



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO



**DISEÑO DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE PARA
ALARGAR LA VIDA ÚTIL EN ANAQUEL DE
GUACAMOLE**

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA
P. Q. F. B MONSERRAT MORA SÁNCHEZ

DIRECTOR DE TESIS
DR. CARLOS ENRIQUE OCHOA VELASCO

CO-DIRECTOR DE TESIS
DR. IRVING ISRAEL RUIZ-LÓPEZ

H. PUEBLA DE Z. JUNIO 2023



OFICIO C.Q./CT 011P/2023

C. Monserrat Mora Sánchez
PRESENTE

Toda vez que se cuenta con la aprobación de la Coordinadora de la Licenciatura en Q.F.B., le comunico que su anteproyecto de Tesis denominado:

“DISEÑO DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE PARA ALARGAR LA VIDA ÚTIL EN ANAQUEL DE GUACAMOLE”

ha sido autorizado, siendo:

Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco, Director de Tesis

Dr. Irving Israel Ruiz-López, Codirector de Tesis

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad, para los fines legales que tenga lugar.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., 8 de marzo de 2023

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena digital: 7Ws-lw+Zs.Lj!Nf'Em,Qu(Vt\$Vq,Qg+Bq,Pm/Uv-Ox(Ss&Sg!Qq!Yx*Tm(Xe)Mg\$Gu-

Wa/Di,Od&Pa#Dr%Wm&Ci'Pi#Zu#Jf\$Tm)Oq"Sq*Pq.Lg-

Go'Pz/Gd.Zz,Xm&Gt&Xh*Uo+Ep*Ub(Fr\$Zn,Vo,Vu*Ao'Vj*Hd&Hr/Sf)Uh)Rh+Qx\$Sq.Yx" Tm+Aq.Xn'By.Iu%Xb'Td(Jx'Zg/RI!Xo&Sm

(Bu*Lc.Ee)Wh.Wx/Id*Fh#Ws%Kd&Nx!Fq)Fp*M'iNw/Mw-Gt" Ci\$Cd.Wz/

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390



OFICIO C.Q./CT 0015CR/2023

Dra. Addi Rhode Navarro Cruz
Dra. Paola Hernández Carranza
Dra. Carolina Ramírez López

Con toda atención comunico a Ustedes que se les propone como integrantes de la Comisión Revisora del trabajo de Tesis que presenta la pasante de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Montserrat Mora Sánchez

cuyo título es:

“DISEÑO DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE PARA ALARGAR LA VIDA ÚTIL EN ANAQUEL DE GUACAMOLE”

Asimismo, les solicitamos que a la brevedad posible emitan el dictamen correspondiente.

Atentamente
“Pensar bien, para vivir mejor”
H. Puebla de Z., 17 de marzo de 2023

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena Digital: 7Bx&Fx-Wd-

Pi&Wy+Ab+Hv'Fg&Bm!Ti.Ba!Pj/Rp)Qj*Ic!Ho%Wz!Py''Bo/Ta*Gj,Su''Tt\$Yw,Tg\$ib'Fh#Es+Mc*Lf&Qz,Pv%la\$Wf*Bi&Ic'Jl-Hn-Ge+Ce+Vc!Pa/Kg{Jh!Kx/As#Le&Lf/Js(Ar/Zu#Ob)Nf(Br\$Wf+Le/Bt!Hq!Jo,Lh-Hp.Kl'Sr,Um&Op.Hr#Fn%lv\$Te+Cl\$Wp&Rh'Sw''Bj!Td/Rd'Jp(Un.Lf\$Ml)Zq''Yq%Vm'Hc,Al''Jd&Fi%Fz)Tv&Cs\$Su(Bm%

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390



OFICIO C.Q./CT026A/2023

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis de la alumna de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Montserrat Mora Sánchez

comunican a Usted la autorización para la publicación del trabajo de tesis bajo la dirección del Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco y del Dr. Irving Israel Ruiz-López, con el siguiente título:

“DISEÑO DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE PARA ALARGAR LA VIDA ÚTIL EN ANAQUEL DE GUACAMOLE”

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 26 de mayo de 2023.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., a 26 de mayo de 2023

