
3.1. Objetivo general.	5
3.2. Objetivos específicos.	5
4. Justificación.	6
5. Antecedentes.	7
5.1. Cubiertas comestibles.	7
5.1.1. Propiedades de las películas comestibles.	9
5.1.2. Efecto del contenido de plastificante.	9
5.1.3. Efecto del espesor.	9
5.1.4. Dependencia con la temperatura.	10
5.2. <i>Euphorbia antisyphilitica</i> Zucc.	10
5.2.1. Características y localización.	10
5.3. Cera de candelilla.	12
5.3.1. Composición.	12
5.3.2. Usos.	13
5.4. Fenoles.	14
5.5. Alimentos funcionales.	16
5.6. El aguacate.	18

5.6.1. Origen y etimología.	18
5.6.2. El fruto del aguacate.	19
5.6.3. Su historia en México.	20
5.6.4. Usos.	21
5.6.5. Conservación e industrialización del aguacate.	21
5.6.6. Métodos de preservación de los frutos.	22
5.6.6.1. Productos industrializados.	23
5.6.6.2. Preparación inicial.	24
5.6.6.3. Preparación secundaria.	24
5.6.6.4. Otros productos.	25
5.6.6.5. Consideraciones finales.	26
5.6.7. Beneficios.	26
5.6.8. Contenido nutricional.	26
5.6.9. Enfermedades y su combate.	27
5.6.9.1. Pudrición de la raíz.	27
5.6.9.2. Mancha negra.	28
5.6.9.3. Antracnosis.	29
5.6.9.4. Roña.	30
5.6.9.5. Pudrición de la Cicatriz del Pedúnculo.	30
5.6.10. Calidad.	31
5.6.11. Temperatura óptima.	31
5.6.12. Humedad relativa óptima.	31
5.6.13. Tasa de respiración.	31
5.6.14. Tasa de producción de etileno.	32
5.6.15. Efectos del etileno.	32
5.6.16. Efecto de las atmósferas controladas (AC).	32
5.6.17. Fisiopatías.	32

5.6.18. Importancia socioeconómica.	33
5.6.18.1. Países productores.	33
5.6.18.2. Distribución geográfica y cronológica del aguacate en el mundo.	33
5.6.18.3. Regiones aguacateras en México.	34
5.7. <i>Aloe vera</i> (Sábila).	36
5.7.1. Composición y Usos.	36
5.8. Aceite de jojoba.	37
5.8.1. Composición.	37
6. Materiales y métodos.	38
6.1. Sección experimental I.	38
6.1.1. Recolección de la planta.	38
6.1.2. Lavado de la planta.	38
6.1.3. Extracción de la cera de candelilla.	38
6.1.4. Elaboración de la cubierta comestible.	39
6.1.5. Procedimiento de elaboración de la cubierta.	39
6.2. Sección experimental II.	40
6.2.1. Ubicación del experimento.	40
6.2.2. Microorganismos.	40
6.2.3. Propagación de la cepa fúngica y obtención de esporas.	40
6.2.4. Ensayo <i>in-vitro</i> de actividad antifúngica.	41
6.2.5. Ensayo control <i>in vitro</i>	41
6.3. Sección experimental III.	43
6.3.1. Obtención de frutos.	43
6.3.2. Tratamientos.	43
6.3.3. Aplicación de las cubiertas comestibles y almacenamiento de los frutos.	44
6.3.4. Evaluación fisicoquímica.	45
6.3.4.1. Pérdida de peso.	45

6.3.4.2. Cálculo de la pendiente.	45
6.3.4.3. Cambios de apariencia.	45
6.3.5. Diseño del experimento y análisis estadístico.	45
6.4. Sección experimental IV.	46
6.4.1. Aplicación de las cubiertas comestibles y almacenamiento.	46
6.4.2. Método de conteo de hongos y levaduras en alimentos en base a la NMX-F-255-1978.	46
6.4.2.1. Preparación soluciones y de medio de cultivo.	46
6.4.2.2. Procedimiento para el conteo.	46
6.4.2.3. Expresión de los resultados.	47
7. Resultados y discusiones.	48
7.1. Sección experimental I.	48
7.2. Sección experimental II.	49
7.3. Sección experimental III.	53
7.3.1. Pérdida de agua de los ensayos <i>in situ</i> inoculados con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	53
7.3.2. Cambios de apariencia en los ensayos <i>in situ</i> inoculados con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	57
7.3.3. Pérdida de agua de los ensayos <i>in situ</i> inoculados con <i>Fusarium oxysporum</i>	58
7.3.4. Cambio de apariencia en los ensayos <i>in situ</i> inoculados con <i>Fusarium oxysporum</i>	62
7.4. Sección experimental IV.	64
7.4.1. Cuenta de hongos en placa agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante 5 días a 22 °C.	64
7.4.2. Cuenta de levaduras en placas de agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante 48 horas a 35 °C.	66
8. Conclusiones.	69
9. Perspectivas.	71
10. Bibliografía.	72
11. Apéndice.	81

Índice de tablas

Tabla	Pág.
1. Composición Típica de la cera de <i>Euphorbia antisyphilitica</i> Zacc. . . .	12
2. Propiedades fisicoquímicas de la cera de candelilla (<i>Euphorbia antisyphilitica</i> Zacc).	13
3. Aplicaciones de la cera de candelilla (<i>Euphorbia antisyphilitica</i> Zacc).	13
4. Componentes nutraceuticos de interés alimentario.	15
5. Formula de elaboración de Guacamole.	24
6. Aditivos químicos para evitar el oscurecimiento de cada 100 gr de puré o guacamole.	24
7. Análisis de 100 gr. de pulpa de aguacate Hass.	27
8. Tasa de respiración del Aguacate.	31
9. Principales países productores de aguacate.	33
10. Distribución geográfica y año aproximado en que el aguacate se distribuyó de América hacia el mundo.	34
11. Superficie plantada de aguacate en México en 1991 y 1995.	34
12. Producción promedio por hectárea (8-12 ton), aunque la producción en la mayoría de esos estados no es con el cultivar Hass.	35
13. Estadísticas sobre el cultivo del aguacate.	36
14. Tratamientos para ensayo control <i>in vitro</i>	41
15. Tratamientos de la seccion III.	44
16. Cubiertas elaboradas.	48
17. Porcentaje de inhibición en caja petri.	49
18. Porcentaje de inhibición en tubos.	50
19. Porcentaje de inhibición en controles en caja petri.	51
20. Porcentaje de crecimiento de microorganismos presentes en la cubierta.	52

Índice de figuras

Figura	Pág.
1. Fenómenos de transporte que se establecen entre las frutas y su medio externo.	7
2. Distribución geográfica de la <i>Euphorbia antisyphilitica</i> Zacc.	11
3. <i>Persea Americana</i> variedad Mill.	20
4. Apariencia de la cera de candelilla.	48
5. Disminución del peso de aguacates inoculados con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	54
6. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> tratados con la cubierta con antioxidante "A".	55
7. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> tratados con la cubierta con antioxidante "B".	56
8. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> en los diferentes tratamientos.	57
9. Apariencia externa.	58
10. Apariencia Interna con A-0.015.	58
11. Apariencia interna con B-2%.	58
12. Disminución de peso de aguacates inoculados con <i>Fusarium oxysporum</i>	59
13. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con <i>Fusarium oxysporum</i> tratados con la cubierta con antioxidante "A".	60
14. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con <i>Fusarium oxysporum</i> tratados con la cubierta con antioxidante "B".	61
15. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con <i>Fusarium oxysporum</i> en los diferentes tratamientos.	62
16. Apariencia externa.	63
17. Apariencia interna con A-0.01 %.	63
18. Apariencia interna con B-2 %.	63
19. Contaminación de la pulpa de los aguacates tratados con cubierta con antioxidante "A".	65
20. Contaminación de la pulpa de los aguacates tratados con cubierta con antioxidante "B".	66
21. Contaminación de la pulpa de los aguacates tratados con cubierta con antioxidante "A".	67
22. Contaminación de la pulpa de los aguacates tratados con cubierta con antioxidante "B".	68

Resumen

Las cubiertas comestibles son recubrimientos que permiten reducir el deterioro de algunas frutas y hortalizas, prolongando su vida de anaquel; presentan permeabilidad selectiva a los gases, lo que permite reducir la pérdida de humedad y por lo tanto de peso, también en algunos casos la adición de antimicrobianos y/ o antioxidantes a la cubierta da como resultado un buen efecto contra microorganismos patógenos y deteriorativos. Este tipo de recubrimientos deben de estar compuestos únicamente por materiales que puedan ser ingeridos. En este estudio, se elaboraron cubiertas comestibles formuladas con ceras naturales y aditivos antioxidantes (antioxidante “A” y “B”). Se trabajó desde la extracción de la cera de candelilla obtenida de la planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc), en la elaboración de una cubierta comestible a base de esta, y de su aplicación, tanto *in vitro* como *in situ* (utilizando aguacates Hass enteros), posteriormente fueron inoculados en forma separada con una solución de esporas de *Colletotrichum gloeosporioides* causante de antracnosis y *Fusarium oxysporum* causante de fusariosis. La actividad antifúngica de las cubiertas comestibles en sinergia con los aditivos antioxidantes se determinó, midiendo el porcentaje de invasión en pruebas *in vitro* también se midió la pérdida de peso, los cambios de apariencia y la contaminación de la pulpa por medio de un conteo de hongos y lavaduras en los ensayos *in situ*. Como control se utilizaron frutos de aguacate sin ningún tipo de cubierta, el ensayo se realizó por un diseño completamente al azar y los datos obtenidos fueron analizados por un análisis de varianza con un nivel de significancia de 0.05 usando un análisis multifactorial, posteriormente se hizo un análisis de medias con la prueba de Turkey 0.05, con 10 tratamientos y 4 repeticiones cada uno. En general, las pruebas *in vitro* no arrojaron resultados relevantes ya que no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de cubierta con antioxidante A y antioxidante B en sus diferentes concentraciones en comparación con los controles, pero en las pruebas *in situ* (aguacates inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides*) los mejores tratamientos fueron el A-0.015 donde se logró una reducción en la pérdida de peso de los aguacates del 15 % en comparación con el control SC, a una velocidad de 0.043 g de H₂O/(g de aguacate / h) y para el tratamiento B-2 se logró solamente una reducción en la pérdida de peso del 5 % en

comparación con el control SC, a una velocidad de 0.053 g de H₂O/(g de aguacate / h). Para las pruebas *in situ* inoculadas con *Fusarium oxysporum* los mejores tratamientos fueron el A-0.01 con una reducción en la pérdida de peso del 12 % en comparación con el control SC, a una velocidad de 0.027 g de H₂O/(g de aguacate / h) y para B-2 se logró una reducción en la pérdida de peso del 12 % en comparación con el control SC, a una velocidad de 0.028 g de H₂O/(g de aguacate * h). Estos recubrimientos son una alternativa viable para la conservación de aguacates frescos ya que a pesar de tener una carga excesiva de esporas de hongos, la capacidad de protección de la cubierta es elevada prolongando substancialmente la vida de anaquel de este fruto y mejorando su calidad.

Abstract

Decks are edible coatings that can reduce the deterioration of some fruits and vegetables, thereby prolonging its shelf life; presented selectively permeable to gases, which reduces moisture loss and therefore weight, in some cases adding antimicrobial and / or antioxidants to cover results in a good effect against pathogenic microorganisms and deterioration. Such coatings should be composed solely of materials that could be ingested. In this study, were prepared edible decks made with natural waxes and additives antioxidants (antioxidant "A" and "B"). They worked from extraction of candelilla wax obtained from the candelilla plant (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc), in devising a cover-based edible this, and their performance, both *in vitro* and *in situ* (using Hass avocados whole), Then were injected into separately with a solution of spores *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose and *Fusarium oxysporum* causing fusariosis. The antifungal activity from those covered in edible synergy with antioxidant additives are determined by measuring the percentage of invasion *in vitro* tests also measured the weight loss, changes in appearance and pollution from the pulp through a counting of fungi and flushing in the tests on the spot. As control of avocado fruits were used without any cover, the test was conducted by a completely randomized design and data were analyzed by an analysis of variance with a 0.05 level of significance of using a multi-factor analysis, then he analysis of the test averages with Turkey 0.05, with 10 treatments and 4 repetitions each. In general, *in vitro* tests did not produce relevant results because there were no significant differences between different treatments covered with antioxidant A and B in their antioxidant different concentrations compared with controls, but the evidence *in situ* (inoculated with avocados *Colletotrichum gloeosporioides*) the best treatments were the A-0,015 where he achieved a reduction in weight loss of avocados 15% compared to control SC, at a speed of 0,043 grams of H₂O / (g avocado / h) and to treat B-2 was achieved only a reduction in weight loss of 5% compared to control SC, at a speed of 0,053 grams of H₂O / (g avocado / h). To test spot inoculated with *Fusarium oxysporum* the best treatments were the A-0.01 with a reduction in weight loss of 12% compared to control SC, at a speed of 0,027 grams of H₂O / (g avocado / h) And B-2 was achieved a reduction in weight loss of 12% compared to control SC, at a speed of 0,028 grams of H₂O /

(g avocado * h). These coatings are a viable alternative for the conservation of fresh avocados because despite having an excessive burden of fungal spores, the ability to protect the deck is high substantially prolong the shelf life of this fruit and improving its quality.

1. Introducción

El Auge de las técnicas de procesado mínimo se ha experimentado en los últimos años en el campo de las frutas y hortalizas, ha provocado también una revolución en los sistemas de envasado para estos productos. Por otro lado, existe una demanda creciente de alimentos que conserven al máximo las propiedades intrínsecas de los alimentos frescos, sin que ello se revierta en una pérdida de calidad para el consumidor final. Ello ha llevado a la industria del sector a producir materiales poliméricos con permeabilidades específicas para cada producto o grupo de productos. No obstante, este desarrollo por si solo no ha conseguido evitar la degradación oxidativa y microbiológica de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas, ni preservar las cualidades que definen su vida útil durante un tiempo relativamente largo. Además, la preocupación por la producción masiva de residuos de materiales de envasado ha supuesto un cambio decisivo en la visión hacia el empleo de materiales biodegradables, especialmente los procedentes de excedentes agrícolas y de los subproductos de la industria alimentaria (Tharanathan, 2003).

Una cubierta comestible es una capa delgada y continua, hecha de materiales que puedan ser ingeridos, y provee una barrera a la humedad, oxígeno y solutos, esta puede cubrir por completo el alimento o puede colocarse en los componentes del producto. Debe garantizar la estabilidad del alimento y prolongar su vida útil. De acuerdo a las condiciones de almacenamiento de frutas y hortalizas deben ser considerados algunos factores ya sean mecánicos o químicos involucrados en el diseño de películas (Miranda *et al.* 2003).

El uso de recubrimientos no puede, ni pretende, sustituir el empleo de materiales de envasado tradicionales, pero es necesario tener en cuenta sus características funcionales y las posibles ventajas de comportamiento en determinadas aplicaciones (Baldwin, 1999). Pueden utilizarse también como medio portador de aditivos con el fin de contribuir a la estabilidad del producto, facilitando la acción de estas sustancias sobre la superficie.

Las industrias alimentarias, intentan evitar la oxidación de los alimentos mediante diferentes técnicas, como el envasado al vacío o en recipientes opacos, utilizando antioxidantes. La mayoría de los productos grasos tienen sus propios antioxidantes naturales, aunque muchas veces estos se pierden durante el procesado (refinado de los aceites, por ejemplo), pérdida que debe ser compensada.

Las ceras comestibles, son significativamente más resistentes al transporte de humedad que la mayoría de películas de otros lípidos o no lípidos. Las ceras son más efectivas en el bloqueo de la migración de humedad, siendo la candelilla una de las más resistentes. La aplicación de una capa de lípidos como suplemento en la superficie de frutas, reemplaza las ceras naturales de la cutícula, las cuales pueden haber sido parcialmente removidas durante el lavado. Las ceras naturales que se aplican a productos perecederos frescos para reducir la transpiración son: cera de abejas, cera de carnauba, cera de candelilla y cera de salvado de arroz (Bósquez Molina, 1995).

La oxidación de las grasas, es la forma de deterioro de los alimentos más importante después de las alteraciones producidas por microorganismos. La reacción de oxidación es una reacción en cadena, es decir, que una vez iniciada, continúa acelerándose hasta la oxidación total de las sustancias sensibles. Con la oxidación, aparecen olores y sabores a rancio, se altera el color y la textura, y disminuye el valor nutritivo al perderse algunas vitaminas y ácidos grasos poli-insaturados. Además, los productos formados en la oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud.

En las plantas existen compuestos químicos, que sirven como sistemas de protección al prevenirlas de enfermedades, de ataques de insectos y microorganismos; de condiciones medioambientales e incluso imparten sabores desagradables en su consumo por pájaros y rumiantes. Este grupo de compuestos químicos se conocen como taninos; un complejo grupo de moléculas que se caracterizan por la alta presencia de polifenoles asociados a glucósidos.

Ya sea como componentes únicos o combinados para desarrollar películas compuestas, con las que se pretende crear una atmósfera modificada en el interior del fruto, para retardar el proceso de maduración y senescencia de una forma similar a la de una atmósfera controlada que es mucho más costosa. (Bosquez-Molina *et al.* 2005).

La influencia de un aditivo dado dependerá de su concentración, estructura química, grado de dispersión en la película y grado de interacción con el polímero (Kester, 1986). Si se obtiene una adecuada homogeneización del sistema es posible garantizar la uniformidad en el tamaño y distribución de las partículas de la fase dispersa, lo que repercutirá en la funcionalidad de barrera contra la transferencia de masa de la película formada. (Bosquez-Molina *et al.* 2005)

Sin embargo, a pesar de que la información técnica disponible para la elaboración de películas comestibles es amplia, no es universal para todos los productos. En el caso particular de frutas y hortalizas para consumo en fresco, los recubrimientos comestibles, proporcionan una cubierta protectora adicional cuyo impacto tecnológico es equivalente al de una atmósfera modificada, por lo tanto representan una alternativa a este tipo de almacenamiento (Park, 1999). Es por esta razón que se desarrolló una cubierta comestible por Saucedo – Pompa (2007) y ahora es probada su actividad antifúngica *in vitro* e *in situ* (aguacate).

Existen diferentes vías para generar los alimentos funcionales, en el presente trabajo, el esfuerzo se centró en la elaboración de cubiertas con aditivos antioxidantes “A” y “B” y la evaluación de su efecto antifúngico *in vitro* e *in situ* (aguacate Hass entero). Para lograr este objetivo se trabajó en la elaboración de cubiertas comestibles con activos antioxidantes, formuladas a base de productos naturales que no solo alargaran la vida de anaquel de los frutos y los protegen del ataque hongos patógenos del mismo, sino que también aportan nutrientes adicionales al alimento además de poseer actividades biológicas de alto impacto benéfico al individuo.

2. Hipótesis

La aplicación de una película comestible a base de cera de candelilla y aditivos antioxidantes no solo incrementa la resistencia a la invasión de hongos fitopatógenos comunes del mismo, prolongando su vida de anaquel, sino que además mejora la calidad física y química del producto.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Elaborar una cubierta comestible a base de cera de candelilla y aditivos antioxidantes, y evaluar en ensayos *in vitro* e *in situ* (aguacate Hass entero) su funcionalidad para proveer un efecto antifúngico y prolongar la vida de anaquel e incrementar la calidad física y química del fruto.

3.2. Objetivos específicos

- Extraer cera de candelilla directamente de la planta por el método tradicional, para la elaboración de cubiertas comestibles a base de cera de candelilla y activos antioxidantes y aplicación de cubiertas comestibles en ensayos *in vitro* e *in situ*.
- Evaluar el efecto de la variación de la concentración de activos antioxidantes en las cubiertas comestibles contra microorganismos patógenos del aguacate.
- Evaluar la calidad microbiológica del aguacate al final de su almacenaje.
- Evaluar las modificaciones físicas y químicas del fruto durante el periodo de vida de anaquel.

4. Justificación

El aguacate es una de las principales actividades económicas del país ya que es el principal productor a nivel mundial con una producción de más de 937 mil toneladas anuales (SAGARPA, 2006) siendo el estado de Michoacán el principal productor a nivel nacional, sin embargo, México no es el principal exportador debido a la problemática que se presenta por su deterioro postcosecha por lo que es de suma importancia generar nuevas opciones de conservación para prolongar su vida de anaquel el fresco.

Y debido a que no existe una gama amplia de metodologías de protección y mejoramiento de la calidad del aguacate, por que su comercialización lo expone a pérdidas considerables de calidad.

Se sabe de antemano que el aguacate es un alimento perecedero del tipo climatérico por lo que aun bajo condiciones de refrigeración se descompone fácilmente, y cuando se rebana se oxida fácilmente sin dejar a un lado que por su alto contenido de nutrientes es un medio perfecto para ser atacado por microorganismos de distintos tipos que hacen que el mismo se descomponga aun mas rápido por lo que en la presente investigación se busca encontrar una película comestible que lo proteja de dicha descomposición y contaminación por microorganismos en su forma entera (Ventura-Sobrevilla J, 2007; Saucedo-Pompa, 2007).

Existen antecedentes del uso de los antioxidantes "A" y "B" en la investigación realizada por Saucedo-Pompa (2007) y demostró que al combinarlos con una cubierta comestible alarga la vida de anaquel de frutas frescas enteras y cortadas. Por lo que el uso de estos aditivos es factible para probar la actividad antifúngica propia del aguacate.