Dra. Addí Rhode Navarro Cruz, **Presidente**

Dra. Paola Hernández Carranza, **Secretario**

Dra. Carolina Ramírez López, **Vocal**

c.c.p. Archivo

Cadena digital: 6Bq-Gj%Qf'Ib&Dd(Tr/Zb.Nx\$Ki''Yt''Th\$Rn'Pp(Zh%Rz%Aa,Ha&Bn#Ah&Lh&Xz)Ey)Ce+Zh(Pg'Xa,Py*Xt,Dx!Nz-Lp,Ox\$Me+Kt&lz&Te,Ux,Mt-Xx,Nd.Fc\$Js-Qw-Fj&lw'Ey''Vp+Ub(Ap)Tw!Fk+Mb-Cm.Nv%Dz(Sq+Yl'Cg)Lb%Fh/Oa*Jz(Rm&Wi!Pn''Ba''Ny''Mu''Dd)Di/Ro-Lb*Kn-Ol\$Mf''Hj+Ma!Jc#Xp/Wn(Fp'Gb''Bu%VI.Rx(Om*On''Uz,Cn'Tt%Cc\$Lk*

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390

AGRADECIMIENTOS

Mi mayor agradecimiento al Dr. Ochoa por permitirme trabajar con él y abrirme las puertas del laboratorio, nada de esto hubiera sido posible sin todo su apoyo, su paciencia, consejos y conocimiento. Gracias también por brindarme su amistad y hacer de mi estancia en el laboratorio lo mejor que me pudo haber pasado en la carrera. Siempre estaré en deuda con usted.

A la Dra. Paola por todo su apoyo en el laboratorio, sus explicaciones, consejos, regaños y la paciencia. Gracias por siempre estar al pendiente de mi trabajo y brindarme ayuda cuando lo necesitaba. Gracias por ser también una amiga y una confidente.

A mi mamá: por siempre estar al pendiente de mí cuando las jornadas en el laboratorio eran largas y por ser mi motor para siempre salir adelante. A pesar de todo lo que pasamos, logramos sacar estos 5 años de estudio, eres mi ejemplo de mujer guerrera, este trabajo es de las dos. Te amo.

A mi papá: daría lo que fuera porque hubieras estado aquí en esta última etapa de mi carrera, no imagino la emoción que hubieras sentido al ver esta tesis concluida, pero la vida tuvo otros planes. Gracias por inculcarme el amor a la ciencia y la química, soy lo que soy gracias a ti y salí adelante porque tú así te lo propusiste. Desde el cielo tienes el lugar de honor para verme presentar este proyecto. Te amo por siempre.

A mi familia: mi hermana, hermano y mis sobrinos. Quiero que me vean como un ejemplo de que a pesar de todos los obstáculos que la vida nos pone, nunca debemos de darnos por vencidos, al contrario, eso debe de ser una motivación para sacar todas las fuerzas del interior y cumplir todos nuestros objetivos. Gracias por su apoyo y por siempre confiar en mí. Este logro es nuestro.

Agradezco a mis sinodales por el tiempo brindado a la revisión de este trabajo, por sus observaciones y por el trabajo en equipo.

A mis amigos de laboratorio: Xiadani, Sandy, Toñito, Bri, Lupita gracias por todos los momentos vividos en el laboratorio, por las pláticas y por hacer que las horas en el laboratorio fuera más llevaderas. Los quiero mucho.

Finalmente, mis últimas palabras al amor de mi vida y mi motor, Víctor: gracias por apoyarme durante todo este camino, por toda tu paciencia, tu amor, por siempre estar a mi lado, por quedarte conmigo siempre y apoyarme cuando lo necesitaba. Gracias por todas las risas que nos hacían más llevadera las horas de trabajo. Gracias por explicarme cuando no entendía algo o por escucharme cuando estaba a punto de explotar, pero sobre todo por jamás dejarme rendirme. Siempre me dijiste que era capaz de hacer y lograr todo lo que me propusiera y este trabajo es prueba de ello. Te amo con todo mi corazón.