5. Antecedentes

5.1. CUBIERTAS COMESTIBLES

Las cubiertas comestibles, se definen como una cubierta de material comestible que se aplica sobre un alimento mejorando su apariencia, siendo una efectiva barrera a la transmisión de gases, vapores y solutos; solucionando problemas de migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas y aceite (Cuq *et al.* 1995; Fernández, 2000). Los recubrimientos comestibles, pueden ayudar a disminuir la pérdida de humedad y/o reducir la absorción de oxígeno, inhibiendo el proceso de maduración, prolongando la vida útil y la calidad de una verdura o fruta (Vernon, 1999).

Pueden aplicarse para controlar y modificar las condiciones superficiales, reduciendo algunas de las reacciones degradativas. El mantenimiento de la estabilidad microbiana, puede obtenerse usando recubrimientos comestibles con acción antimicrobiana y combinarlos con refrigeración y atmósfera controlada. Para las frutas se suelen utilizar ceras con adición de ácido sórbico y sorbatos como antifúngicos (Cuq *et al.* 1995; Fernández, 2000).

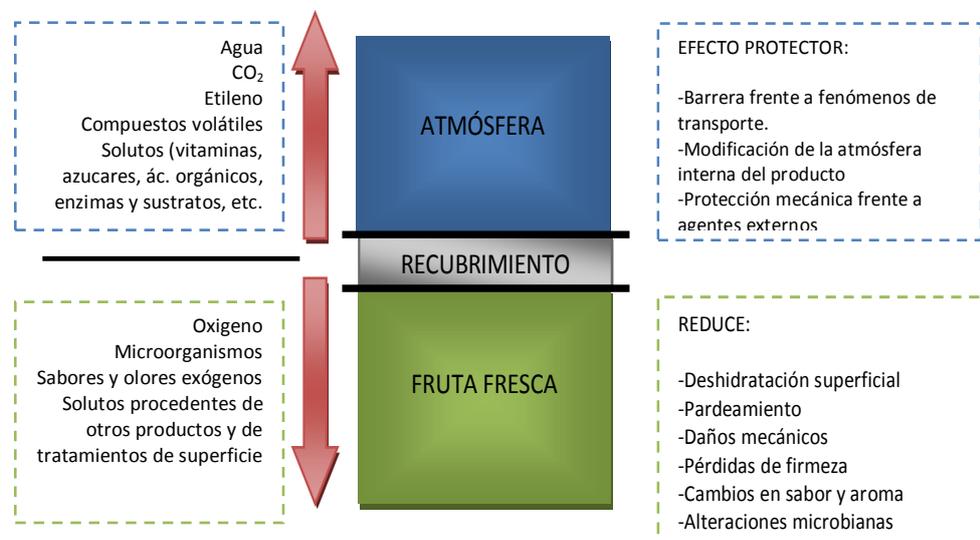


Figura 1. Fenómenos de transporte que se establecen entre las frutas y su medio externo (Gil MI, 2005)

Por su parte, los aditivos se emplean para impartir propiedades mecánicas, nutricionales y organolépticas a las películas, se utilizan diversos aditivos, como agentes antimicrobianos, ácidos orgánicos, antioxidantes, colorantes, saborizantes y calcio como agente reafirmante de las membranas celulares, entre otros (Soliva-Fortuny y Martín-Belloso, 2003). Estos pueden ser del tipo *plastificante* (Alcoholes polihídricos, ceras, aceites, ácidos grasos), del tipo surfactante y emulsificante (grasas, aceites, polietilenglicol, emulsificantes) y *conservadores químicos* (ácido benzoico, benzoato de sodio, ácido sórbico, sorbato de potasio, ácido propiónico) (Baldwin *et al.* 1995).

El desarrollo de recubrimientos comestibles, se ha orientado sobre aquellos que contienen principalmente celulosa, lípidos y proteínas, adicionadas de agentes plastificantes como el glicerol, sorbitol, polietilenglicol y propilenglicol. (Park, 1996). De acuerdo con la información reportada, los recubrimientos y películas comestibles con propiedades funcionales de mayor potencial son de formulaciones multicomponentes (Kester, 1986; Gennadios, 1994; Baldwin, 1994; Baldwin, 1997). Los plastificantes se emplean para cambiar las propiedades físicas del recubrimiento (elasticidad, flexibilidad, permeabilidad, humectabilidad), (Park, 1993) Los recubrimientos basados en celulosa, son muy eficientes barreras a la permeabilidad de oxígeno y su propiedad de barrera al vapor de agua, puede mejorarse por la adición de lípidos (Koelsch, 1994). La eficiencia de una película o cobertura comestible, depende en gran medida de la naturaleza de los componentes, su composición y estructura, por lo tanto, la elección de las sustancias formadoras de la película y/o aditivos activos, está totalmente relacionada con la función para la cual se desea utilizar, tomando en cuenta la naturaleza del alimento y el método de aplicación (Debeaufort *et al.* 1998).

La solución formadora de película, se aplica sobre un alimento para formar lo que se denomina "cobertura comestible". Si la solución formadora de película, es vertida como una delgada capa en una placa o superficie plana, se habla entonces de "películas comestibles", las cuales pueden ser despegadas para investigar sus propiedades físicas y mecánicas como sistema separado del material a recubrir. (Diab *et al.* 2001).

5.1.1. Propiedades de las películas comestibles

La permeabilidad de las películas abarca la transmisión de vapor de agua, gas y porción de agua. La permeabilidad al vapor de agua, es dependiente de la polaridad relativa del material, mientras la permeación de gas tiende a ser proporcional a la fracción de volumen de la fase amorfa de la estructura de la película (Guilbert, 1986).

El plastificante es un factor muy importante en la formulación, ya que afectan las propiedades mecánicas y la permeabilidad de las películas, debido a que alteran la estructura de las películas, la movilidad de la cadena y los coeficientes de difusión de gas o agua (Guilbert, 1986).

Se ha desarrollado un tipo de formulaciones de cubiertas comestibles que resaltan ciertas características de algunos frutos. Este tipo de materiales, puede reducir la pérdida de peso, retardar el proceso de maduración y dar brillo a los frutos mejorando de esta forma su apariencia. En diferente proporción todas estas cubiertas protectoras, promueven un intercambio selectivo de gases entre la atmósfera de almacenamiento y los frutos (Kester y Fenema, 1986).

5.1.2. Efecto del contenido de plastificante

El agregado de aditivos y plastificantes a materiales plásticos, generalmente aumentan la permeabilidad de los mismos. Reduciendo las fuerzas intermoleculares entre las cadenas del polímero e incrementando el volumen libre (Pascat, 1986), en consecuencia existe mas espacio para que las moléculas de agua migren, además los plastificantes hidrofílicos como el glicerol, son compatibles con el material polimérico que forma la película y aumentan la capacidad de absorción de moléculas polares tales como el agua (Donhowe y Fennema, 1994).

5.1.3. Efecto del espesor

Se ha encontrado una relación de pendiente positiva entre la permeabilidad al vapor de agua y el espesor de las películas (Gennadios *et al.* 1994 b; Park y Chinnan, 1995). McHugh *et al.* (1993), consideran que a medida

que el espesor de la película aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través de ella, en consecuencia, la presión parcial de vapor de agua de equilibrio en la superficie inferior de la película se incrementa. Otros autores atribuyen el efecto del espesor a cambios en la estructura de la película, ocasionados por el hinchamiento que provoca el agua en el polímero (Park *et al.* 1993).

La permeabilidad al vapor de agua, aumenta a medida que aumenta el contenido de plastificante, sin embargo hasta contenidos de glicerol del 30 % ese aumento es relativamente suave, observándose posteriormente un aumento mas pronunciado. La incorporación de plastificante modifica la organización molecular, haciendo la estructura menos densa y como consecuencia más permeable. El incremento de la permeabilidad, con el contenido de plastificante puede estar relacionado a hidrofiliidad de la molécula del plastificante. (Bertuzzi, 2002).

5.1.4. Dependencia con la temperatura

En general, en la permeación de vapor de agua a través de polímeros, el incremento en la temperatura causa una suave disminución en el coeficiente de solubilidad, que representa la concentración del permeante en la película en equilibrio con la presión externa, y un incremento en la movilidad de las moléculas de la película, debido al aumento de movilidad de los segmentos del polímero y al incremento en el nivel energético de las moléculas permeables. Como resultado la permeación aumenta con el incremento de la temperatura. (Bertuzzi, 2002).

5.2. *Euphorbia antisyphilitica* Zucc

5.2.1. Características y localización

Euphorbia antisyphilitica Zucc es conocida con el nombre común de “Candelilla”, que proviene de la forma particular de sus tallos, largos, rectos, erectos y recubiertos de cera los cuales presentan la apariencia de pequeñas velas (“candles” en el idioma Inglés). Algunas otras versiones indican que la hierba de candelilla se quemaba directamente para iluminación, haciendo las funciones propias de una vela. La planta de candelilla pertenece a la familia de

las *Euphorbiáceas*, nombre común de una extensa familia de plantas con flores de aspecto similar a los cactus de quienes se diferencian claramente por el látex lechoso que contienen las *Euphorbiáceas*. La planta crece normalmente en zonas de clima semidesértico, principalmente en laderas de suelo calcáreo, asociadas con formaciones de material rocoso. La raíz de la planta es relativamente pequeña, aunque una planta de tamaño moderado puede desarrollar más de 100 tallos de color verde grisáceo, con dimensiones típicas de 30-60 cm de largo y de 0.1-1.0 cm de diámetro, dando lugar a la formación de arbustos de un tamaño aproximado de 90 cm de diámetro. (CENAMEX, 2007).

La recolección de la candelilla, para la producción de cera natural ha sido una de las actividades económicas más importante en ciertas regiones del norte de la República Mexicana. Actualmente, se estima que hay más de 3,500 pequeños productores de cera de candelilla en 230 ejidos de 33 municipios del noreste rural de México. La planta de candelilla se desarrolla casi exclusivamente en una región semi-desértica de México, localizada dentro de la zona geográfica conocida con el nombre de "El Desierto de Chihuahuense" como se muestra en la figura 2.



Figura 2. Distribución geográfica de la Euphorbia antisyphilitica Zacc

La candelilla sólo es explotada en la región denominada “Candelillera”, la cual ocupa una extensión de 140,500 Km², en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León y Zacatecas (CENAMEX, 2006).

5.3. CERA DE CANDELILLA

5.3.1. Composición

La cera de candelilla, es una sustancia compleja de origen vegetal. Es dura, quebradiza y fácil de pulverizar. Sin refinar es de apariencia opaca. Su color puede variar desde café claro hasta amarillo, dependiendo del grado de refinación y blanqueo. Su superficie puede alcanzar altos niveles de brillo al ser refinada, siendo ésta una de las propiedades más apreciadas en la cera de Candelilla para diversas aplicaciones de especialidad. Disuelve bien los colorantes básicos. Es insoluble en agua, pero altamente soluble en acetona, cloroformo, benceno y otros solventes orgánicos. (CONAZA, 2004).

La composición química de la cera de candelilla (Tabla 1), se caracteriza por un alto contenido de hidrocarburos (alrededor del 50%) y una cantidad relativamente baja de ésteres volátiles. Su contenido de resina puede llegar hasta 40% en peso, lo cual contribuye a su consistencia pegajosa. La cera de *Euphorbia antisyphilitica* Zacc, presenta una contracción muy baja, por lo cual es utilizada en fundición de precisión.

Tabla 1. Composición Típica de la cera de *Euphorbia antisyphilitica* Zacc.

Compuestos	Cera Cruda %peso	Cera Refinada % peso
Hidrocarburos	46	57
Alcoholes libres	13	14
Ácidos libres	7	7
Ésteres simples	2	21
Ésteres hidroxilados	8	8
Ésteres ácidos	10	0
Di ésteres	9	0

Fuente. CONAZA, 2004

5.3.2. Usos

Es muy adhesiva y encuentra aplicaciones en la formulación de cosméticos, pulidores y brillos para muebles, piel, automóviles y pisos. Mezclada con otras ceras se utiliza en acabados para piel, textiles y cordones, para lubricantes y grasas, adhesivos donde la resina elimina el acabado resbaladizo y para recubrimientos de papel y cartón. Puede endurecer otras ceras, sin aumentar significativamente el punto de fusión de la mezcla. La Tabla 2 presenta las propiedades fisicoquímicas de la cera de *Euphorbia antisyphilitica* Zacc. (CENAMEX, 2006).

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de la cera de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zacc.)

Propiedad	Cera sin refinar	Cera refinada
Numero de saponificación	43-65	35 – 87
Punto de fusión	66-71°C	67-79°C
Índice de refracción	1.456 a 71°C	1.456 – 1.462 a 85°C
Material no saponificable	65-67	67-77
Gravedad específica	0.982	0.885

Fuente. CENAMEX, 2006

La revista *Nature* publicó en 1941 un artículo de John Whitaker, en el cual se mencionaba que la cera de candelilla era probablemente el material con el mayor número de aplicaciones comerciales, de todas las sustancias que se extraen de plantas no cultivables que crecen en el continente americano.

Lo cierto es que la cera de candelilla, es un material que presenta una gran diversidad de aplicaciones (Tabla 3), siendo actualmente utilizada en más de veinte industrias distintas en todo el mundo, principalmente en los Estados Unidos, la Unión Europea y Japón (Instituto de la candelilla, 2008).

Tabla 3. Aplicaciones de la cera de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zacc.).

Abrillantadores	Crayones	Papel
Adhesivos	Farmacia	Peletería
Aislantes Eléctricos	Goma de Mascar	Pinturas
Anticorrosivos	Hules	Plásticos
Cerillos	Impermeabilizantes	Pulimentos
Circuitos Integrados	Lacas	Textiles
Confitados	Lubricantes	Tintas
Cosméticos	Moldeo	Velas

Fuente. Instituto de la candelilla, 2008

La cera de *Euphorbia antisyphilitica* Zacc, es reconocida por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de América (FDA por sus siglas en Inglés), como una sustancia natural segura - GRAS, *Generally Recognized as Safe* - para su aplicación en la industria alimenticia, por lo cual es ampliamente utilizada en diversos sectores del ramo (FDA, 2007).

En la industria de los cosméticos, dadas sus propiedades protectoras, la cera de candelilla es indispensable para una gama importante de formulaciones utilizadas su fabricación. Por ser un buen plastificante, la cera de candelilla se utiliza en la fabricación de goma de mascar. Además, sus propiedades de retención de aceites le permiten conservar mejor los sabores, por lo que esta cera ha demostrado sus ventajas sobre la mayoría de las ceras sintéticas para esta aplicación en particular. La candelilla es exportada en un 46.6%, siendo los principales destinos Estados Unidos (31.2 %), Alemania (9.25%), y Reino Unido (8.76%). (CENAMEX, 2006).

5.4. FENOLES

Estos fitonutrientes, incluyen un numeroso grupo de compuestos que han sido sujeto de una extensa investigación como agentes preventivos de enfermedades. Los fenoles protegen a las plantas contra los daños oxidativos y llevan a cambio la misma función en el organismo humano. La característica principal de los compuestos fenólicos es su habilidad, para bloquear la acción de enzimas específicas que causan inflamación. Los fenoles también modifican los pasos metabólicos de las prostaglandinas y por lo tanto protegen la aglomeración de plaquetas (Hertog *et al.* 1993).

Basados en los datos obtenidos de estudios experimentales, parece que existen algunos posibles mecanismos para la acción de los fenoles. Estos inhiben la activación de carcinógenos y por lo tanto bloquean la iniciación del proceso de carcinogénesis. Los fenoles son también antioxidantes y como tales atrapan radicales libres, previniendo que estos se unan y dañen las moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN), un paso crítico en la iniciación de los procesos carcinogénicos. Como antioxidantes, los fenoles también previenen la

peroxidación de lípidos, los cuales, siendo radicales libres pueden causar daño estructural a las células normales. El daño estructural a las membranas de las células normales interfiere con el transporte de moléculas a través de estas membranas afectando el crecimiento y proliferación celular. (So *et al*, 1996; American Institute for Cancer Research, 1996).

La tabla 4, presenta una lista de sustancias naturales que podrían prevenir enfermedades por lo que se consideran productos nutraceuticos. (Hasler, 1998).

Tabla 4. Componentes nutraceuticos de interés alimentario

Componentes	Posible Propiedades Benéficas	Fuentes Alimentarias
Ácido a-linolénico	Reduce la inflamación. Estimula el Flaxseed, productos de sistema inmunológico	Soya, nueces y almendras.
Carotenoides Antioxidantes	Protegen contra el cáncer. Pueden ayudar a reducir la acumulación de plaquetas arteriales.	Zanahorias, camotes, frutas cítricas, melones, espinaca, acelgas, duraznos, perejil.
Licopeno	Potente antioxidante. Ayuda al organismo a resistir el cáncer especialmente cáncer de la próstata y cánceres cervicales)	Tomates, toronja roja, pimientos rojos, sandía
Monoterpenos	Antioxidantes de acción anticáncer. Inhiben la producción de colesterol y ayudan en la protección de la actividad de ciertas enzimas	Perejil, zanahorias, brócoli, col, tomates, berenjenas, pimientos, frutas cítricas, granos integrales, cerezas, pepinos
Fibra insoluble	Puede reducir el riesgo al cáncer de pecho y al cáncer del colon	Cascarilla de trigo, arroz no pilado, bananas, lentejas, nueces,
Ácidos Fenólicos	Podrían ayudar al organismo a resistir procesos carcinogénicos por inhibición de la formación de nitrosaminas y por efecto en la actividad de ciertas enzimas	Perejil, zanahoria, brécol, col, tomates, berenjena, pimientos, frutas cítricas, granos integrales, cerezas
Fitoesteroles	Bloquean la acción del estrógeno en la promoción de cáncer de los senos. Podrían ayudar a bloquear la absorción del colesterol	Brócoli, col, pepinos, productos de soya, tomates, berenjenas, pimientos, granos integrales

Fuente. Hasler, 1998

Los antimicrobianos naturales de origen vegetal que incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Beuchat, 2001), tales como ácidos cafeico, clorogénico, p-coumárico, ferúlico y quínico que están presentes en plantas que son usadas como especias. La actividad antimicrobiana de esos y otros ácidos como hidroxicinnámico y cinnámico pueden retardar la invasión microbiana así como también la putrefacción de frutas y vegetales. Los taninos y el ácido tánico han demostrado tener actividad antimicrobiana (Beuchat, 2001).

5.5. ALIMENTOS FUNCIONALES

Al iniciarse el nuevo milenio, una nueva era en el área de las ciencias de los alimentos y de la nutrición se ha hecho presente con cada vez mayor intensidad: el área de la interacción alimentos-medicina cada vez mas reconocida como la de los "alimentos funcionales" que acepta el papel de los componentes alimenticios, como nutrientes esenciales para el mantenimiento de la vida y de la salud y como compuestos no nutricionales pero que contribuyen a prevenir o retardar las enfermedades crónicas de la edad madura. Inicialmente considerados como una curiosidad pasajera, la idea de la formulación de alimentos en base a los beneficios de salud que sus componentes no nutricionales podían proveer al consumidor, se ha convertido en un área de mucho interés actual para las grandes compañías de alimentos (Best, 1997).

La idea de los "alimentos funcionales" fue desarrollada en el Japón durante la década de los 80s, como una necesidad para reducir el alto costo de los seguros de salud que aumentaban por la necesidad de proveer cobertura a una población cada vez mayor en edad, gracias a los avances en cuidado médico y una buena nutrición (FDA, 1993). El término se refería a alimentos procesados conteniendo ingredientes que ayudan a ciertas funciones específicas del organismo además de ser nutritivos. Al momento, Japón es el único país que ha formulado un proceso regulatorio específico para la aprobación de alimentos funcionales. Conocidos como "alimentos para uso específico de salud" ("foods for specified health use" o FOSHU), estos alimentos son elegibles para llevar un sello de aprobación del Ministerio de

Salud y Bienestar. Mas de 100 productos tienen licencia FOSHU en el Japón (Hasler, 1998).

De acuerdo a los japoneses los "alimentos funcionales" pueden clasificarse en tres categorías (Vasconcellos, 2008):

1. Alimentos a base de ingredientes naturales.
2. Alimento que deben consumirse como parte de la dieta diaria.
3. Alimentos, que al consumirse cumplen un papel específico en las funciones del cuerpo humano, incluyendo:
 - a) Mejoramiento de los mecanismos de defensa biológica;
 - b) Prevención o recuperación de alguna enfermedad específica;
 - c) Control de las condiciones físicas y mentales; y,
 - d) Retardo del proceso de envejecimiento.

El primer término usado para este tipo de alimentos en los Estados Unidos fue el de "alimentos diseñados", utilizado en 1989 por el Dr. Herbert Pierson, Director del Programa de Alimentos Diseñados del Instituto Nacional del Cáncer, para describir aquellos alimentos que contienen naturalmente o que son enriquecidos con componentes químicos, biológicamente activos pero no nutritivos, provenientes de plantas (fitoquímicos), efectivos en la reducción de los riesgos al cáncer. Ese mismo año, el Dr. Stephen De Felice, director de la "Fundación de Medicina Innovativa", crea el término "nutracéutico" para referirse a "cualquier sustancia que pueda ser considerada como alimento o como parte de un alimento y que proporciona beneficios médicos o de salud, incluyendo la prevención o el tratamiento de una enfermedad". Con el paso del tiempo, otros términos creados para caracterizar los "alimentos funcionales" incluyen: Alimentos genéticamente diseñados, farmacoalimentos, fitoalimentos, fitonutrientes, sustancias fitogénicas, alimentos rendimiento, alimentos inteligentes, alimentos terapéuticos, alimentos de valor añadido, alimentos genómicos, prebióticos/probióticos, fuentes fitoquímicas, Alimentos superiores, alimentos hipernutritivos (Fundation for innovation in medicine., 1990). Por último hasta el término "alimentos reales" (Presentado en una revista

promotora de fisicoculturismo). El término "fitoquímicos", constituye la evolución más reciente del término "alimentos funcionales" y enfatiza las fuentes vegetales de la mayoría de los compuestos preventivos de enfermedades (Vasconcellos, 2008).

5.6. EL AGUACATE

5.6.1. Origen y etimología

El nombre de aguacate (*Persea gratissima*, *Persea americana*) deriva de la palabra Nahuatl "aoacatl" o "ahuacatl" que significa testículo, por la apariencia de este fruto. Los Españoles hicieron de ahuacatl las palabras aguacata y avocado, esta última una palabra ya conocida, que designaba antiguamente a los abogados. En portugués se conoce como Abacate, en alemán se conoce como fruta de mantequilla. En algunos países de Sudamérica se le conoce como Palta (Argentina, Chile, Uruguay, Bolivia y el Perú). La palabra Guacamole proviene del Náhuatl ahuacamolli, que traducido significa sopa o salsa de aguacate. Los españoles mencionaron esta fruta por primera vez en 1519 en escritos. (Ayala, 1998).

A partir de pruebas arqueológicas encontradas en Tehuacan (Puebla), con una antigüedad aproximada de 12 000 años, se ha determinado concretamente que el aguacate es originario de México. En Trujillo (Perú) según recientes investigaciones, el aguacate se conoce desde hace unos 4,000 años. (Fersini, 1978). La especie comprende tres grupos o razas ecológicamente definidas:

1. **Raza mexicana:** *Persea americana* var. *drymifolia*,
2. **Raza guatemalteca:** *Persea nubigena* var. *guatemalis*
3. **Raza antillana:** *Persea americana* var. *americana*.

Las dos primeras son originarias de los altiplanos mexicano y guatemalteco, y la última de las tierras bajas de Centro América. Existen además híbridos antillanos guatemaltecos y guatemalteco mexicanos que han dado origen a variedades y cultivares adaptados a diferentes alturas y microclimas que han hecho posible la producción de fruta durante todo el año (Fersini, 1978).

La raza mexicana se caracteriza por su gran resistencia al frío y a su alto contenido de aceite, la raza guatemalteca caracterizada por su cáscara gruesa lo que le permite mayor resistencia al manejo y transporte y finalmente la raza antillana, la cual tiene como principal ventaja su adaptabilidad a clima tropical y su tolerancia a los suelos salinos, además de su corto periodo de floración (Fersini, 1978).

El aguacate pertenece al Orden Ranales, Suborden Magnolíneas y es miembro de la numerosa Familia vegetal de las Lauráceas, que comprende poco más de 47 Géneros y cerca de 2 000 especies, de características bastante homogéneas que se encuentran en áreas tropicales y subtropicales, que son árboles perennes o arbustos con flores trímeras y regulares, cuyas hojas poseen numerosas cavidades de aceite, entre los que se encuentra el Género *Persea* -que comprende 84 especies establecidas en el trópico americano, al cual pertenece la especie *Persea americana* Mill (Morales, 1994).

5.6.2. El fruto del aguacate

El fruto del aguacate es una drupa carnosa, de forma periforme, ovoide, globular ó elíptica alargada; El fruto consta de tres partes: corteza, pulpa y semilla. Su color varía del verde claro al verde oscuro, y del violeta al negro, como se observa en la imagen 2. La forma, el color, la estructura y consistencia de la cáscara y de la pulpa, son características determinadas por el grupo ecológico y la variedad analizada, con pulpa de consistencia de carne de membrillo hasta la suave de la mantequilla, coloreada en amarillo claro al interior y verduzco hacia el exterior, casi inodoro y sabor algo parecido al de avellana (Fersini, 1978). El peso normal de cada pieza de aguacate oscila entre los 200 y 400g, aunque los hay de mayor peso (Teliz, 2000).



Figura 3. *Persea Americana* variedad Mill

5.6.3. Su historia en México

Hasta 1963 en México, estuvo predominando la variedad Criollo Selecto y los estados productores más importante eran Puebla, Veracruz y Michoacán. A partir de esta fecha, la variedad del criollo dejó de ser importante, siendo reemplazada por variedades mejoradas, entre las cuales sobresalieron el Fuerte y el Hass. Este cambio se llevó a cabo en el estado de Michoacán, iniciándose en 1961, cuando el Instituto Mexicano del Café propició el establecimiento de diversos cultivos en el Estado, con el fin de moderar la expansión del café y proteger sus precios en el mercado internacional (Morales, 1994).

Al inicio, la variedad que más se difundió fue la Fuerte. Esta llegó a California en 1911, procedente de Atlixco, Puebla, para ser posteriormente mejorada genéticamente y propagada a nivel mundial. El aguacate Fuerte obtuvo algún tiempo una gran expansión en el estado Michoacán. Sin embargo, rápidamente fue desplazado por otra variedad mejorada, el aguacate Hass, que dadas sus excelentes características de productividad, calidad (tanto en su contenido nutricional como su presentación) y resistencia para el manejo comercial, ha llegado a ser el número uno en el estado y también a nivel nacional (Barranco, 2003).

De 1979 en adelante, se registró un creciente proceso de concentración regional de la producción, junto con una tendencia al predominio de una sola variedad. El Hass es una variedad comercial obtenida de una rigurosa selección a partir de la variedad guatemalteca. (Barranco, 2003).

5.6.4. Usos

El aguacate se ha destacado por sus diferentes usos: medicinales utilizando hojas, cáscaras, semillas y corteza, extracción de aceites, el cual se le compara con el aceite de oliva; además se utiliza como materia prima en la fabricación de shampoo y cosméticos como cremas, aceites y películas protectoras y limpiadoras de la piel. Pero la principal forma de utilización del aguacate es el consumo de la fruta en fresco o pulpa procesada en forma de guacamol, situación muy favorable en la dieta del ser humano considerando el alto valor proteínico de esta fruta, y lo más importante es que no contiene colesterol. Indicado para diabéticos, por su capacidad equilibrante de azúcar en la sangre (SAGARPA, 2006).

5.6.5. Conservación e industrialización del aguacate

El aguacate es un fruto con características especiales, posee un alto valor nutritivo comparado con otros frutos frescos, mayor contenido de proteínas y grasas, y menor contenido de carbohidratos. A diferencia de otros frutos, el aguacate presenta algunas dificultades para su industrialización como puré o pasta. De hecho el consumo mundial casi en su totalidad es como un fruto fresco. Las formas como habitualmente se prepara para su consumo son: mezclado con toronja o naranja, en ensaladas, rebanadas con sal, cocteles, en forma de puré o guacamole para emparedados y galletas saladas, a manudos se agrega a los guisos justamente antes de servirlos (FIRA, 1997).

El cocimiento del aguacate deteriora su sabor y en general sus características organolépticas. En muchos trabajos de investigación se señala que la única forma en que puede conservarse por tiempo relativamente corto, sin que cambien sus propiedades y composición, es por medio de congelación. El aceite de aguacate tiene aplicaciones industriales en la elaboración de cosméticos y como comestible sustituyendo al aceite de oliva al cual es muy parecido en su composición, si las condiciones de refinación son las adecuadas. Considerando lo anterior, el alto contenido de aceite en el aguacate y la creciente demanda de este a nivel internacional, según la opinión expresada por profesionales que trabajan en empresas relacionadas con el

área de los cosméticos, la extracción parece ser una solución a la industria eficiente de los excedentes disponibles de dicho fruto (FIRA, 1997).

Existen además otros productos que pueden ser obtenidos de las diversas partes que constituyen al aguacate, así tenemos por ejemplo que del hueso de aguacate pueden obtenerse derivados que poseen actividad farmacéutica, dichos productos están actualmente en etapa de investigación (FIRA, 1997).

5.6.6. Métodos de preservación de los frutos

Se conocen diferentes métodos de preservación del fruto. Entre los principales se pueden citar: la refrigeración, congelación, el tratamiento con preservativos químicos y la radiación. La literatura reporta que los frutos pueden satisfactoriamente almacenarse por 30 – 35 días con mínimas pérdidas fisiológicas de peso y deterioro por microorganismos a temperaturas de 5.5 – 6 °C. a temperaturas menores los frutos tienden a decolorarse internamente y no ablandan cuando son removidos de las cámaras frías y a temperaturas mayores a 12.5 °C, los frutos son susceptibles a la antracnosis (FIRA, 1997).

Una variación al sistema antes mencionado es el almacenamiento de este fruto bajo atmósfera controlada a manera de disminuir el contenido de O₂ e incrementar el CO₂. Con variedades de aguacate Fuerte se han obtenido resultados satisfactorios con 5% de O₂ y 10% de CO₂ a 15 °C (FIRA, 1997).

La congelación se puede llevar a cabo tanto de los frutos enteros como de mitades a las cuales se les ha eliminado el hueso. El proceso tiene principio cuando el fruto ha alcanzado un estado de madurez tal, que está apto para comerse y no presenta manchas en la pulpa. Si la preservación se realiza de mitades a las cuales se les ha eliminado el hueso, estas deberán ser recubiertas (glaseadas) con antioxidantes como los ácidos ascórbico o cítrico, que tienen la propiedad de no alterarle el sabor. La congelación puede realizarse por inmersión en nitrógeno líquido durante 15 – 20 segundos, posteriormente debe mantenerse a temperatura menor al 12°C, debiendo ser empacado en una atmósfera de nitrógeno (FIRA, 1997).

De los métodos más actuales para la conservación del aguacate está el método de ultra presión, en el cual se expone la pasta de aguacate a presiones que van alrededor de 87 000 psi (600 MPa), con lo que se eliminan todos aquellos microorganismos que pueden causar el deterioro de la pasta de aguacate, sin embargo no se reporta su efecto en el oscurecimiento enzimático (Ortiz, 2003).

Algunos productos químicos y naturales se emplean como antioxidantes o como microbicidas; los ácidos ascórbico y cítrico, y el jugo de limón se emplean como antioxidantes, y las sales de 5 – acetyl – 8 – hidroxiquinolina o los ácidos inorgánicos fuertes como el H_2SO_4 o H_3PO_4 se utilizan como microbicidas con muy buenos resultados. El uso de estas sustancias no impide ni retarda la maduración por lo que, deben emplearse conjuntamente otros métodos para este propósito. Uno de los métodos que se pueden utilizar es la aplicación de las radiaciones gamma que modifican el tiempo de maduración de la fruta en función de su dosis. Entre los defectos que se han detectado por aplicación de este tipo de tratamientos, ha sido el oscurecimiento de la pulpa tornándose café o por el contrario decolorándose. Buenos resultados han sido reportados cuando la radiación es menor de 7 J/kg (FIRA, 1997).

5.6.6.1. Productos industrializados

Se elaboran tres productos comestibles a partir del aguacate: pasta, puré y guacamole. Un proceso que ha tenido éxito en la conservación del aguacate ha sido la congelación y las altas presiones. Estas se utilizan para preparar el guacamole, producto similar al que actualmente la firma “CALAVO” comercializa en el mercado de los estados unidos. En México, el aguacate tradicionalmente se emplea bajo la forma de guacamole, que es una mezcla de pulpa de aguacate molido, jugo de limón, sal y otros ingredientes, dependiendo de la región (FIRA, 1997).

5.6.6.2. Preparación inicial

Los frutos son lavados con detergente y enjuagados con agua fría, posteriormente se desprende la cáscara y se parten para eliminar porciones descoloridas o dañadas, y el hueso. Finalmente se hace pasar la pulpa por una malla, de acuerdo al grado de molienda que se desee. (FIRA, 1997).

5.6.6.3. Preparación secundaria

Para la preparación de pasta de aguacate se la agrega azúcar y antioxidantes (1% de ácido ascórbico y 0.25% de ácido málico) a la pasta molida, se congela rápidamente y se envasa a temperatura de -12 °C o menores, y esta pasta puede usarse en la elaboración de helados. Para la preparación de puré se sigue al procedimiento anterior con la diferencia de que se envasa a un temperatura de -18 a -23 °C, y este es usado para la elaboración de emparedados o ensaladas (Ortiz, 2003). Para la preparación de Guacamole se hace con la siguiente formula:

Tabla 5. Formula de elaboración de Guacamole

Pulpa molida	100 partes en peso
Jugo de limón	8 – 10 partes en peso
Sal (cloruro de sodio)	1 – 2 partes en peso
Cebolla deshidratada en polvo	0.3 partes en peso

Posteriormente el guacamole es envasado y congelado a temperatura de -18 a -23°C (Palou E. *et al*). Se conocen algunos aditivos químicos para evitar el oscurecimiento del puré o guacamole, sin alterar el sabor, deteniendo la actividad enzimática y la reproducción bacteriana. Estos aditivos son el bisulfito de sodio (NaHSO₃) y el ácido ascórbico en las siguientes proporciones (FIRA, 1997):

Tabla 6. Aditivos químicos para evitar el oscurecimiento de cada 100 gr de puré o guacamole

30 mg	de NAHSO ₃
200 mg	de ácido ascórbico
Por cada 100 gr	de puré o guacamole

Fuente. FIRA, 1997

La extracción de aceite puede ser por diferentes métodos, los principales son:

Por prensas. Esta se lleva a cabo exprimiendo la pulpa por prensado, decantando la fase aceitosa, centrifugando y filtrando, el filtrado se calienta de 90 a 100 °C, se decolora con arcilla y se deodoriza con vapor. (FIRA, 1997).

Con solventes. Esta se lleva a cabo mediante un secado de la pulpa con un exprimidor de lana, la pulpa seca y molida se trata con hexano u otro solvente en frío, se destila el solvente, quedando el aceite crudo y para refinarlo se siguen los mismos pasos que por el proceso de prensado (FIRA, 1997).

Otro proceso de refinación de aceite crudo. La clorofila del aceite crudo es eliminada con la adición de 0.1 ml de H₃PO₄ por cada litro de aceite, se decolora y deodoriza con arcilla y vapor respectivamente. La neutralización de este aceite produce un aceite comestible (FIRA, 1997).

En Brasil ha sido desarrollado un proceso que permite la extracción del 90 al 95% del aceite, sometiendo previamente el fruto a una fermentación anaeróbica y extrayendo el aceite con alcohol etílico y hexano. Los residuos pueden entonces ser procesados para preparar alimentos de animales o en la producción de furfural. El aceite tiene su principal aplicación en la elaboración de cosméticos, debiéndose esto a la similitud que guarda su composición con el de olivo, teniendo además la ventaja de poseer propiedades penetrantes que lo hacen muy apto en la elaboración de cremas dermatológicas. Como se menciono antes, la refinación del aceite de aguacate, lo hace apto para ser comestible por lo que, dada su similitud con el de oliva, puede utilizarse para ensaladas u otros usos similares (FIRA, 1997).

5.6.6.4. Otros productos

Por la literatura se conoce la obtención de algunas sustancias de acción farmacológica tanto de la pulpa como del hueso, aunque estas investigaciones se encuentran a nivel laboratorio o experimental, en un futuro pueden resultar atractivas para industrializar íntegramente este fruto. Asimismo la obtención de

enzimas, inhibidores del crecimiento de las plantas y furfural, sin embargo este último evidentemente puede ser obtenido de materias primas más baratas (FIRA, 1997).

5.6.6.5. Consideraciones finales

Los métodos de preservación de los frutos, así como la producción de pastas, puré o guacamole envasados y la obtención del aceite y sus subproductos deben ser evaluados, tanto en función de sus posibilidades técnicas como de sus mercados nacionales e internacionales y los factores económicos implícitos. Esto debe ser objeto de un estudio sistemático y progresivo que permita estar preparados para el futuro, cuando los problemas de sobreproducción rebasen la demanda existente. En cuanto a los aspectos técnicos, será importante e imprescindible utilizar los servicios de instituciones de investigación oficiales o privadas que se han realizado trabajos sobre estos procesos para lograr el desarrollo y perfeccionamiento de la tecnología más adecuada (FIRA, 1997).

5.6.7. Beneficios

El cultivo de aguacate es una alternativa viable para la diversificación en áreas cafetaleras, ya que puede incorporarse a la estructura productiva de la finca en asocio con el café, sirviendo de sombra para este y generando ingresos económicos en el mediano plazo. El país exporta cada año unas cuatro mil 500 toneladas métricas de aguacate, Con apoyo de la Asociación Gremial de Exportadores de Productos no El aceite de aguacate, por ejemplo, “es tan competitivo como el aceite de oliva, por ser rico en grasas no saturadas y vitamina E, por su baja acidez y su alta composición de fitosterol, un componente similar a la lanolina, usada en la industria de cosméticos (Rodríguez S. P., 1992).

5.6.8. Contenido nutricional

Vitaminas: E, A, B1, B2, B3, D, y en menor cantidad C, Minerales: muy rico con 14 variedades destacan: hierro, fósforo y magnesio. Otros: Ácido fólico, Niacina, Biotina. El cuadro 9 presenta un análisis nutricional de 100 g de pulpa de aguacate Hass se presenta a continuación:

Tabla 7. Análisis de 100 gr. de pulpa de aguacate Hass

Fibra	0.4 g
Carbohidratos	5.9 g
Proteínas	1.8 g
Ácidos grasos	
• Saturados	3.0 g
• Monoinsaturados	8.9 g
• Poliinsaturados	2.0 g
Retinol (A)	17.0 mg
Tiamina	0.10 mg
Riboflavina	0.10 mg
Niacina	1.8 mg
Vitamina C	15.0 mg
Vitamina E	1.53 mg
Vitamina B6	0.25 mg
Folate	10.0 %
Ácido pantoténico	0.87 mg
Calcio	24.0 mg
Hierro	0.5 mg
Magnesio	45.0 mg
Sodio	4.0 mg
Potasio	604.0 mg
Zinc	0.42 mg
Kilocalorías	181.0 Kc

Fuente. Daniel Téliz, 2000

5.6.9. Enfermedades y su combate

5.6.9.1. Pudrición de la raíz o marchitez del aguacate

Causada por el hongo llamado *Phytophthora cinnamomi* Rands. Esta enfermedad se presenta en cualquier estado de desarrollo de la planta. Los síntomas se inician con un amarillamiento de las hojas el cual puede desaparecer por un tiempo para luego resurgir de forma más pronunciada. Las nuevas hojas que brotan son más pequeñas o acucharadas de color verde claro. Al evolucionar la enfermedad el árbol muestra marchitez y pérdida del follaje, generalmente no produce nuevos brotes y hay muerte descendente de ramas. Las raíces presentan coloración oscura y son quebradizas. En casos muy avanzados el sistema radical queda totalmente destruido (Ochoa A *et al.* 1999).

La producción de frutos disminuye, tanto en cantidad como en tamaño, hasta desaparecer totalmente. La humedad del suelo es el factor ambiental

primario que influye en el desarrollo de esta enfermedad; por lo tanto, se recomienda hacer las plantaciones en terrenos bien drenados o hacer drenajes artificiales con el fin de evitar estancamientos de agua. Es importante no sembrar cualquier clase de semilla. La semilla debe proceder de árboles sanos y de frutos que no hayan tenido contacto con el suelo y tratadas con agua caliente a 48 grados centígrados, empleando un método de calefacción donde se pueda controlar la temperatura, durante media hora; si la temperatura sube puede afectar la germinación (Infoagro, 2002).

El semillero debe hacerse en suelos libres de la enfermedad, por lo que se recomienda desinfectar el suelo con bromuro de metilo. En la plantación, se debe evitar herir las raíces y los tallos, por lo que se prefiere realizar el combate químico de las malezas en la rodaja. Debe evitarse intercalar el aguacate con cultivos susceptibles al hongo (cítricos, manzana) y no hacer plantaciones donde cultivos susceptibles han sido sembrados anteriormente. Los árboles muertos o a punto de morir deben arrancarse de raíz, quemarse en el mismo lugar, para evitar movimiento de tierra de áreas infectadas o zonas libres de la enfermedad. Aunque los tratamientos con fungicidas a los árboles enfermos no han dado resultados satisfactorios contra la enfermedad, se ha obtenido un buen combate con los tratamientos con fungicidas clorotalonil, mancozeb, metalaxyl, tanto al suelo como el follaje (Infoagro, 2002).

5.6.9.2. Mancha negra o cercospora

Es causada por el hongo denominado *Cercospora purpura* Cooke, ataca las hojas y produce lesiones pequeñas color café oscuro. Cuando el ataque es severo causa su caída quedando los árboles defoliados. En los frutos produce lesiones pequeñas, oscuras, de bordes irregulares y el resquebramiento de la corteza. Tanto las lesiones en las hojas como en el fruto son puerta de entrada para otros organismos como *Colletotrichum*. Para su combate se recomiendan aspersiones con fungicidas a base de cobre, como hidróxido de cobre (Kocide 101), oxiclورو de cobre (Cupravit, Cobox, Vitigram) o sulfato de cobre, ya sea solos o mezclados con otros como clorotalonil, benomyl, etc (Infoagro, 2002).

5.6.9.3. Antracnosis

La antracnosis es producida por el hongo común *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., que medra como saprófito a parasito débil sobre diversas plantas en Florida. En el aguacate, el hongo se encuentra, por lo común, sobre las ramitas muertas y en las hojas y los frutos. Es incapaz de desarrollarse activamente en frutos en desarrollo, que se encuentran saludables y sin lesiones, aunque puede establecer infecciones latentes sobre ellos, en especial en las lenticelas. Las infecciones latentes se mantienen inactivas hasta que el fruto madura, desarrollándose rápidamente al ablandarse el fruto. Las infecciones latentes son, por lo general, de poca importancia en frutos bien asperjados, que se recolecten en la etapa apropiada de madurez y que se manejen en forma adecuada hasta que lleguen al consumidor. El hongo se establece activamente, por si mismo, en los frutos de aguacate cuando estos se aproximan a la madurez, a través de las zonas muertas o grietas en la cascara, producidas por otros hongos, por lesiones mecánicas o por insectos, especialmente por las grandes chinches de la planta. La mancha de *Cercospora* es la vía más común de entrada, en el fruto que no se ha asperjado (P. Rueble, 1974).