ÍNDICE

RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO	2
2.1 Aguacate	2
2.1.1 Generalidades	2
2.1.2 Taxonomía del aguacate.....	3
2.1.3 Morfología del aguacate.....	3
2.1.4 Valor nutrimental del aguacate	4
2.1.5 Efectos del aguacate en la salud.....	5
2.1.6 Guacamole.....	6
2.2 Oscurecimiento enzimático.....	7
2.2.1 Características del oscurecimiento enzimático	7
2.2.2 Prevención del oscurecimiento enzimático	8
2.2.3 Tecnologías no térmicas, térmicas y métodos combinados para la prevención del oscurecimiento enzimático	9
2.2.4 Métodos químicos usados para la inhibición del oscurecimiento enzimático	11
2.3 Recubrimientos comestibles.....	12
2.3.1 Uso de ácido cítrico como antioxidante en películas comestibles	13
2.3.2 Quitosano como biopolímero usado en películas comestibles.....	14
2.3.3 Uso de glicerina en películas comestibles.....	15
2.4 Antioxidantes	15
2.4.1 Generalidades de los antioxidantes	15
2.4.2 Uso de los antioxidantes en la industria alimentaria.....	15
2.4.3 Ácido cítrico, cebolla y limón como agentes anti oscurecimiento en el guacamole.....	16
3. JUSTIFICACIÓN.....	18
4. OBJETIVOS.....	19
4.1 Objetivo general.....	19
4.2 Objetivos específicos	19
5. DIAGRAMA DE TRABAJO.....	29
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
7. METODOLOGÍA.....	23

7.1 Preparación de extracto de limón-cebolla.....	24
7.2 Preparación de la películas comestibles (F1, F2, F3, F4 y control).....	24
7.3 Obtención de guacamole.....	24
7.3.1 Medición de color, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante a guacamole al tiempo 0 h.....	25
7.4 Aplicación de películas comestibles (F1, F2, F3, F4 y control) a guacamole	26
7.4.1 Medición de color, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante	26
7.4.2 Análisis microbiológico	26
7.5 Selección de película comestible F1 para almacenamiento y pruebas de caracterización	26
7.5.1 Espesor de película comestible F1 y control.....	27
7.5.2 Permeabilidad al vapor de agua a película comestible F1 y control	27
7.5.3 Resistencia a la tracción y rotura de película comestible F1 y control	27
7.5.4 Humedad a película comestible F1 y control.....	28
7.5.5 Medición de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante a película comestible F1 y control.....	28
7.5.6 Análisis microbiológico a película comestible F1 y control.....	28
7.5.7 Pruebas de caracterización a película F1 28 d después del almacenamiento a 4° y 20°C.....	29
7.6 Aplicación de película comestible F1 almacenada a 4° y 20°C a guacamole.....	29
7.6.1 Evaluación de color, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y análisis microbiológico a guacamole con película comestible F1 almacenado por 24 h a 4°C. 29	
7.7 Evaluación sensorial a película F1.....	29
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
8.1 Medición de color, fenoles y antioxidantes a guacamole con películas comestibles (F1, F2, F3, F4 y control) al tiempo 0 y 48 h a 4° y 20°C	30
8.2 Caracterización de película comestible F1 seleccionada	40
9. CONCLUSIONES.....	47
10. RECOMENDACIONES	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características taxonómicas del aguacate (<i>Persea americana</i> Mill).....	3
Tabla 2. Métodos físicos para prevenir el oscurecimiento enzimático.....	11
Tabla 3. Métodos y referencias utilizados en la investigación	21
Tabla 4. Equipos utilizados en la investigación	22
Tabla 5. Formulaciones de películas	24
Tabla 6. Cambio de color de guacamole recubierto con las 4 películas comestibles seleccionadas a las 0 y 48 h a 4° y 20°C	33
Tabla 7. Crecimiento de Mohos más Levaduras y BMA en aguacate recubierto con las 4 películas comestibles formuladas, así como la película control y el control sin ninguna protección al tiempo 0 y 48 h a 4° y 20°C	39
Tabla 8. Caracterización y evaluación de la estabilidad de la película comestible F1	42
Tabla 9. Aplicación en guacamole de la película comestible F1, almacenada durante 28 d a 4° y 20°C	44
Tabla 10. Evaluación sensorial de guacamole con aplicación de película comestible F1 almacenada durante 28 d a 4° y 20°C.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología del aguacate (Tomada y adaptado de Barrientos et al., 2008).....	4
Figura 2. Mecanismo de reacción del oscurecimiento enzimático (Tomado y adaptado de McEvily et al.,1992).....	8
Figura 3. Estructura del quitosano (Tomado de Muxika et al., 2017).....	14
Figura 4. Diagrama de trabajo	20
Figura 5. Aplicación de películas comestibles sobre guacamole	32
Figura 6. Evaluación de compuestos fenólicos totales de guacamole recubierto con las 4 películas comestibles, seleccionadas a las 0 y 48 h a 4° y 20°C.	34
Figura 7. Evaluación de capacidad antioxidante de guacamole recubierto con las 4 películas comestibles, seleccionadas a las 0 y 48 h a 4° y 20°C..	37
Figura 8. Películas comestibles F1.....	42