Las lesiones de la antracnosis son ligeramente hundidas y de perímetro casi circular, de color pardo oscuro a negro, variando de pequeñas manchas hasta 12 o más milímetros de diámetro. Al madurar el fruto, la infección de propaga rápidamente, produciendo una pudrición negro – verdosa, bastante firme, que puede llegar a abarcar una gran porción de todo el fruto. La superficie de la lesión puede llegar a desarrollar grietas radiales y, durante los periodos de humedad, presentan masas rosáceas de esporas del hongo. Todas las variedades que se cultivan en Florida se encuentran expuestas al ataque, si las condiciones son favorables para la infección (P. Rueble, 1974).

Cuando la mancha de la *Cercospora* se controla adecuadamente, por lo general se tienen pocas dificultades con la mancha negra. En las variedades de maduración tardía, como Nabal, Taylor y Choquette, puede reducirse la infección de la antracnosis, en los frutos magullados o perforados por insectos, por una aplicación de un fungicida de cobre, durante el otoño, además del programa de aspersiones que se recomienda para el control de la mancha por

Cercospora. La variedad fuerte es muy susceptible a la infección tardía de la antracnosis al final de la estación, siendo una de las principales causas de que esta variedad no se cultive con éxito en Florida. La recolección de frutos inmaduros parece contribuir al desarrollo de la antracnosis durante el almacenaje y el tránsito, en especial en pequeñas magulladuras y lesiones de la cascara, que se producen durante la recolección y el empaque (P. Rueble, 1974).

5.6.9.4. Roña

Es una enfermedad producida por el hongo (*Sphaceloma persea* Jenkins) en su fase asexual, después de la antracnosis es la enfermedad que sigue en importancia económica en las plantaciones de aguacate en Guatemala, daña principalmente el fruto, aunque en ataque severo la enfermedad es favorecida con humedades relativas arriba del 60% y temperaturas altas, es por eso que en los meses de enero a mayo es frecuente encontrarla dañando desde frutos recién cuajados hasta frutos de tamaño puede dañar hojas y ramas. **Control:** Favorecer la buena circulación del aire y penetración de luz solar con control de insectos principalmente Trips y colocación de cortinas rompevientos debido a que el roce de frutos por la acción del viento favorece a la enfermedad. (Ochoa A *et al.* 1999).

5.6.9.5. Pudrición de la Cicatriz del Pedúnculo (Stem-end Rot)

Es causada por *Botryodiplodia theobromae* y aparece como un pardeamiento oscuro o una coloración negra que se inicia en el pedúnculo y avanza hacia la punta floral, finalmente cubre la fruta completa. *Dothiorella gregaria* es otra causa de pudrición de la cicatriz del pedúnculo en aguacates con madurez de consumo. Los métodos de control incluyen buena sanidad de la huerta, aplicación efectiva de fungicidas postcosecha, manejo cuidadoso para minimizar los daños físicos, enfriamiento inmediato a la temperatura óptima recomendada para el cultivar y la conservación de esta temperatura durante el mercadeo. (Ochoa A *et al.* 1999).

5.6.10. Calidad

Para saber la calidad del aguacate se toman en cuenta diferentes parámetros, tales como el tamaño (varía con la preferencia del consumidor); forma (depende del cultivo); color de la piel o cáscara; ausencia de defectos tales como malformaciones, quemaduras de sol, heridas y manchado (raspaduras, daño por insecto, daño por uñas y cicatrices causadas por el viento), rancidez y pardeamiento de la pulpa; y ausencia de enfermedades, incluyendo antracnosis y pudrición de la cicatriz del pedúnculo. Algunos cultivares se dejan en el árbol por períodos prolongados después que han adquirido la madurez fisiológica o de cosecha. El almacenamiento en el árbol puede dar lugar al desarrollo de sabores desagradables o rancidez debido a sobremaduración. Los sabores desagradables también pueden desarrollarse cuando las frutas se cosechan en períodos de clima cálido (Infoagro, 2002).

5.6.11. Temperatura óptima

5-13°C (41-55°F) para aguacates verde-maduros (con madurez fisiológica o de cosecha), dependiendo del cultivar y de la duración a la baja temperatura. 2-4°C (36-40°F) para aguacates con madurez de consumo (Infoagro, 2002).

5.6.12. Humedad relativa óptima

De acuerdo a lo reportado en Infoagro (2002) es del 90-95%.

5.6.13. Tasa de respiración

Para calcular el calor producido multiplique mL CO₂ /kg·h por 440 para obtener Btu/ton/día o por 122 para obtener Kcal/ton métrica /día, según como se muestra en la tabla 18 reportada por Infoagro, 2002.

Tabla 8. Tasa de respiración del Aguacate

TEMPERATURA	5 °C (41 °F)	10 °C (50 °F)	20 °C (68 °F)
mL CO ₂ / kg h·	10 – 25	25 – 80	40 – 150

Fuente. Infoagro, 2002

5.6.14. Tasa de producción de etileno

Los frutos de aguacate no adquieren madurez de consumo en el árbol y la producción de etileno comienza después de la cosecha y aumenta considerablemente con la maduración a más de 100 μ L C₂H₄/kg·h a 20°C (Infoagro, 2002).

5.6.15. Efectos del etileno

El tratamiento con 100 ppm de etileno a 20°C por 48 horas (frutas de estación temprana), 24 horas (frutas de estación media) o 12 horas (frutas de estación tardía) induce la maduración de consumo en 3-6 días, dependiendo del cultivar y del estado de madurez fisiológica. Los indicadores de madurez de consumo incluyen ablandamiento de la pulpa y cambios del color de la piel del verde al negro en algunos cultivares como el Hass. Los aguacates maduros (blandos) requieren de cuidado en su manejo para minimizar los daños físicos (Infoagro, 2002).

5.6.16. Efecto de las atmósferas controladas (AC)

La AC óptima (2-5% O₂ y 3-10% CO₂) retarda el ablandamiento y los cambios del color de la piel y disminuye las tasas de respiración y de producción de etileno. La AC reduce el daño por frío (chilling injury) del aguacate. El aguacate Hass verde-maduro puede conservarse a 5-7°C (41-45°F) en 2% O₂ y 3-5% CO₂ por 9 semanas, y entonces madurarse en aire a 20°C para alcanzar buena calidad. Se recomienda la eliminación del etileno de los almacenes de AC. Las concentraciones >10% CO₂ pueden incrementar el pardeamiento de la piel y pulpa y la generación de sabores desagradables, especialmente cuando el O₂ se encuentra en concentraciones <1% (Infoagro, 2002).

5.6.17. Fisiopatías

Daño por Frío (Chilling Injury) Los principales síntomas externos en aguacates verde maduros son picado (pitting) de la piel, escaldado y ennegrecimiento cuando se les mantiene a 0-2°C (32-36°F) por más de 7 días antes de transferirlos a las temperaturas para la maduración de consumo. Los aguacates expuestos a 3-5°C (37-41°F) por más de dos semanas pueden presentar oscurecimiento interno de la pulpa (pulpa grisácea, pulpa manchada,

pardeamiento de los haces vasculares), problemas para madurar y aumento de la susceptibilidad al ataque de microorganismos patógenos. El momento en que el daño por frío comienza a desarrollarse y la severidad con que se presenta dependen del cultivar, región productora y estado de desarrollo (madurez fisiológica-madurez de consumo) (Infoagro, 2002).

5.6.18. Importancia socioeconómica

En nuestro país, el aguacate se cultiva en varios Estados de la República, destacándose Michoacán, Nayarit, Morelos, Puebla y México. En la zona productora del Estado de Michoacán, el cultivo del aguacate es la principal actividad económica, generando una muy importante fuente de empleos (Martínez, 1997).

5.6.18.1. Países productores

Existen varios países productores de aguacate en el mundo, entre los cuales podemos mencionar a México como el principal de ellos, seguido por Indonesia, Estados Unidos, República Dominicana, Brasil, Israel, Chile, Colombia, Perú, Sudáfrica y Australia entre otros. Debido a las bondades y a la exquisitez del fruto, el comercio internacional ha crecido considerablemente, por lo cual en varios países se puede ya disfrutar de esta deliciosa fruta.

Tabla 9. Principales países productores de aguacate.

PAIS	TONELADAS
México	1,040,390
E.U.	200,000
Indonesia	177,263
Brasil	175,000
Chile	150,000
Rep. Dominicana	140,000

Fuente. FAOSTAT Database results, 2004

5.6.18.2. Distribución geográfica y cronológica del aguacate en el mundo

Después del descubrimiento de América y de la conquista de México, Centro América, Colombia y Perú, el aguacate se diseminó a otros lugares del mundo (Smith et al. 1992)

Tabla 10. Distribución geográfica y año aproximado en que el aguacate se distribuyó de América hacia el mundo.

PAIS	AÑO	PAIS	AÑO	PAIS	AÑO
España	1600	Hawai	1810	Filipinas	1890
Jamaica	1650	Senegal	1824	India	1892
Cuba	1700	Singapur	1830	Zanzíbar	1892
Ghana	1750	Florida	1833	Mali	1892
Barbados	1751	California	1848	Sud Africa	1904
Mauritius	1780	Australia y Chile	1850	Nueva Zelandia	1910
Madagascar	1802	Uganda	1856	Israel	1931
Brasil	1809	Egipto	1870	Turquía	1932

Fuente. Smith et al, 1992

5.6.18.3. Regiones aguacateras en México

Mora, Gutiérrez, y Téliz, 1998 consignaron que la superficie cultivada con aguacate en México fue de 753,801 ha en 1998. Los principales estados productores son Michoacán, Nayarit, México, Puebla y Morelos, en los que se concentra la mayor superficie plantada y cosechada y la mayor producción.

Tabla 11. Superficie plantada de aguacate en México en 1991 y 1995.

Miles Ha plantadas Entidad	1991	1995	1998	1998
Baja Calif. Sur	206	210	217	1,997
Chiapas	3,277	794	711	4,363
Durango	388	282	280	1,682
Guanajuato	1,537	1,106	777	3,109
Guerrero	1,454	650	881	4,910
Hidalgo	414	489	488	2,301
Jalisco	1,412	696	753	5,666
México	2,967	2,130	2,201	16,035
Michoacán	39,794	75,075	78,487	637,631
Morelos	2,498	2,389	2,389	10,463
Nayarit	4,49	2,425	2,278	16,638
Nuevo León	1,529	775	741	4,272
Oaxaca	1,826	1,029	1,185	9282
Puebla	5,041	2,297	2,280	11,919
Sinaloa	49	544	588	4,699
Tamaulipas	339	171	172	1,624
Veracruz	3,598	232	282	3,602
Yucatán	1,932	543	533	9,692
Otros	6,595	650	631	3916
Total	79,787	92,487	95,874	753,801

Fuente. Mora, Gutiérrez y Téliz 1998, actualizada en superficie a marzo de 1998

Es interesante observar la adaptación del aguacate en Michoacán, en que contrasta el crecimiento del área cultivada, con la disminución y estabilización relativa de los Estados de Nayarit, Morelos, Puebla y México, que tienen más de 2000 Ha dedicadas al aguacate.

Algunas estadísticas sobre el cultivo del aguacate, según la Asociación de Empacadores y Exportadores de Aguacate del Estado de Michoacán (ASEEAM), se muestran a continuación.

Tabla 12. Estadísticas sobre el cultivo del aguacate.

Municipio	Superficie Ha	Número de Productores	Producción Toneladas	Rendimiento Ton/Ha
Tangancicuaro	48	14	221	4.6
Purepero	52	23	208	4.0
Chilchota	157	122	691	4.4
Ziracuaretiro	184	388	1,324	7.2
Tocumbo	214	48	1,712	8.0
Apatzingán	218	37	1,308	6.0
Taretan	256	37	2,176	8.5
Tangancicuaro	337	89	2,157	6.4
Jacona	363	10	2,904	8.0
Cotija	418	63	3,344	8.0
Zitácuaro	895	331	6,712	7.5
Tingambato	2,284	400	19,414	8.5
Los Reyes	2,692	560	24,228	9.0
Tingüindin	3,630	451	36,300	10.0
San Juan Nvo.	4,622	336	43,909	9.5
S. Escalante	4,831	382	50,725	10.5
Ario de Rosales	5,283	560	47,597	9.0
Tacambaro	7,550	719	79,275	10.5
Peribán	12,779	1,701	127,790	10.0
Tancitaro	14,122	1,068	141,220	10.0
Uruapan	15,373	2,289	151,192	9.8
TOTALES	77,260	9,628	752,060	9.7

Fuente. Martínez, 1997

De acuerdo con cifras oficiales, Morelos, Yucatán, Sinaloa, Baja California Sur, Jalisco y Veracruz han superado a Michoacán en la producción promedio por hectárea (8-12 ton), aunque la producción en la mayoría de esos estados no es con el cultivar Hass.

Tabla 13. Producción promedio por hectárea (8-12 ton), aunque la producción en la mayoría de esos estados no es con el cultivar Hass.

ESTADO	SUPERFICIE (Ha)	PRODUCCION TON.	RENDIM. (TON/Ha)	PERIODO COSECHA
Michoacán	74,969	670,508	8.9	JUL-MAY
Nayarit	2,437	23,250	8.7	JUL-SEPT
Morelos	2,392	19,840	9.4	MAY-AGO
Puebla	2,206	11,793	5.3	MAY-AGO
Estado de Méx	2,105	13,222	7.7	MAY-AGO
Sinaloa	1,289	11,343	8.8	AGO-FEB
Guanajuato	1,106	5,530	5.0	MAY-AGO
Otros	6,519	41,721	6.4	

Fuente. Mora, Gutiérrez y Téliz 1998

5.7. *Aloe vera* (SÁBILA)

En los últimos años, se ha prestado especial importancia al uso del *Aloe vera* en la industria de alimentos como fuente de alimentos funcionales. El *Aloe* es un género de la subfamilia *Asphodelaceae*, que comprende más de 200 especies. Es originaria de África Oriental y Meridional. Alcanza entre 1 y 3 metros de altura, aunque alcanza hasta 6 m. Las especies del género de los *áloes* son casi siempre leñosas, pero con las hojas muy grandes y carnudas, dispuestas en grandes rosetones y con una espina recia en su extremo, armadas de otras espinas marginales más pequeñas. Las flores son tubulosas, porque las seis piezas que forman la cubierta floral se sueldan todas entre sí en un tubo, generalmente recto o encorvado algunas veces. Estas flores suelen tener color rojizo, anaranjado o amarillento. Los estambres son también seis, con largos filamentos que arrancan del fondo de la flor, debajo del pistilo. El fruto es una cápsula de paredes inconsistentes. (Eshun, 2004).

5.7.1. Composición y Usos del *Aloe vera*

El *Aloe*, es un excelente limpiador y antiséptico natural (contiene al menos seis agentes antisépticos: lupeol, ácido salicílico, nitrógeno de urea, ácido cinámico, fenol y azufre) (Jasso, 2006).

Sus componentes penetran fácilmente en la piel y en los tejidos (en algunas ocasiones cruzando siete capas distintas), que actúa como anestésico

calmando todo tipo de dolores (especialmente los musculares y de las articulaciones) y tranquilizando los nervios. Posee una gran actividad antibactericida, que también destruye numerosos tipos de virus, es fungicida, antiinflamatorio, antiprurítico, altamente nutritivo (contiene vitaminas, minerales y azúcares), destruye los tejidos muertos, favorece el crecimiento celular normal, hidrata los tejidos y es antipirético (Jasso, 2006).

5.8. ACEITE DE JOJOBA

Debido a su color se le ha llamado también oro líquido. El aceite de jojoba, se obtiene por la presión en frío de las semillas de un arbusto del desierto denominado *Simmondsia chinensis*. Este era utilizado por los indios americanos como alimento y medicina, especialmente como protector de la piel contra las fuertes radiaciones solares del desierto. Es curioso, como la madre naturaleza siempre otorga la medicina en el propio lugar dependiendo del clima y otros factores. Pero más que un aceite, se trata de una especie de cera que a temperatura ambiente es líquida, presentándose con aspecto grasosa a diferencia de otros aceites de presión en frío (Sánchez, R. 2003).

5.8.1. Composición

En su compleja composición hay un 96% de ceramida, lo que hace que resulte extremadamente estable al calor y a la oxidación conservándose perfectamente con el paso del tiempo y manteniendo íntegras sus propiedades. Las ceramidas son sustancias las cuales recubren las células de la epidermis regulando su hidratación. Las ceramidas del aceite de jojoba, son muy similares a las de la piel y actúan allí donde se necesita, ejerciendo una profunda hidratación y reestructurando el equilibrio graso de la piel. En su composición también encontramos vitamina E, la cual elimina las radicales libres de la piel que son responsables del envejecimiento prematuro. Otro de sus componentes es el ácido linoléico el cual actúa regenerando las células de la piel (Sánchez, R. 2003).

6. Materiales y métodos

Actualmente existe información disponible sobre la elaboración y aplicación de cubiertas comestibles que facilita el desarrollo de una nueva tecnología en el área. Para este trabajo se propuso extraer cera de candelilla y aprovecharla en la elaboración de cubiertas comestibles en base a los resultados obtenidos por Saucedo-Pompa (2007).

6.1. Sección experimental I: Extracción de cera de candelilla y preparación de cubiertas comestibles

6.1.1. Recolección de la planta

Las muestras de planta de candelilla se recolectaron en unos cerros ubicados a la altura del kilómetro 45 de la carretera 57 Saltillo-Monclova. La planta se cortó con la ayuda de unas tijeras para podarla sin tener que arrancarla desde la raíz, de acuerdo a las recomendaciones de la SEMARNAT. Posteriormente las muestras se llevaron al Departamento de Investigación en Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas (DIA) de la Universidad Autónoma de Coahuila (UAdeC) donde se realizó el proceso de extracción.

6.1.2. Lavado de la planta

La planta de candelilla se lavó con una corriente de agua para eliminar los restos de tierra.

6.1.3. Extracción de la cera de candelilla

La cera se extrajo en un recipiente de acero inoxidable por inmersión en una solución ácida de ácido sulfúrico al 80 %, la cual se calentó hasta 90°C hasta que la espuma blanca que flotó en la superficie del recipiente, se recogió con un espumador de acero inoxidable llevándola a un vaso de precipitado, la cera obtenida se dejó secar y posteriormente se purificó fundiéndola nuevamente en una solución de ácido sulfúrico al 80 %, las impurezas en la cera que precipitaron hasta el fondo del recipiente se separaron, después se dejó secar la cera de candelilla para separarla de la solución ácida,

posteriormente se calentó nuevamente para hacer un lavado con agua destilada y eliminar los residuos de ácido sulfúrico.

6.1.4. Elaboración de la cubierta comestible

Para este estudio se elaboraron cubiertas comestibles elaboradas con productos naturales. La cubierta comestible se formuló con un 1.5 % de cera de candelilla, 0.015 % de plastificante, 3 % de emulsificante y se ajustó el pH a 9 con una solución carbonatada, usando agua como agente dispersante. Posteriormente se adicionaron 2 agentes antioxidantes. El antioxidante "A" a las concentraciones de 0.005 %, 0.01 % y 0.015 % y el antioxidante "B" a 2 %, 4 % y 6 %, tomando como base las concentraciones usadas por Saucedo-Pompa en el 2007.

6.1.5. Procedimiento de elaboración de la cubierta

En una parilla de agitación y calentamiento, se fundió la cera de candelilla a 80 °C, posteriormente se adicionó agitando el plastificante. En un homogenizador se mezcló el emulsificante con el agua, a temperatura ambiente, se aforó al 100 % con agua destilada y se ajustó la solución a un pH de 9 con un potenciómetro Orión. Posteriormente se calentó hasta una temperatura de 80 °C. Después se adicionó al homogenizador la cera de candelilla fundida con el plastificante. La mezcla se homogenizó a 2,800 rpm durante 30 minutos (Saucedo-Pompa, 2007), posteriormente se adicionaron los aditivos antioxidantes por separado y se homogenizó la mezcla por 10 minutos más. Finalmente la cubierta estaba lista para su aplicación *in vitro* e *in situ*.

6.2. Sección experimental II: Actividad antifúngica de una cubierta comestible con aditivos antioxidantes contra *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides* en ensayos *in vitro*

6.2.1. Ubicación del experimento

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología y el Laboratorio de Fermentaciones del (DIA).

6.2.2. Microorganismos

Las cepas fúngicas fitopatógenas de *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, fueron proporcionadas de la colección del (DIA).

Para la activación de las cepas se prepararon cajas petri con 15 ± 1 mL de agar papa dextrosa (PDA) estéril, éstas se inocularon colocando en el centro un propábulo de micelio (6mm de diámetro) de la cepa y posteriormente las placas se incubaron a 30 °C hasta que el micelio creció en la mayor parte de la superficie del agar (2-7 días). Para la conservación de los microorganismos, se preparó un medio crioprotector de leche descremada en agua (1:9 m/v) al cual se le agregó el 10 % de glicerol y se esterilizó a 121 °C por 8 min para evitar la caramelización de los azúcares presentes en la leche. Dentro de tubos Eppendorf estériles se depositaron propábulos de micelio y se cubrieron con 0.5 mL del medio crioprotector y se conservaron a -20 °C.

6.2.3. Propagación de la cepa fúngica y obtención de esporas

Se vertieron 30 mL de agar PDA en matraces Erlenmeyer de 250 mL con tapón de gasa y algodón, éstos se esterilizaron en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Una vez solidificado el medio, se inoculó con 100 µL de una suspensión de esporas de *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides* (Colección DIA), para posteriormente incubarse a 30 °C hasta su total esporulación (72-96 horas). Sobre el matraz esporulado se vertieron 30 mL de una solución de detergente Tween 80 al 0.1% (v/v), previamente esterilizado. Se realizó una cosecha de esporas con ayuda de un agitador magnético estéril y una parrilla de agitación. De esta suspensión se hizo una dilución 1:20, de la cual se tomó una pequeña alícuota para el conteo en una

cámara de Neubauer, en donde se contaron 13 cuadros de los 25 cuadros centrales, utilizando un microscopio óptico con un objetivo de 40x. La cantidad de esporas se determinó con la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{Número de esporas}}{\text{mL}} = (\text{promedio de esporas por cuadro})(25)(10^4)(\text{factor de dilución})$$

6.2.4. Ensayo *in-vitro* de actividad antifúngica

Para este ensayo se prepararon cajas petri con 15 ± 1 mL de agar PDA estéril, a estas se les colocó y disperso 0.25 mL de cada una de las diferentes cubiertas preparadas, se dejó que perdiera un poco de humedad la cubierta para posteriormente inocular 1x10⁷ millones de esporas. Las placas fueron incubadas a 30 °C por 6 días. La inhibición en el crecimiento se calculó con base al crecimiento del micelio sin la adición de cubierta en las placas control sin cubierta, esto mediante la toma de fotografías ultravioleta con el Spectroline Ultraviolet Transilluminator GDS-8000 Sistem.

Se realizó el mismo ensayo bajo las mismas condiciones pero en tubos de ensayo con tapón de rosca con agar solidificado (“slants”) esto como una metodología alternativa del ensayo.

6.2.5. Ensayo control *in vitro*

Para este ensayo se prepararon cajas petri con 15 ± 1 mL de agar PDA estéril, a estas se les colocó y disperso 0.25 mL de cubierta estéril, a otras, cubierta sin esterilizar, también se colocó en otras cajas petri solo cubierta estéril para llevar a cabo el ensayo de la siguiente manera.

Tabla 14. Tratamientos para ensayo control *in vitro*

Inoculadas con 1x10 ⁷ millones de esporas	Con cubierta estéril
	Con cubierta sin esterilizar
	Solo cubierta estéril
Sin inocular	Con cubierta estéril
	Con cubierta sin esterilizar

Este procedimiento se siguió de igual manera para *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, con tres repeticiones para cada tratamiento de cada hongo.

6.3. Sección experimental III: Efecto antifúngico de las cubiertas comestibles de cera de candelilla sobre aguacates Hass enteros inoculados con *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*

6.3.1. Obtención de frutos

Los frutos fueron obtenidos en la central de abastos de la localidad, se aseguró la uniformidad en los frutos, seleccionándolos con homogeneidad. Los criterios de selección de los frutos fueron: tamaño, ausencia de daños en la piel, ausencia visible de microorganismos, madurez y color. Los frutos fueron tomados de un mismo lote, y todos presentaban la misma apariencia. Se seleccionó aguacate Hass, proveniente de Uruapan, Michoacán. Posteriormente fueron desinfectadas con una solución de clorada (500 ppm) por 5 minutos, y fueron secados a temperatura ambiente (González-Aguilar *et al.* 2005).

6.3.2. Tratamientos

Se usaron 4 controles uno sin cubierta sin inocular (SC-SI), otro con cubierta sin antioxidantes sin inocular (CC-SI), otro sin cubierta e inoculado (SC) y uno mas con cubierta sin antioxidantes e inoculado. De los otros 6 tratamientos todos se inocularon, 3 corresponden a los casos en los que se usó la cubierta con antioxidante "A" en sus diferentes concentraciones (A-0.005%, A-0.01 % y A-0.005 %) y los otros 3 corresponden a los casos en los que se uso el antioxidante "B" en sus diferentes concentraciones (B-2 %, B-4 % y B-6 %), como se presenta en la tabla 15.

Tabla 15. Tratamientos de la sección III

Tratamiento	Abreviación
Sin cubierta sin inocular (control)	SC-SI
Con cubierta control sin inocular (sin antioxidantes)	CC-SI
Sin cubierta (control)	SC
Con cubierta control (sin antioxidantes)	CC
Cubierta con antioxidante "A" al 0.005 %	A-0.005%
Cubierta con antioxidante "A" al 0.01 %	A-0.01 %
Cubierta con antioxidante "A" al 0.015 %	A-0.005 %
Cubierta con antioxidante "B" al 2 %	B-2 %
Cubierta con antioxidante "B" al 4 %	B-4 %
Cubierta con antioxidante "B" al 6 %	B-6 %

6.3.3. Aplicación de las cubiertas comestibles y almacenamiento de los frutos

La cubierta comestible fue aplicada a 50 °C, para evaluar su efecto antifúngico (*in situ*) en la calidad de vida de anaquel de aguacates. Estos fueron divididos en grupos completamente al azar de acuerdo al tipo de tratamiento que se trataba y con cuatro repeticiones cada uno, fueron sometidos por inmersión a la cubierta comestible por un tiempo no mayor a 2 segundos, y secadas con una corriente de aire, en cada fruto se aplicó este tratamiento dos veces. Una vez que la cubierta quedó completamente seca sobre el aguacate se procedió a inocular una carga de 1×10^7 millones de esporas del hongo. Los frutos con cubierta y los controles sin tratamiento fueron almacenados a 5 °C por 4 semanas, para posteriormente llevar a temperatura ambiente (promedio 25 °C) durante 2 semanas más, y los tratamientos control sin inocular fueron guardados bajo las mismas condiciones pero fueron almacenados por separado para evitar una contaminación cruzada, los parámetros fisicoquímicos de calidad fueron medidos durante estos periodos.

6.3.4. Evaluación fisicoquímica

6.3.4.1. Pérdida de peso

La pérdida de peso se registro semanalmente por el lapso de las seis semanas que dura la experimentación mediante el uso de una balanza gravimétrica (Explorer, OHAUS).

6.3.4.2. Calculo de la pendiente

La pendiente (m) está determinada por el cambio en la distancia vertical (Y_1-Y_2) dividida entre el cambio en la distancia horizontal (X_1-X_2) (Stanley, 1998); es decir, la pendiente se define como la cantidad de incrementos de “y” en función a un incremento de “x”.

Existen varios tipos de pendiente:

- a) Una recta con m positiva es aquella que sube al movernos de izquierda a derecha.
- b) Una recta con m negativa es aquella que baja al movernos de izquierda a derecha.
- c) Una recta con $m=0$ es aquella línea que se presenta horizontalmente.

Una recta con m indefinida es aquella línea que se presenta verticalmente (Goodman, 1996).

6.3.4.3. Cambios de apariencia

Los cambios de apariencia se midieron cada semana por el lapso de las seis semanas que duro la experimentación mediante el uso de una cámara fotográfica Sony, Cyber Shot de 7.2 mega pixels.

6.3.5. Diseño del experimento y análisis estadístico

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar con 4 repeticiones. Los datos fueron analizados por un análisis de varianza con un nivel de significancia de 0.05 con ayuda del programa estadístico JMP usando un análisis multifactorial. Posteriormente se hizo una comparación de medias con la prueba de Turkey 0.05.

6.4. Sección experimental IV: Efectividad de las cubiertas comestibles sobre aguacate Hass entero inoculado con *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides* mediante el conteo de hongos y levaduras en la pulpa de aguacate

6.4.1. Aplicación de las cubiertas comestibles y almacenamiento

El tiempo de inmersión de cada fruto en la solución de la cubierta fue no mayor a 2 segundos, una vez que la cubierta quedó completamente seca sobre el aguacate se procedió a inocular una carga de 1×10^7 millones de esporas del hongo. Todos los tratamientos fueron almacenados a 30 °C por 12 días, y los tratamientos control sin inocular fueron guardados bajo las mismas condiciones pero fueron almacenados por separado para evitar una contaminación cruzada, los conteos de hongos y levaduras se realizaron a tres repeticiones de cada tratamiento cada dos días a partir del cuarto día, tiempo óptimo de maduración de los aguacates y crecimiento del hongo fitopatógeno inoculado.

6.4.2. Método de conteo de hongos y levaduras en alimentos en base a la NMX-F-255-1978

6.4.2.1. Preparación soluciones y de medio de cultivo

Se preparó medio PDA suficiente y se distribuyó en porciones de 100 ml y se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 121°C, se enfrió a 45-48°C y se acidificó a pH 3.5 con una disolución estéril de ácido tartárico al 10% (aproximadamente 1.4 ml de ácido por 100 ml de medio). Para la disolución estéril de ácido tartárico se disolvieron 10 gr de ácido tartárico en 100 mL de agua destilada y se esterilizó a 121 °C durante 15 minutos, y para la disolución reguladora diluyente se disolvieron 34 gr de fosfato monopotásico en 500 mL de agua y se ajustó el pH a 7.2 con hidróxido de sodio 1N, se esterilizó a 121 °C durante 20 minutos, y posteriormente se conservó en refrigeración.

6.4.2.2. Procedimiento para el conteo

Se tomó 1.25 mL de la solución reguladora diluyente y se completó el volumen a 1000 mL con agua destilada. Se tomó una porción de 9 mL en tubos de ensayo por duplicado para cada repetición y se esterizaron a 121 °C por 20 minutos. Posteriormente los aguacates fueron sacados con guantes estériles y fueron colocados en bolsas de plástico para evitar contaminación del medio

ambiente y fueron llevados a un medio estéril donde fueron partidos a la mitad, se les retiró el hueso y se homogenizó la pulpa con una espátula estéril, después se tomó 1mL de pulpa la cual se puso en un tubo con solución diluyente estéril y así obtuvimos una dilución 1:10, después se tomó 1mL de la dilución 1:10 y se pasó al otro tubo para obtener una dilución 1:100. De la dilución 1:100 se tomo 1mL por duplicado en cajas petri y se agregaron de 12 a 15 mL de agar PDA acidificado, fundido y mantenido a 45^o-48^oC, se homogenizó, se dejó solidificar y se metió a incubar una serie de placas a 22^oC durante 5 días y la otra serie a 35^oC durante 48 horas. Esto se hizo para cada repetición de cada tratamiento.

6.4.2.3. Expresión de los resultados

Se contaron en un cuenta colonias Quebec las colonias de hongos en la serie incubada a 22^oC y las colonias de levaduras en la serie incubada a 35^oC. Se multiplicó por la inversa de la dilución y se informa como "Cuenta de hongos en placas agar-papa dextrosa acidificada e incubada durante 5 días a 22^oC" y "Cuenta de levaduras en placas de agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante 48 horas a 35^oC" por gramo o mililitro de la muestra.

7. Resultados y discusiones

7.1. Sección experimental I: Extracción de cera de candelilla y preparación de cubiertas comestibles

En la imagen 1 se muestra la apariencia de la cera extraída en el laboratorio para su utilización en la elaboración de las cubiertas comestibles semejante a la cera de candelilla obtenida por (Saucedo-Pompa 2007), también es semejante a la cera que se extrae en por los candelilleros de la región (CENAMEX, 2007)



Figura 4. Apariencia de la cera de candelilla

En la tabla 16 se muestran las diversas concentraciones a las que se elaboraron las diferentes cubiertas para su posterior aplicación, semejantes a las cubiertas elaboradas por Saucedo-Pompa en el 2007.

Tabla 16. Cubiertas elaboradas

Cubierta	Abreviación
Con cubierta control (sin antioxidantes)	CC
Cubierta con antioxidante "A" al 0.005 %	A-0.005 %
Cubierta con antioxidante "A" al 0.01 %	A-0.01 %
Cubierta con antioxidante "A" al 0.015 %	A-0.005 %
Cubierta con antioxidante "B" al 2 %	B-2 %
Cubierta con antioxidante "B" al 4 %	B-4 %
Cubierta con antioxidante "B" al 6 %	B-6 %

NOTA: La abreviación usada para el ensayo *in vitro* e *in situ* sin cubierta fue "SC"

7.2. Sección experimental II: Actividad antifúngica de una cubierta comestible con aditivos antioxidantes contra *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides* en ensayos *in vitro*

Como se puede observar en la tabla 17 se muestran los resultados de la inhibición de la cubierta en sus diferentes tratamientos aplicada sobre pruebas “in vitro” y en base a los resultados obtenidos podemos decir que no existe diferencia significativa entre un tratamiento y otro para los ensayos realizados con los 2 hongos diferentes, de hecho, existe menor crecimiento fúngico en los controles sin cubierta, en contraste, las películas recubiertas de nisina usadas por Mauriello en el 2005 reporta que fueron efectivas en inhibir a *M. luteus* ATCC 10240 en TSB en empaques de leche, los resultados obtenidos por Mauriello en el 2005 pueden deberse a que los antimicrobianos (nisina) actúan sobre la pared celular, las enzimas metabólicas, así como la síntesis de proteínas y sistemas genéticos, aunque es muy difícil dar con el blanco más crítico debido a las reacciones simultáneas, es por eso que no están bien definidos los mecanismos de acción de los antimicrobianos pero la eficacia de los antimicrobianos depende de pH, capacidad amortiguadora del alimento, tiempo y temperatura de almacenamiento, el microorganismo de interés, el tipo y la concentración del antimicrobiano, según lo reportado por Davison en el 2001. Aunque Cheah, LH *et al.* 1997 en las pruebas in vitro, encontró que el quitosán a 1,2, y 4 % redujo significativamente el crecimiento de *Sclerotinia Sclerotiorum* en placas del agar PDA.

Tabla 17. Porcentaje de inhibición en caja petri

	<i>Fusarium oxysporum</i>			<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
CC	20	0	0	0	0	0
SC	40	40	40	20	20	20
A-0.015 %	20	20	0	0	0	0
A-0.01 %	20	0	0	0	20	20
A-0.005 %	20	20	0	0	20	0
B-6%	0	0	0	0	0	0
B-4%	20	20	0	0	0	0
B-2%	20	0	0	20	0	0

En la tabla 18 se muestran los resultados del ensayo de actividad antifúngica en tubos de los diferentes tratamientos de la cubierta comestible, en el cual se puede observar que solo el tratamiento con el antioxidante B-2 % contra *Fusarium oxysporum* presenta diferencia debido a que dos de las tres repeticiones si presentan inhibición del 70 %, los tratamientos B-4% y A-0.005 % solo una de las 3 repeticiones presenta una inhibición de 70 % y los demás tratamientos y repeticiones presentan una inhibición del 35 %, a excepción de los tratamientos CC que no presenta inhibición alguna, pero en cuanto a la inhibición del *Colletotrichum gloeosporioides* no se presenta alguna diferencia de inhibición entre los tratamientos con cubierta con antioxidante “B” en ninguno de los tratamientos ya que presentan exactamente el mismo comportamiento, en cuanto a los tratamientos con el antioxidante “A” existe diferencia entre los tratamientos ya que A-0.01 % y A-0.015 % una de sus repeticiones presenta una inhibición del 70 % y la concentración mas baja A-0.005 % existe solo un 35 % de inhibición para sus tres repeticiones, es mas, al igual que en el ensayo en caja petri los resultados son parecidos debido a que los tratamientos control sin cubierta presentan menor crecimiento fúngico comparados con los controles con cubierta. Esto se puede deber posiblemente a que el modo de acción de los aditivos antimicrobianos no ha sido determinado, estos pueden inactivar enzimas esenciales, reaccionan con la membrana celular o altear la función del material genético y se ha observado que, pH y la temperatura afecta la actividad antimicrobiana de estos compuestos según lo reportado por Davinson en (1996). Y también en base a lo reportado por Doores en (1993) que los mohos y levaduras toleran un rango de crecimiento más amplio, ya que pueden crecer a pH por debajo de 3.5.

Tabla 18. Porcentaje de inhibición en tubos

	<i>Fusarium oxysporum</i>			<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
CC	0	0	0	0	0	0
SC	35	35	35	35	0	35
A-0.015 %	35	35	35	35	35	70
A-0.01 %	35	35	35	70	35	35
A-0.005 %	35	70	35	35	35	35
B-6%	35	35	35	35	35	70
B-4%	70	35	35	35	70	35
B-2%	70	70	35	35	35	70

En base a los resultados de la tabla 19 podemos observar que el porcentaje de inhibición para ambos hongos es de 20 % con el uso de la cubierta estéril pero con el uso de cubierta sin esterilizar no existe inhibición alguna para *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, pero también existe crecimiento de otros microorganismos, aparentemente *Aspergillus niger* y algunas bacterias, lo que nos indica que la cubierta sin esterilizar presenta contaminación de este tipo de microorganismos y también esto es debido a la actividad antimicrobiana que también depende de la resistencia de las células vegetativas y las esporas, la diferencia de las cepas, la interacción con otros microorganismos y el estado de los mismos según lo reportado por Davison en el 2001, En el otro ensayo donde solo se colocó cubierta estéril y se inocularon los hongos no presentan crecimiento alguno debido a que el microorganismo no tiene una fuente de carbono disponible y hace falta oxígeno para su desarrollo, lo que nos hace llegar a la conclusión de que la cubierta al colocarla sobre el agar sirve como dispersante de las esporas en el medio, además de aumentar la Aw y permitir un crecimiento óptimo para el crecimiento fúngico sin importar las concentraciones de los activos antioxidantes.

Tabla 19. Porcentaje de inhibición en controles en caja petri

	<i>Fusarium oxysporum</i>			<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
Con cubierta estéril	20	20	20	20	20	20
Con cubierta sin esterilizar	0	0	0	0	0	0
Solo cubierta estéril	100	100	100	100	100	100

Esta prueba se realizó para cerciorarnos de que el esterilizado de la cubierta era eficiente y también para saber si realmente la cubierta sin esterilizar estaba contaminada por otros microorganismos, y en base a la tabla anterior podemos decir que si ya que al colocar la cubierta estéril sobre el agar en caja petri no presenta crecimiento alguno a excepción de una repetición que presenta un crecimiento del 20 % que quizá se pudo deber a una contaminación externa al momento de colocar la cubierta en la caja, pero en

cuanto a las cajas que se les puso cubierta sin esterilizar crecieron varios microorganismos, al parecer *Aspergillus niger* y bacterias iguales a las que se presentaron en el ensayo anterior. Y en base a esto último podemos decir que la cubierta sin esterilizar si presenta contaminación por varios microorganismos.

Tabla 20. Porcentaje de crecimiento de microorganismos presentes en la cubierta

	Sin inocular		
	R ₁	R ₂	R ₃
Con cubierta estéril	20	0	0
Con cubierta sin esterilizar	100	100	100

7.3. Sección experimental III: Efecto antifúngico de las cubiertas comestibles de cera de candelilla sobre aguacates Hass enteros inoculados con *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides*

7.3.1. Pérdida de agua de los ensayos *in situ* inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides*

En la figura 5 se muestra la disminución del peso de los aguacates en relación a las semanas de almacenamiento, como se puede observar los tratamientos que se les aplicó la cubierta presentan menos disminución de peso a pesar de que se inoculados con una fuerte cantidad de esporas en comparación con los otros tratamientos, de estos, los mejores tratamientos son las tres concentraciones del antioxidante "A", pero de estos tres tratamientos el mejor es el uso del antioxidante "A" en mayor concentración (A-0.015 %), en comparación con los controles sin inocular en donde los tratamientos con ambos antioxidantes no son tan eficientes y no presentan mucha diferencia en disminución de peso, pero tomando en cuenta la carga excesiva de esporas se puede decir que la cubierta con antioxidantes protege muy bien al fruto ya que esta carga tan exagerada de esporas ataca de manera inmediata al aguacate usando el agua liberada del aguacate para su metabolismo. Los resultados son semejantes a lo reportado por Tawil-Bouchez en el 2003 que menciona la pérdida de peso en zanahorias fue menor en los tratamientos con cubierta de quitosano a comparación de los controles. Los resultados concuerdan con los obtenidos por Ghaouth et al en 1991, donde ellos evaluaron la pérdida de peso en pimiento morrón y pepinos cubiertos con quitosano, encontrando que los frutos cubiertos perdieron menos peso que aquellos que no tenían ningún tratamiento. Ellos concluyen que estos resultados se deben a la barrera que se forma alrededor del fruto, la cual impide que se pierda vapor de agua.

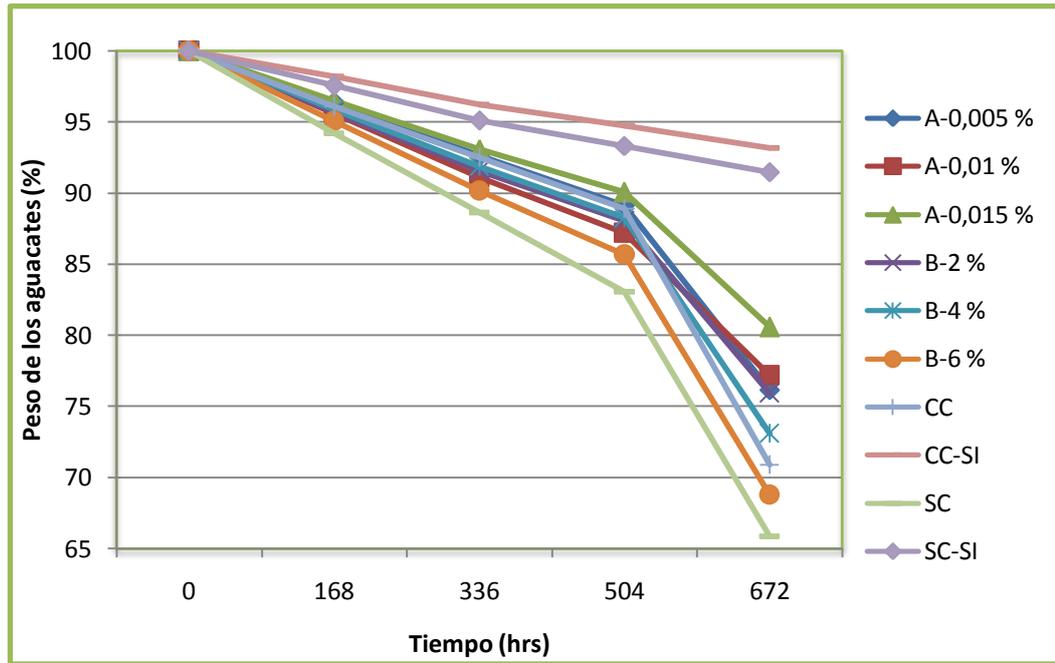


Figura 5. Disminución del peso de aguacates inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides*

En base a los resultados anteriores se realizó un análisis por separado de los tratamientos con cada antioxidante para poder determinar los gramos de agua pérdida por gramo de aguacate en relación a las horas de almacenamiento transcurridas, en la figura 6 se muestran los resultados obtenidos con el antioxidante A y el control y que para los tratamientos con antioxidante "A" el mejor tratamiento resultó ser el A-0.015 % ya que es el que presentó una menor pérdida de agua en comparación con las otras concentraciones de antioxidante, en cambio los tratamientos sin inocular presentan mucho menor pérdida de agua en relación a todos los otros tratamientos, esto debido a la ausencia de la excesiva carga de esporas, pero se nota que el tratamiento CC-SI pierde menos agua que el tratamiento SC-SI y también se puede observar que el tratamiento CC protege muy bien al aguacate ya que no existe gran diferencia con el tratamiento A-0.005 % pero si existe una gran diferencia comparado con el tratamiento SC a pesar de la excesiva cantidad de esporas presentes en el aguacate. Petit-Jimenez *et al.* (2004) demostraron que aplicaciones de 0,5% de calcio combinado con cera comestible puede reducir la tasa respiratoria, pérdida de peso sin afectar los parámetros de calidad de los frutos durante el almacenamiento por 15 días a 20°C, similar a lo que se reporta en este ensayo.

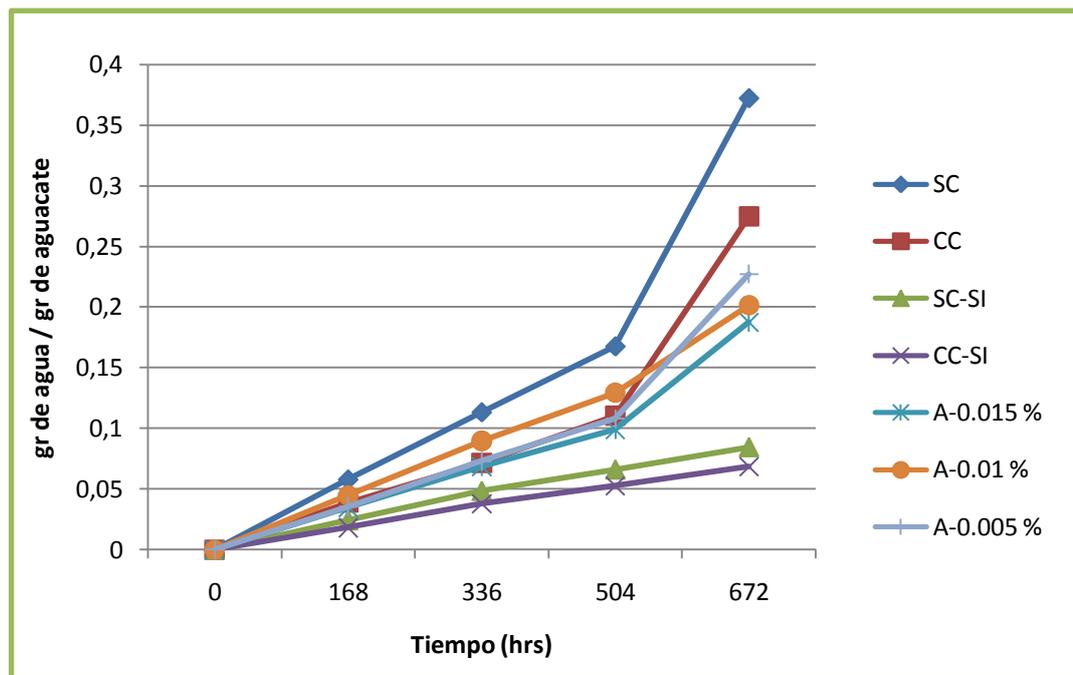


Figura 6. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides* tratados con la cubierta con antioxidante "A"

Con el antioxidante B se puede observar en la figura 7 que el mejor tratamiento es el uso del antioxidante B al 2 % y se presenta gran diferencia con respecto a el tratamiento CC el cual presenta la menor pérdida de agua, pero con los controles CC-SI y SC-SI existe gran diferencia ya que estos no tienen la carga excesiva de esporas, también se puede observar que si se aumenta la concentración de antioxidante menor efecto tiene en cuanto a la pérdida de agua ya que los tratamientos al 4 y 6 % presentan una mayor pérdida de agua en relación con el tratamiento al 2 %, de hecho presentan una pérdida de agua semejante al tratamiento CC y como era de esperarse, el tratamiento SC es el que mayor pérdida de agua presenta.

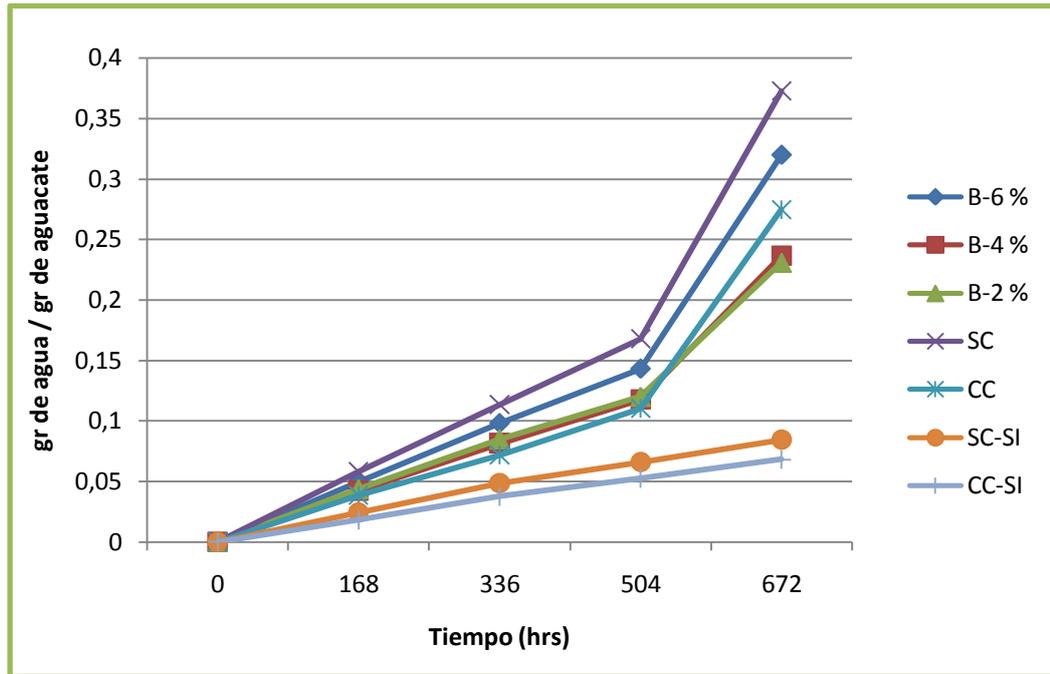


Figura 7. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides* tratados con la cubierta con antioxidante "B"

En base a los resultados anteriores obtenidos se calculó la pendiente de cada tratamiento para poder determinar la velocidad de la pérdida de agua para cada uno de los tratamientos.

La figura 8 nos muestra que las mejores concentraciones de antioxidantes son A-0.015 % y B-2 % ya que presentan un comportamiento semejante y son las que presentan una menor velocidad de pérdida de agua aun con una carga excesiva de esporas, de hecho el tratamiento CC aun con esa carga de esporas presentó un comportamiento protector, también se nota claramente que para el antioxidante A mientras mayor es la concentración, mejor es la protección que brinda al fruto y con el antioxidante "B" es inverso, mientras mas alta sea la concentración de antioxidante menor es la protección que brinda. Aun con el uso de deferentes aditivos a la cubierta la velocidad del deterioro microbiológico en alimentos no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la composición química del producto y del tipo de carga inicial según lo reportado por Gould en (1996).

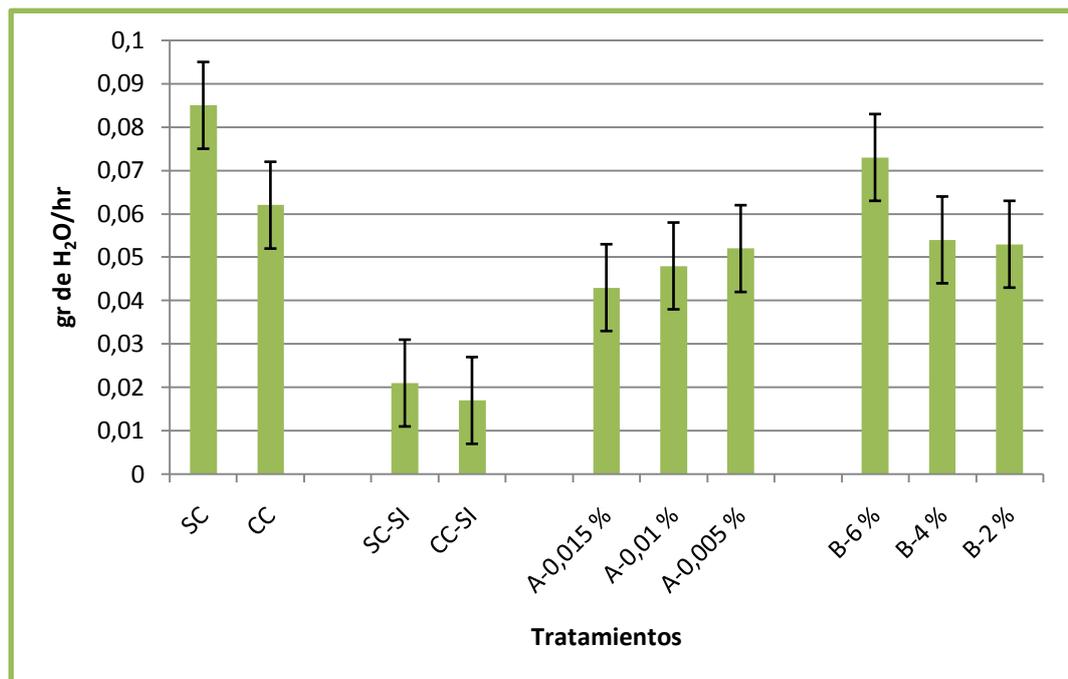


Figura 8. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides* en los diferentes tratamientos

7.3.2. Cambios de apariencia en los ensayos *in situ* inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides*

En este caso, los frutos SC sufrieron un mayor daño que los frutos con la cubierta con antioxidante “A-0.015” y “B-2”, y aunque todos los demás tratamientos también sufrieron cambios de apariencia, estos tratamientos tuvieron menores cambios de apariencia interna y externa a pesar de la carga tan excesiva de microorganismos inoculados comparados con los frutos control SI e inoculados, resultados semejantes a los obtenidos por Tawil-Bouchez ME (2003) que reporta que con el uso de cubiertas comestibles con quitosano se redujo el cambio de color en zanahorias, también Ghaouth *et al.*, en 1991 demostraron que la aplicación de cubiertas con antioxidante “A” retardan los cambios de apariencia en manzanas esto puede deberse a la atmósfera modificada interna creada en el fruto, con altos niveles de CO₂ y bajos de O₂ que retrasaron los procesos de maduración. (González-Aguilar *et al.*, 2005) y Petit-Jimenez *et al.* (2004) demuestran que aplicaciones de 0,5% de calcio combinado con cera comestible puede reducir y mejorar la apariencia externa de los mangos sin afectar los parámetros de calidad de los frutos durante el almacenamiento por 15 días a 20°C.

Figura 9. Apariencia externa con cubierta



Figura 10. Apariencia Interna con A-0.015

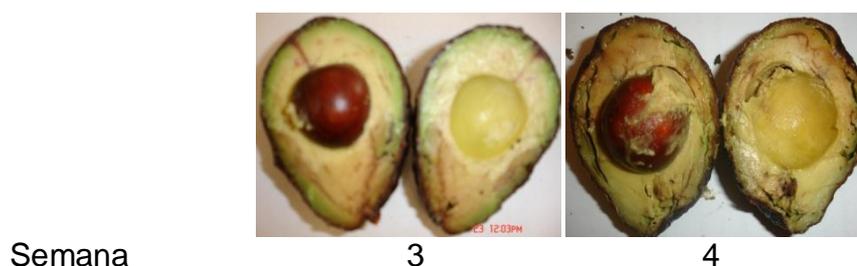


Figura 11. Apariencia interna con B-2%



7.3.3. Pérdida de agua de los ensayos *in situ* inoculados con *Fusarium oxysporum*

En la figura 12 se muestra la disminución del peso de los aguacates en relación a las semanas de almacenamiento, como se puede observar los tratamientos que se les aplicó la cubierta presentan menos disminución en peso a pesar de que se les inoculó con una fuerte cantidad de esporas, pero aun en comparación con los controles sin inocular los tratamientos con antioxidante A-0.01 % y B-2 % presentan una menor disminución de peso y resultan ser los mejores tratamientos. Estos resultados son semejantes a los obtenidos por Bósquez-Molina y Carter Vernon E.J. en el (2005) los cuales reportan una menor pérdida de peso fresco en los frutos se obtuvo con la formulación de goma de mezquite-cera de candelilla:aceite mineral con sorbitol y calcio, la cual permitió conservar la vida útil de los limones Persa por 25 días

y se debe a que la transferencia del vapor de agua generalmente ocurre a través de la porción hidrófila de la película y por consiguiente depende de la proporción hidrófoba hidrófila de los componentes de la película. Porque cada sustancia hidrófoba tiene únicas propiedades físico-químicas, las películas basadas en lípidos tienen comportamiento variable en contra de la transferencia de humedad según lo reportado por Rojas-Graü M.A. en el 2006.

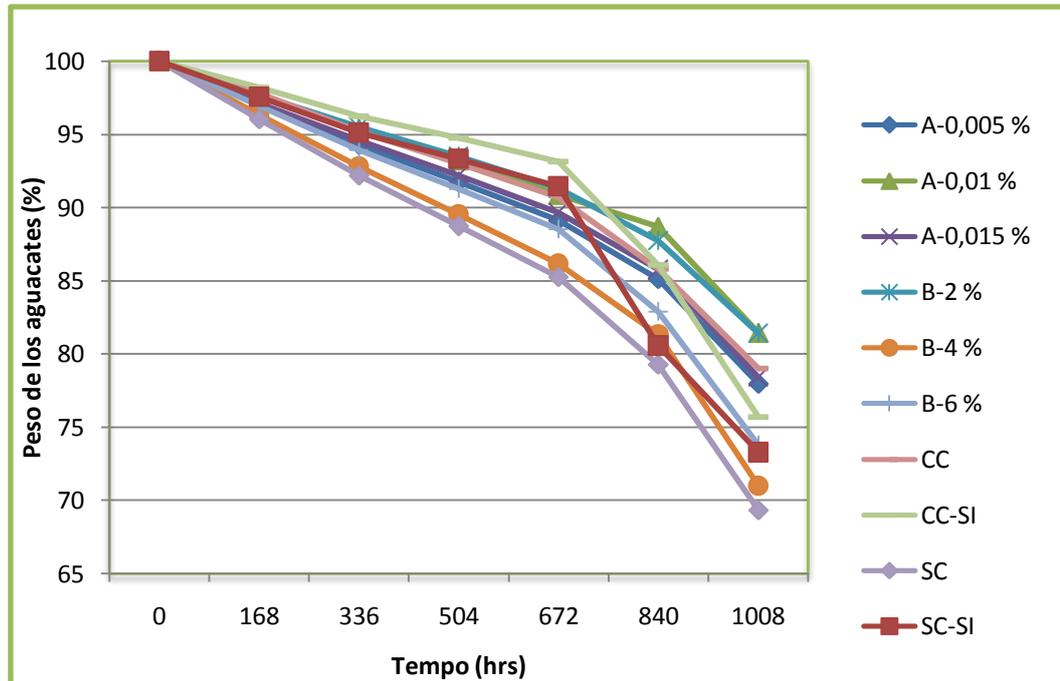


Figura 12. Disminución de peso de aguacates inoculados con *Fusarium oxysporum*

En base a los resultados anteriores se realizó un análisis por separado de los tratamientos con cada antioxidante para poder determinar los gramos de agua pérdida por gramo de aguacate en relación a las horas de almacenamiento transcurridas (figura 13), y en esta grafica de muestra que para los tratamientos con en antioxidante A el mejor tratamiento resultó ser el A-0.01 % ya que presenta menos pérdida de agua en relación con los otros tratamientos aun en comparación con los controles sin inocular con y sin cubierta y los tratamientos A-0.005 %, A-0.015 % CC y CC-SI presentan casi el mismo comportamiento y existe si diferencia entre los tratamientos SC y SC-SI ya que presenta una mayor pérdida de agua el tratamiento SC, resultados semejantes a los obtenidos por Cerqueira, MA *et al.* (2007) que encontraron

que una solución de polisacáridos con galactomonanos presenta propiedades en cuanto a la pérdida de peso del queso recubierto.

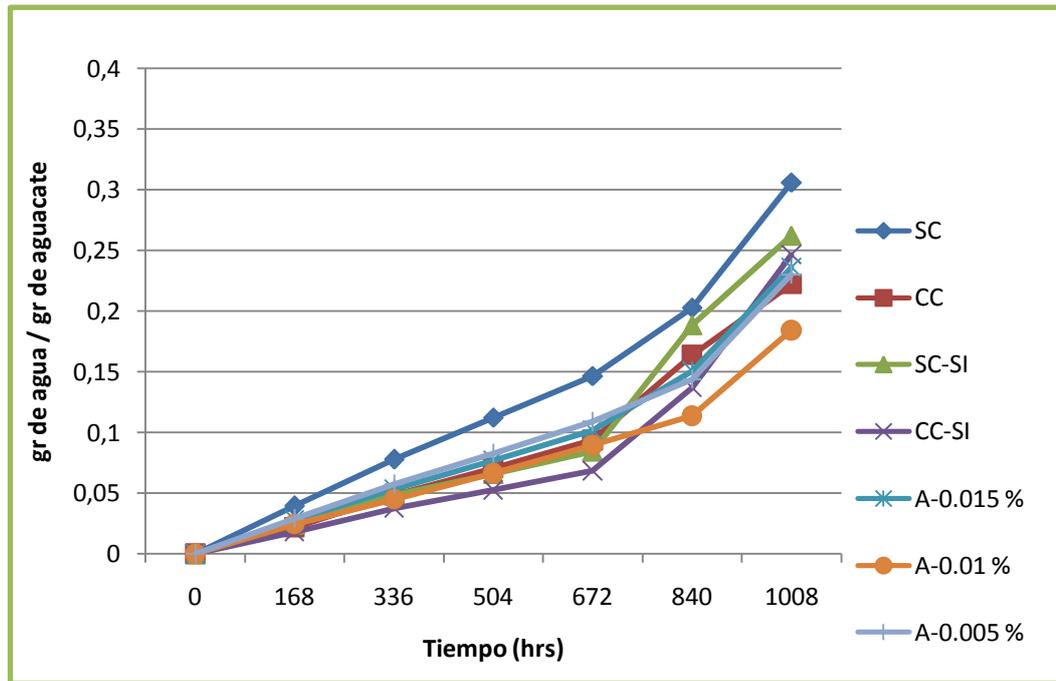


Figura 13. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con *Fusarium oxysporum* tratados con la cubierta con antioxidante "A"

Con el antioxidante B se puede observar en la figura 14 que el mejor tratamiento es el uso del antioxidante al 2 % ya que de todos los tratamientos es el que menor pérdida de agua presenta, también se puede observar que si se aumenta la concentración de antioxidante menor efecto tiene en cuanto a la pérdida de agua ya que los tratamientos al 4 y 6 % presentan una mayor pérdida de agua en relación con el tratamiento blanco (CC), de hecho presentan una pérdida de agua muy semejante al tratamiento SC-SI, y como era de esperarse, el tratamiento SC es el que mayor pérdida de agua presenta, estos resultados tienen similitud con lo reportado por Bai J *et al.* (2002) que encontraron que los mejores recubrimientos de goma laca para manzanas "Delicious" ya que tiene las pérdidas mínimas de peso y la permeabilidad de esta cubierta es alta, similar a la de polietileno.

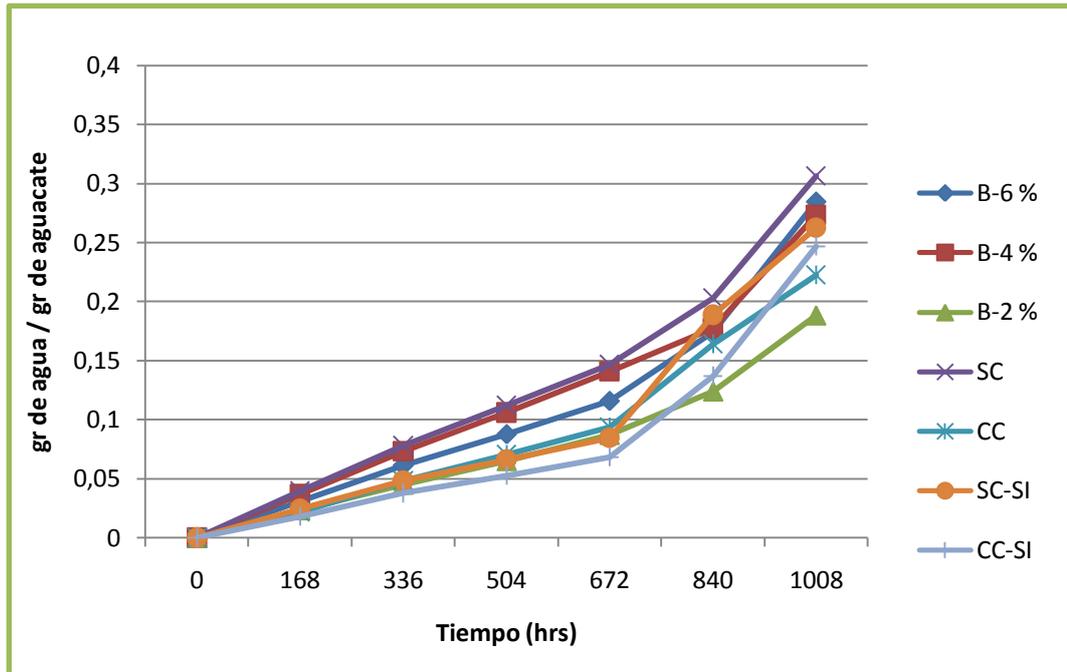


Figura 14. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con *Fusarium oxysporum* tratados con la cubierta con antioxidante "B"

En base a los resultados anteriores obtenidos se calculó la pendiente de cada tratamiento para poder determinar la velocidad de la pérdida de agua para cada uno de los tratamientos.

La figura 15 nos muestra que para este ensayo las mejores concentraciones de antioxidantes son A-0.01 % y B-2 % ya que presentan un comportamiento semejante y son las que presentan una menor velocidad de pérdida de agua aun con una carga excesiva de esporas, de hecho el tratamiento CC aun con esa carga de esporas presentó un comportamiento parecida al tratamiento a los tratamientos de almacenamiento en condiciones normales (SC-SI y CC-SI).

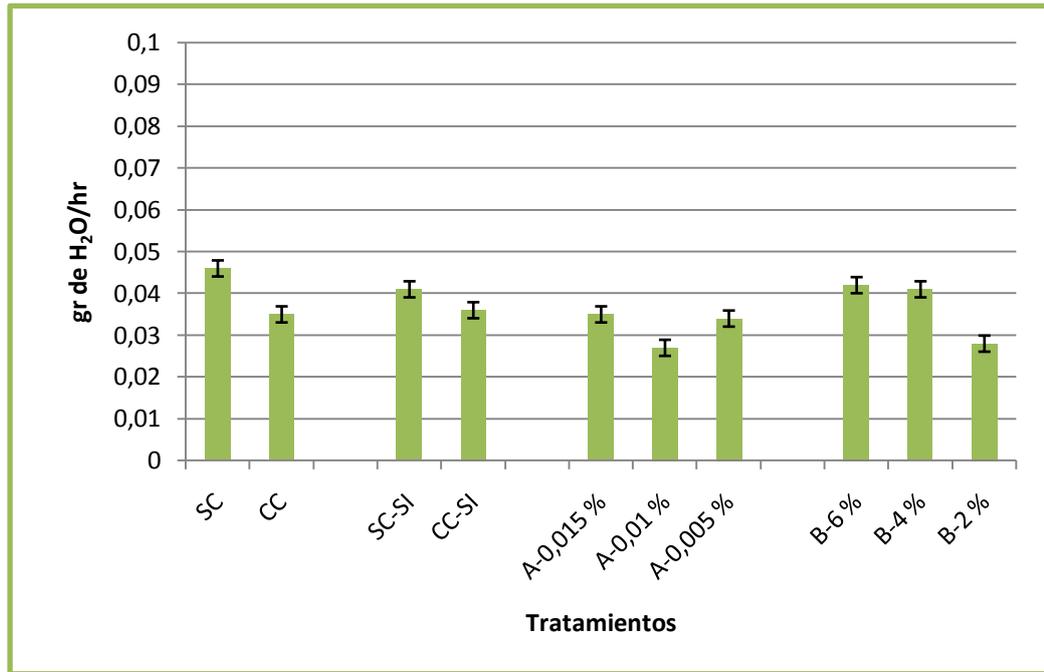


Figura 15. Pérdida de agua de los aguacates inoculados con *Fusarium oxysporum* en los diferentes tratamientos

7.3.4. Cambio de apariencia en los ensayos *in situ* inoculados con *Fusarium oxysporum*

En cuanto a los cambios de apariencia, los frutos SC sufrieron mayores daños que los frutos con la cubierta con antioxidante “A-0.01” y “B-2”, y aunque todos los tratamientos tuvieron un cambio de apariencia, pero los tratados con estas cubiertas tuvieron menores cambios en su parte interna como en su parte externa comparados con los frutos control SI e inoculados. Los resultados obtenidos son debidos a que el retraso en el cambio de color observado en los frutos tratados con una cubierta, pueden deberse a la atmósfera modificada interna creada en el fruto, con altos niveles de CO₂ y bajos de O₂ que retrasaron los procesos de maduración. (González-Aguilar *et al.*, 2005). También el uso de cera de candelilla en cubiertas comestibles combinadas ha sido ampliamente evidenciado por Bosquez-Molina *et al* (2003), quienes demostraron que las cubiertas con esta cera y goma de mezquite retardan los cambios en alimentos. Y también Ghaouth *et al.*, en 1991 demostraron que la aplicación de cubiertas con antioxidante “A” retardan los cambios de apariencia en manzanas. Y Cheah, LH *et al.* (1997) reportan que el recubrimiento de quitosan a 2 o 4 % en la putrefacción de zanahorias (*Daucus Carota* L.) mantenido a 22 °C después de 5 días redujo significativamente. Pero aun con

el uso de diferentes aditivos a la cubierta la velocidad del deterioro microbiológico en alimentos no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la composición química del producto y del tipo de carga inicial según lo reportado por Gould en (1996).

Figura 16. Apariencia externa con cubierta



Figura 17. Apariencia interna con A-0.01 %

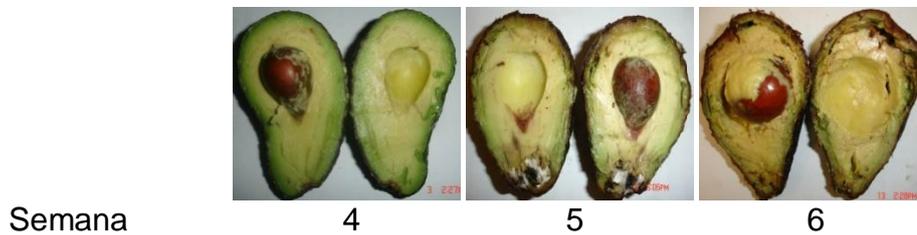
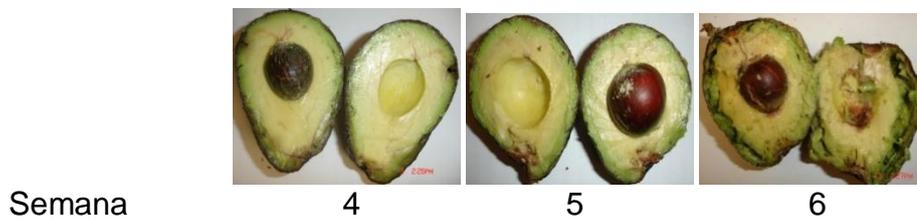


Figura 18. Apariencia interna con B-2 %



7.4. Sección experimental IV. Eficiencia de las cubiertas comestibles sobre aguacate Hass entero inoculado con *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides* mediante el Conteo de hongos y levaduras en la pulpa de aguacate

7.4.1. Cuenta de hongos en placa agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante 5 días a 22 °C

Para conocer el efecto protector de la cubierta hacia el interior del fruto se realizó un ensayo de conteo de hongos y en la figura 10 se muestran los resultados obtenidos del conteo de hongos con los tratamientos con antioxidante "A", de la cual podemos observar que el tratamiento A-0.015 % es el que tiene mejor efecto protector de los frutos ya que mantiene bajas las cuentas de la pulpa en el lapso de toda la cinética aun con la excesiva cantidad de esporas inoculadas, en cambio se observa que las otras 2 concentraciones de antioxidante no protegen bien al fruto ya que el los hongos logran penetrar a la pulpa al igual que el tratamiento SC. También se observa que los tratamientos control sin inocular como era de esperarse no presentan presencia de hongos en la pulpa. Pero el tratamiento CC resulta ser mejor protector contra los hongos ya que presenta las cuentas mas bajas aun en comparación con el tratamiento al A-0.015 %. Estos resultados se asemejan a lo reportado por Capistrano-Moreira R *et al.* (2005) ya que ellos encontraron que recubrimientos comestibles de gelatina y concentrado proteico retardan el crecimiento de hongos a 12 °C en comparación con los controles sin recubrimiento en Tangor "Murcott". Y las diferencias entre los tratamientos control y los tratados según lo reportado por Farag *et al.* (1989) es debido al aditivo presente en las cubiertas ya que ellos reportan que los alcoholes alifáticos y los fenoles exhiben acción inhibitoria para el crecimiento de hongos, el crecimiento de microorganismos es debido a la perdida de humedad, salida de iones y otros componentes celulares los cuales proveen un medio para el crecimiento de microorganismos según Brackett (1987).

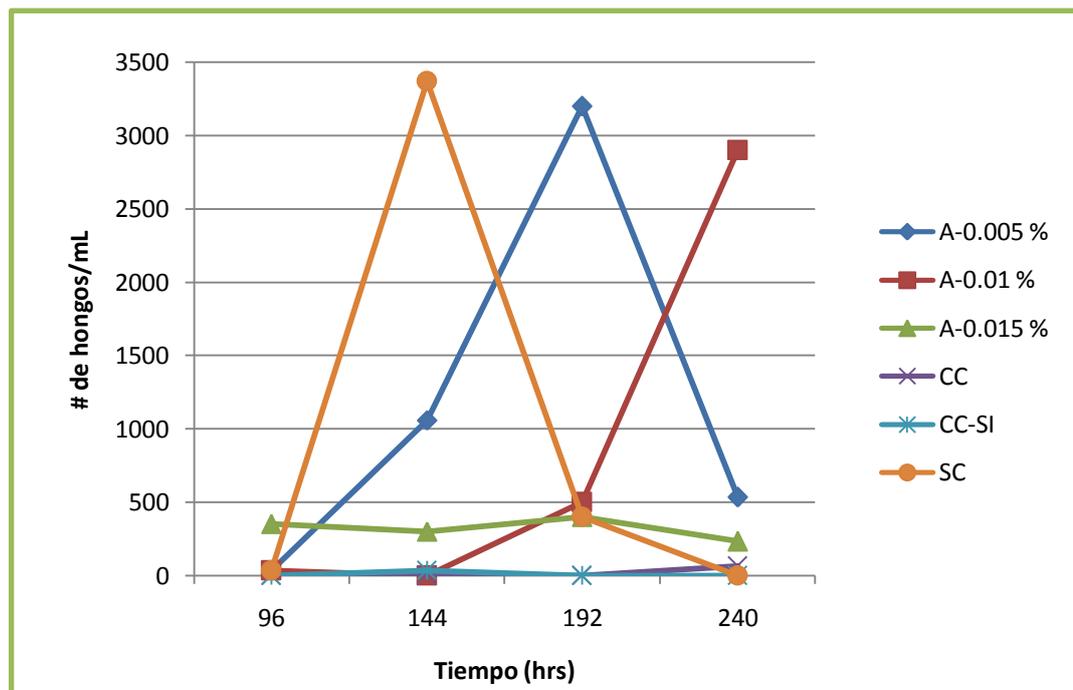


Figura 19. Contaminación de la pulpa de los aguacates tratados con cubierta con antioxidante "A"

Para los tratamientos con antioxidante "B" (Figura 11) como en los ensayos anteriores, el mejor tratamiento fue la concentración mas baja (2%) y también se observa que mientras se mas alta sea la concentración del antioxidante en la cubierta, menor es el efecto protector y de igual forma como se esperaba, los tratamientos sin carga de esporas se mantienen las cuentas muy bajas, pero el tratamiento CC resulta ser mejor protector contra los hongos ya que presenta las cuentas mas bajas aun en comparación con el tratamiento al 2 %. Las diferencias entre los dos diferentes tratamientos (antioxidante A y B) se deben a que la actividad antimicrobiana de los compuestos depende de la especia o hierba, del tipo de antimicrobiano presente y del alimento en cuestión según lo reportado por Giese en el (1994). También Tawil-Bouchez, ME. (2003) reporta resultados semejantes ya que probaron que una película de quitosano combinado con ácido cítrico inhibe el crecimiento de hongos en Zanahorias.

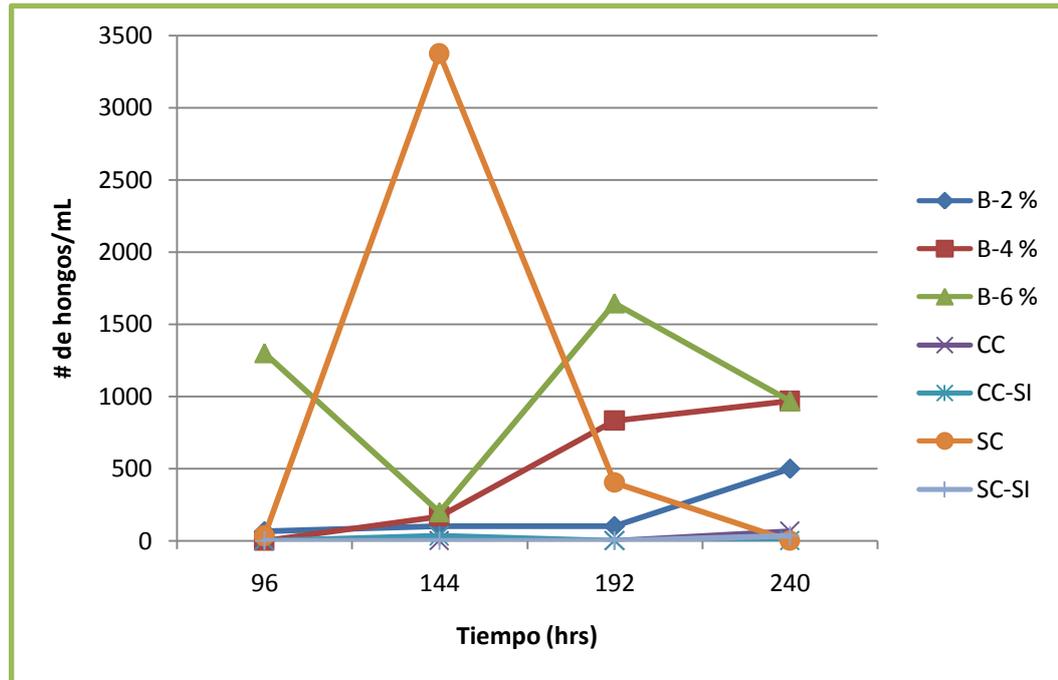


Figura 20. Contaminación de la pulpa de los aguacates tratados con cubierta con antioxidante "B"

7.4.2. Cuenta de levaduras en placas de agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante 48 horas a 35 °C

De igual forma, para conocer el efecto protector de la cubierta hacia el interior del fruto se realizó un ensayo de conteo de levaduras (figura 12), esta grafica podemos observar que los mejores tratamientos son A-0.015 %, A-0.01 % y CC ya que ambos presentan un conteo de levaduras muy bajo, la ausencia de cubierta (SC) permite el desarrollo óptimo para las levaduras y los tratamientos sin carga de esporas lógicamente no presentan crecimiento de levaduras. Estos resultados se asemejan a lo reportado por Capistrano-Moreira R *et al.* (2005) ya que ellos encontraron que recubrimientos comestibles de gelatina y concentrado proteico retardan el crecimiento de levaduras a 12 °C en comparación con los controles sin recubrimiento en Tangor "Murcott", y Ribeiro C *et al.* (2007) reporta que la adición de 1 % de cloruro de calcio di hidratado a los recubrimientos de quitosan y carragenina hizo más pequeña la tasa de crecimiento microbiano en fresas. El crecimiento de microorganismos es debido a la perdida de humedad, salida de iones y otros componentes celulares los cuales proveen un medio para el crecimiento de microorganismos según Brackett (1987).

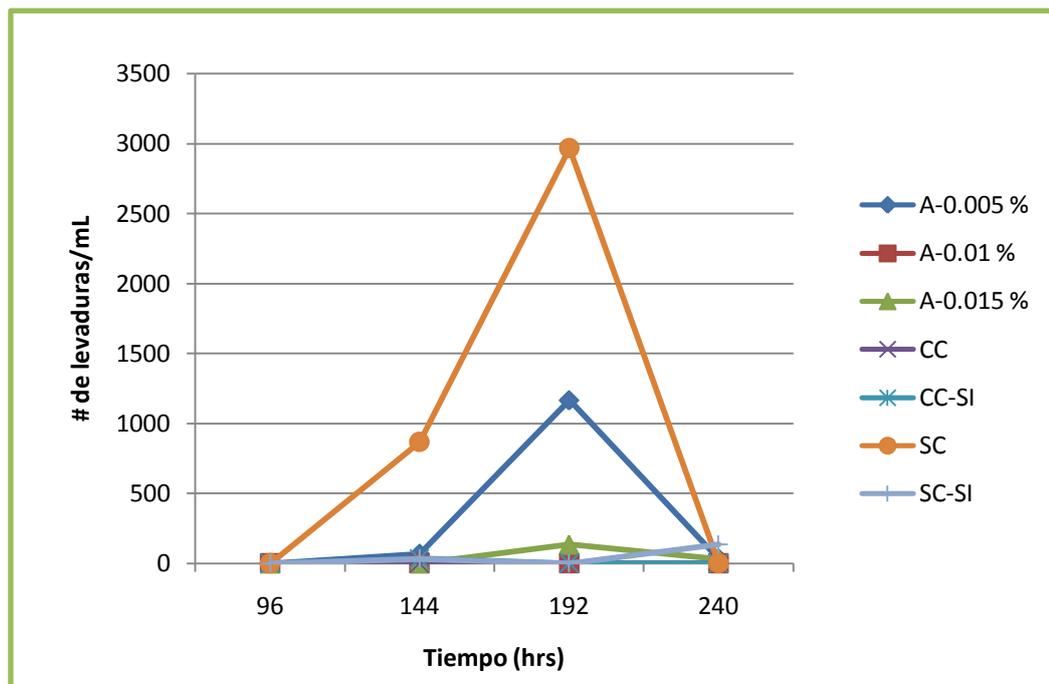


Figura 21. Contaminación de la pulpa de los aguacates tratados con cubierta con antioxidante "A"

Para los tratamientos con antioxidante "B" (figura 13), los mejores tratamientos son B-2 % y CC porque presentan un crecimiento mínimo de levaduras en la pulpa, el tratamiento sin cubierta (SC) presenta un desarrollo de levaduras mucho mayor en comparación con todos los tratamientos y finalmente, en los controles sin carga de esporas no hay presencia de levaduras. Las diferencias entre los dos diferentes tratamientos (antioxidante A y B) se debe a que la actividad antimicrobiana de los compuestos depende de la especie o hierba, del tipo de antimicrobiano presente y del alimento en cuestión según lo reportado por Giese en el (1994). La aplicación de los recubrimientos comestibles también retardó el deterioro microbiológico de manzanas del corte fresco según Rojas-Graü M.A. en (2006) esto debido a que las cubiertas crean una atmósfera modificada que puede cambiar la tasa de crecimiento de microorganismos, controlando el crecimiento de microorganismos inoocuos propios de la fruta, así como evitar el crecimiento de patógenos según lo reportado por Olivas y Barbosa-Cánovas, (2005).

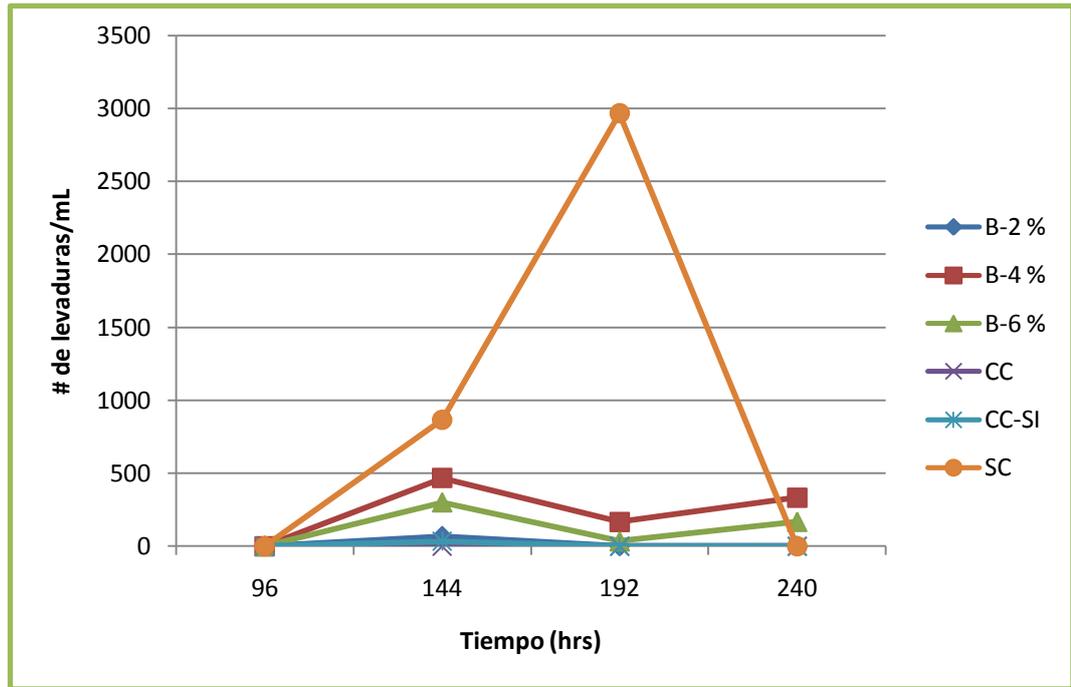


Figura 22. Contaminación de la pulpa de los aguacates tratados con cubierta con antioxidante "B"

8. Conclusiones

Es factible extraer cera de candelilla directamente de la planta por el método tradicional para la elaboración de cubiertas comestibles a base de cera de candelilla y activos antioxidantes y aplicación de cubiertas comestibles en ensayos *in situ* pero no *in vitro*.

Es posible elaborar cubiertas a base de cera de candelilla y activos antioxidantes, evaluando en ensayos *in vitro* e *in situ* su funcionalidad proviendo un efecto antifúngico, prolongando la vida de anaquel e incrementando la calidad física y química del fruto.

La evaluación de la actividad antifúngica de cubiertas comestibles *in vitro* requiere de otras nuevas condiciones de trabajo ya que en el presente estudio no se logro evitar la dispersión de las esporas sobre la cubierta aumentando la actividad de agua del medio dando condiciones favorables para el crecimiento fúngico. Además, fue necesario esterilizar la cubierta que se usa para ensayos *in vitro* para posteriores ensayos debido a que se demostró que la cubierta sin esterilizar no representa una barrera libre de microorganismos que pueden provocar una contaminación.

Si existen diferencias entre el ensayo en caja petri y el ensayo en tubos debido a que el tratamiento B-2 % en tubos presenta diferencias significativas de inhibición de *Fusarium oxysporum* en comparación con los otros tratamientos en tubos y en cajas petri.

Con uso de concentraciones altas de antioxidante "A", se obtienen los mejores resultados, pero con el uso de concentraciones bajas del antioxidante "B" se obtienen los mejores resultados. A pesar de la carga tan alta de *Colletotrichum gloeosporioides*, los mejores resultados se obtienen con los tratamientos A-0.015 % y B-2 %.

A pesar de la carga tan alta de *Fusarium oxysporum*, los mejores resultados se obtienen con los tratamientos A-0.01 % y B-2 %.

La velocidad de la pérdida de agua de los aguacates es directamente proporcional al aumento de la concentración del antioxidante “B” y inversamente proporcional al aumento de la concentración del antioxidante “A”.

En cuanto a contaminación de la pulpa por hongos y levaduras los mejores tratamientos resultan ser A-0.015 % y B-2 % porque mantienen las cuentas internas muy bajas en comparación con los controles sin cubierta, de todas las cubiertas la mejor es CC ya que mantiene las cuentas casi iguales que el tratamiento control CC-SI.

El uso de cubiertas en aguacate entero es una buena alternativa de conservación ya que a pesar de las condiciones extremas de contaminación fúngica con las que se trabajó los resultados son muy alentadores.

9. Perspectivas

Evaluar ensayos de actividad antifúngica en medios de cultivo líquido para conocer la CMI de los antioxidantes y así poder trabajar *in vitro*.

Probar la actividad antifúngica de las cubiertas con todos los hongos fitopatógenos del aguacate.

Es necesario hacer pruebas de determinación de conteo de hongos y levaduras a frutos de aguacate de diferentes puntos de venta para conocer la carga microbiana que traen y trabajar bajo esas condiciones.

Elaborar una cubierta usando los antioxidantes “A” y “B” en sinergia en la misma cubierta para probar su efecto antifúngico.

10. Bibliografía

- APROAM. 2008. Asociación agrícola local de productores de aguacate, Tecnología-Produce Aguacate en Michoacan INIFAP-URUAPAN, <http://www.aproam.com/CULTIVO/produccion.htm> 17/03/2007 14:45:02
- Ayala A. A. 1998. El Aguacatero. Año 1. Número 4. Asociación Agrícola Local de Productores de Aguacate de Uruapan, Michoacán. Obtenido de Californian Avocado Commission.
- Bai J., Hagenmaier R.D., Baldwin E.A. Coating selection for "Delicious' and other apples. 2003. *Postharvest Biology and Technology* 28 381_/390
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. y Baker, R.A. 1995a. Edible coatings for lightly precesed fruits and vegetables. *HortSci.* 30: 35- 37.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. y Baker, R.A. 1995b. Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 35: 509- 524.
- Baldwin EA, Nisperos-Carriedo MO, Hagenmaier RD, Baker RA. 1997. Using Lipids in Coatings for Food Products. *Food Technology*, 51:56-61, 64.
- Banco de Normas en Alimentos, 2008. / Mexicanas/ Frutas y Hortalizas – Sistema Digital de Consulta de Normas, http://www.colpos.mx/bancodenormas/index.php?option=com_bookmarks&task=order&Itemid=40&mode=0&catid=18&orderbycol=description&orderbyupdown=desc&search=e NMX-F-255-1978. Método de Conteo de Hongos y Levaduras en Alimentos. Method of Test for Count of Fungi and Yeast in Food. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-255-1978.PDF>

- Barranco, C.F.J. 2003. Extracción y evaluación de compuestos con capacidad inhibitoria del proceso de oscurecimiento enzimático de aguacate Hass (*Persea americana*, Var. *Mill*) obtenidos a partir de la semilla del mismo. Tesis Profesional. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
- Bertuzzi MA, Armada M, Gottifredi JC, Aparicio AR, Jimenez P. 2002. Estudio de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos. Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología, Buenos Aires, Argentina 220 p.
- Best D. 1997. All natural and nutraceutical. Prepared Foods 166:32-38.
- Beuchat, L.R y Golden, D.A. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. Foods Technology.
- Beuchat LR. 2001. Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials. En: Microbial Food Contamination. Wilson CL, S Droby. (Ed.). CRS Press. London, UK. Chap. 11: 149-169.
- Bósquez-Molina y Carter Vernon E.J. 1995. Efecto de Plastificantes y Calcio en la Permeabilidad al Vapor de Agua de Películas a Base de Goma de Mezquite y Cera de Candelilla. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 2005/vol. 4, numero 002, pp. 157-162
- Bósquez-Molina E, Vernon-Carter JE. 2003a. Efecto de plastificantes y calcio en la permeabilidad al vapor de agua de películas a base de goma de mezquite y cera de candelilla. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 4:157-162.
- Bosquez-Molina E, Guerrero-Legarreta I, Vernon-Carter JE. 2003b. Moisture barrier properties and morphology of mesquite gum-candelilla wax based edible emulsion coatings. Food Research International, 9:885-893.
- Bosquez-Molina, E. 2005. Desarrollo de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para la conservación de frutas, Food Res. Int. 9, 885–893.

Bosquez-Molina E. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Biotecnología, San Rafael Atlixco # 186, Col. La Vicentina, 09340, México D.F., Tel. 58044711. Fax: 5804 4712. e-mail. elbm@xanum.uam.mx.

Brackett, R. 1987. Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. of Food Quality* . 10: 195.

Capistrano-Moreira R., Pedro-Jacomino A., Carranco-Alleoni AC., De Arruda MC., Rosa-Gallo C. Recobrimentos Comestíveis Paratangor 'Murcott' Minimamente Processado: Aspectos Microbiológicos. Proyecto XI.22 Desarrollo de tecnologías para la conservación de vegetales frescos cortados. USP/ESALQ, Depto de Agroindústria, Alimentos e Nutrição.

Cerqueira, M.A., Lima, A.M.P., Vicente, A.A., Teixeira, J.A. and Moreira, R.A. Novel Functional Polysaccharides as Edible Coatings for Cheese. VI International Symposium on Food and Agricultural Products: Processing and Innovations. Naples, Italy 24-26 September 2007.

Cheah, L.H., Page, B.B.C., Shepherd, R. Chitosan coating for inhibition of sclerotinia rot of carrots. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 1997, Vol. 25: 89-92.

Copyright infoagro.com. 2002. Todos los derechos reservados. El Cultivo de Aguacate. http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tropicales/aguacate.htm 01/05/2007 21:49:59.

Cuq B, Gontard N, Guilbert S. 1995. Edible films and coatings as active layers. En Rooney, M.L. (Ed.): *Active Food Packaging*. London: Blackie Academic & Professional, 111-135.

Crank J. 1975. *The mathematics of diffusion*. Clarendon Press, Oxford, England.

Davidson PM. 2001. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. En: *Food Microbiology: Fundamentals and frontiers*, 2nd Ed. Doyle MP, LR Beuchat, TJ Montville (Eds.). ASM Press, Washington, D.C., USA. Chap. 29: 593-627.

- Davison, PM. 1996. Chemical preservatives and antimicrobial compounds. En: Doley MP; Beuchat LR, Montville TJ; eds. Food Microbiology and Frontiers. Washington DC: ASM Press; 1997: 520-566.
- Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley A. 1998. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a critical review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 38(4): 299-313.
- EURORESIDENTES, 2008. Alimentos propiedades, aguacate, <http://www.euroresidentes.com/Alimentos/aguacate.htm>, 17/03/2007 14:40:36
- Fernández M. 2000. Review: active packaging of foods. Food Science and Technology International, 6:97-108. Kester J, Fenema O (1986) Edible films and coatings: A review. Food Technology, 40:47-59.
- FAOSTAT - FAO / ONU. 2004. Dirección de estadística, Estadísticas sobre seguridad alimentaria, organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación, http://www.fao.org/es/ess/faostat/foodsecurity/index_es.htm
- FAOSTAT - FAO / ONU. 2006. Deposito de documentos de la FAO, ADRS, Agricultura y desarrollo rural sostenibles, <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0773s/a0773s11.pdf>
- Farag, R.S., Z. Y. Dw and S.H. Abo-rya. 1989. Influence of Some Spice Essential Oils on *Aspergillus parasiticus* Growth and Production of Aflatoxins in a synthetic medium. J. Food Sci. 54: 74.
- FDA. 1993. Antioxidant vitamins and cancer and cardiovascular disease. FDA Initiated Public Conference, 1993. National Academy of Sciences, Washington, D. C., November 1-3.
- Fersini, A. 1975. *El Cultivo del Aguacate* (Avocado production); Editorial Diana: México.
- FIRA. 1997. Situación y Perspectivas Económicas de la Producción de Aguacate en México; Banco de México, S. A; División de Planeación; Pág. 62 – 68.

- Fundation for innovation in medicine., 199.
<http://nutraceuticaactual.blogspot.com/2007/07/nutraceutico.html>
- Ghaouth EL, Arul J, Ponnampalam R. 1991. Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 15:359-368.
- Gennadios A, Weller CL, Gooding CH. 1994. Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal Food Engineering*, 21:395-409.
- George P. Rueble. 1974. La industria del aguacate, Universidad de Florida, Estaciones de Experimentación Agrícola, J. R. Beckenbach, Director; Gainesville, Florida; Boletín 602; Ed. Español; Pág. 64 y 65.
- Giese, J. 1994. Antimicrobials: Assuring Food Safety. *Food Technology*. 48(6): 102-110.
- Gil MI., Tuleda JA., Espín JC. 2005. Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados. Capítulo 8. Pp 155-176.
- Goodman, A., Goodman, H., Lewis, H., Palmas, A. 1996. Álgebra y Trigonometría con Geometría Analítica. Pearson Education. Pág. 109.
- Gonzales-Aguilar G.A., Monroy-Garcinia IN, Goycoolea-Valencia F, Diaz-Cinco ME, Ayala-Zavala JF. 2005. Cubiertas comestibles de quitosano. Una alternativa para prevenir el deterioro microbiano y conservar la calidad de papaya fresca cortada. Proceedings of the Symposium "Nuevas tecnologías de conservación y envasado de frutas y hortalizas. Vegetales frescos cortados" La Habana, Cuba. 121-133.
- Gould, G.W. 1996. Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *Journal of Food Protection*. Supplement. 82-82.
- Guilbert, S. y Biquet, B. 1986. Technology and application of edible protective films. En "Food packaging and preservation". Editado por Mathlouthi, M. Ed. Elsevier. Londres.

- Hasler CM, Huston RL, Caudill EM. 1998a. *In: Two Decades of Nutrition Labeling*. DeKror M (ed.) Nutrition International Inc., Dayton, NJ.
- Hasler CM. 1998b. Functional foods: Their role in disease prevention and health promotion. *Scientific Status Summary*. *Food Technology*, 52:63-70.
- Hertog MG. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly study. *Lancet*, 342:1007-1011.
- Instituto de la candelilla., 2008. <http://www.candelilla.org/es/aplicaciones.htm>
- Jasso, D., Angulo-Sánchez, J.L., Teixeira, J.A. and Aguilar, C.N. 2006. Review of Aloe species' medicine properties and bioactive compounds. In *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology* (J. Teixeira da Silva, ed.) Global Science Book Ltd., London, England.
- Johansson F, Leufven AJ. 1994. *Food Sci*, 59: 1382-1331.
- Kester JJ, OR Fennema. 1986. Edible films and coatings: a review. *Food thechnol*. 12: 47-59.
- Koelsch C. 1994. Edible water vapor barriers: properties and promise. *Trends in Food Science and Technology*, 5:76-81.
- Labuza TP, Contrerar-Medellín R. 1981. *Cereal food world*, 26:355-343.
- Martínez B., R. 1997. La producción nacional de aguacate y su importancia en el mercado internacional *In: Memoria del VI Curso de aprobación Fitosanitaria en el manejo del aguacate*. Facultad de Agrobiología Uruapán Michoacán.
- Mauriello G., De Luca E., La Storia A., Villani F. and Ercolini D. 2005. Antimicrobial activity of a nisin-activated plastic film for food packaging. *Letters in Applied Microbiology*, 41, 464–469
- McHugh TH, Avena-Bustillos R, Krochta JM. 1993. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58:899-903.

- Miranda M. 2003. Comportamiento de películas de Quitosán compuesto en un modelo de almacenamiento de aguacate. *Revista de la Sociedad Química de México*, 47, 4, 331-336.
- Morales, O. 1994. El cultivo del aguacate. En: frutas tropicales (memorias de curso). ICA-CORPOICA. pp 90-96.
- Ochoa A. Salvador y Santacruz U., Heladio. 1999. Enfermedades del Aguacatero en el Estado de México. Facultad de Agrobiología Presidente Juárez U.M.S.N.H. Uruapan, Michoacán, México.
- Ortiz A, Mora R, Santiago T, Dorantes L. 2003. Obtención de una pasta de aguacate mediante tratamiento térmico. *Proceedings V World Avocado Congreso*. pp. 761-768.
- Palou, E., Hernandez, C., López, A., Barbosa, G., Swanson, B., Welti, J. 2000. High pressure processed guacamole. *Innovative Food Sci. & Emerging Technol.* 1, 69-75.
- Park HJ, Chinnan MS. 1993. Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials. *Journal of Food Engineering*, 25:497-507.
- Park HJ, Chinnan M S. 1995. Effect of plasticizer level and temperature on water vapor transmission of cellulose-based edible films. *Journal of Food Process and Engineering*, 18:417-429.
- Park HJ, Weller CL, Vergano PJ, Testin RF. 1996. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. *Journal of Food Science*, 58:1361-1364.
- Park, H. J. 1999. Development of Advanced Edible Coatings for Fruits. *Trends Food Sci. Technol.* 10: 254-260.
- Petit-Jiménez D., Bringas-Taddei E., Mercado-Ruiz J., García-Robles J. 2004. Efecto del calcio y cera comestible en la calidad mangos 'kent' durante el almacenamiento. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 21 Supl. 1: 351-358.

- Ribeiro C., Vicente A.A., Teixeira J.A., Miranda C. 2007. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence Postharvest Biology and Technology 44, 63–70
- Rodríguez S., P. 1992. El aguacate. AGT Editores S.A. México D.F. p. 167.
- Rogers CE. 1985. "Polymer permeability", In J. Comyn (Ed) Elsevier, New York, 11-73.
- Rojas-Graü M. A., Avena-Bustillos R. J., Friedman M., Henika P. R., Martín-Belloso O., McHugh T. H. Mechanical, Barrier and Antimicrobial Properties of Apple Puree Edible Films Containing Plant Essential Oils. *Journal Agricultural and Food Chemistry* (2006); 54(24): 9262-9267.
- Sánchez, R., Leonardo 2003. Los Productos Forestales no Maderables de México. Universidad Autónoma de Chapingo (versión preliminar). División de Ciencias Forestales. 58-59.
- Saucedo Pompa, S. 2007. Desarrollo de películas comestibles a partir de cera de candelilla y activos antioxidantes. Tesis Profesional. DIA, FCQ, UAdeC. Saltillo, Coahuila, Mexico.
- Smith, J.; Goldweber, S.; Lamberts, M; Tyson, R.; Reynolds, J. S. 1992. Utilization potential for semi-tropical and tropical fruits and vegetables in therapeutic and family diets. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.*, 96, 241-244.
- Soliva-Fortuny RC, O Martín-Belloso. 2001. Evaluation of zein films as modified atmosphere packaging for fresh broccoli. *J. Food Sci.* 66(8): 1108-1111.
- So FV, Guthrie, N : Chambers, A F : Moussa, M : Carroll, K K. 1996. Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices. *Nutr. Cancer* 26:167-181.
- Tawil Bouchez, ME. 2003. Efecto de cubiertas de quitosano con características hidrofóbicas en la vida de anaquel de zanahorias mínimamente procesadas. Tesis Profesional, Universidad de las Américas. Puebla.

- Teliz, D. 2000. El aguacate y manejo integrado. Ediciones Mundi – Prensa. Primera edición. Cuadro 1.3 pp.7
- Tharanathan RN. 2003. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends Food Sci. Thechnol.* 14: 71-78
- Vasconcellos JA. 1994. Alimentos Funcionales. Conceptos y Beneficios Para la Salud. Departamento de Ciencias de Alimentos y Nutrición, Universidad Chapman, Orange, California, U.S.A.
- Ventura-Sobrevilla J, Belmares-Cerda R, Aguilera-Carbo A, Contreras-Esquivel JC, Rodríguez-Herrera R, Aguilar CN. 2007. Fungal biodegradation of tannins from creosote bush (genitalicas *Larrea tridentata* Cov.) and tar bush (*Fluorecencia cernua*) for gallic and ellagic acids production. *Food Technologu and Biotechnology* (en imprenta).
- Vernon EJ, Pez LJ, Garc HS. 1999. Uso de recubrimientos biopolimericos como coadyuvantes en el tratamiento fitosanitario de mango (*Mangifera indica*. Variedad Manila). *Revista Dintel.* (México). 7, A 5. pp: 42-48.
- Zaika, L. L. 1998. “Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination”. *J. Food Safety* (9): 97 – 118.

11. Apéndice

PARTICIPACIONES EN CONGRESOS

Saúl Saucedo-Pompa, Diana Jasso-Cantú, **Romeo Rojas Molina**, Aidé Sáenz-Galindo and, Cristóbal N. Aguilar. 2008, ALI-46 Comportamiento de una cubierta nutraceutica de cera de candelilla en la calidad de vida de anaquel de aguacate en el XXIX Encuentro Nacional de la AMIDIQ, Celebrado en Puerto Vallarta, Jal. México.

Saúl Saucedo-Pompa, Diana Jasso-Cantú, **Romeo Rojas Molina**, Aidé Sáenz-Galindo and, Cristóbal N. Aguilar. 2008, PB-25 Cubierta Nutraceutica Comestible que Alarga la Vida de Anaquel de Manzanas y las Convierte en Alimentos Funcionales en la 5ª Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales, Celebrado en Guadalajara, Jal. México.

Saúl Saucedo-Pompa, Diana Jasso-Cantú, **Romeo Rojas Molina**, Aidé Sáenz-Galindo and, Cristóbal N. Aguilar. 2008, PB-26 Beneficios de una Cubierta Nutraceutica de Ceras Naturales en la Calidad de Vida de Anaquel de Aguacate en la 5ª Reunión Nacional de Investigación en Productos Naturales, Celebrado en Guadalajara, Jal. México.

PUBLICACIONES

Saúl Saucedo-Pompa, Diana Jasso-Cantú, **Romeo Rojas-Molina**, Aidé Sáenz-Galindo & Cristóbal N. Aguilar 2008, Comportamiento de una cubierta nutraceutica de cera de candelilla en la calidad de vida de anaquel de aguacate, La ingeniería química en México, Vol.7 p.236

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Análisis de varianza para pérdida de aguacates inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides*

Response Peso
Whole Model
Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	53	11777,699	222,221	80,9101
Error	140	384,512	2,747	Prob > F
C. Total	193	12162,211		<.0001

Análisis de varianza para pérdida de aguacates inoculados con *Fusarium oxysporum*

Response Peso
Whole Model
Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	69	11937,755	173,011	49,8058
Error	180	625,268	3,474	Prob > F
C. Total	249	12563,024		<.0001