RESUMEN

El oscurecimiento enzimático es uno de los problemas más comunes que se presenta en el aguacate y su producto derivado más popular (el guacamole) en el cual intervienen diversas enzimas, como la polifenol oxidasa, que provocan colores e incluso sabores desagradables por la oxidación de algunos compuestos presentes en dicho fruto. Para prevenir esto, se han desarrollado diversas tecnologías térmicas, no térmicas y métodos combinados para ser aplicados en este fruto, sin embargo, no todos los procesos resultan cien por ciento eficaces, ya que el pardeamiento solo se logra retrasar, además de ser costosos.

En los últimos años, la creación y aplicación de películas comestibles ha ido en aumento para ser un nuevo método de conservación de algunos alimentos y frutos, ya que en su formulación se pueden añadir otras sustancias bioactivas, como, por ejemplo: algunos agentes antioxidantes que eviten o retrasen el oscurecimiento enzimático. La mayoría de las películas comestibles son elaboradas a partir de polisacáridos, proteínas y lípidos, todos ellos con funciones muy específicas. En este trabajo, se diseñó una película comestible a base de quitosano, ácido cítrico y extracto de limón-cebolla para alargar la vida útil de guacamole.

Se desarrollaron 4 formulaciones de películas comestibles, las cuales fueron aplicadas a guacamole para evaluar el color, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y crecimiento de microorganismos cuando es almacenado con la película por 48h a 4° y 20°C. Los resultados mostraron que las películas comestibles desarrolladas mantuvieron el contenido de antioxidantes en guacamole, disminuyeron el pardeamiento y el cambio de color del guacamole, así como inhibieron el crecimiento microbiano. Sin embargo, la película comestible F1 (ác. cítrico 2.5%, extracto limón-cebolla 1.5%) resultó ser mejor al retardar el oscurecimiento enzimático, tener mejor capacidad antioxidante e inhibir el crecimiento microbiano, por lo cual se seleccionó para los estudios de caracterización y estabilidad al ser almacenada por 28 d a dos temperaturas diferentes (4° y 20°C) mostrando que se mantenía estable durante el tiempo de almacenamiento y que sus propiedades fisicoquímicas no mostraban cambios significativos. Al ser aplicada en guacamole después del tiempo de almacenamiento mantenía en el guacamole su característico color verde y los parámetros evaluados no mostraban diferencia significativa.

1. INTRODUCCIÓN

El oscurecimiento enzimático es un problema que se presenta en frutas y verduras, especialmente en el aguacate. Esta fruta se ve afectada durante su manipulación, transporte, almacenamiento y el procesamiento poscosecha ya que el someterla a estrés físico y al oxígeno desencadena una serie de procesos biológicos que se llevan a cabo dentro de la misma. Esto da como resultado que la enzima polifenol oxidasa produzca coloraciones marrones en la pulpa de los frutos, lo cual es indeseable porque modifica las características sensoriales y la composición del propio fruto y de los alimentos a los que estos son añadidos. Hoy en día existen múltiples formas de evitar o retardar el oscurecimiento enzimático en el aguacate y sus productos derivados como el guacamole. Por ejemplo, algunos de estos procesos son la adición de compuestos antioxidantes a productos derivados de la pulpa del fruto, o la congelación y refrigeración. Sin embargo, no son métodos que aseguren la estabilidad del fruto por un periodo de tiempo largo e incluso pueden verse afectadas sus propiedades sensoriales, lo que influye en las decisiones del consumidor al momento de elegir un producto sobre otro.

La búsqueda de otras alternativas para retrasar o inhibir el oscurecimiento de los frutos ha resultado en la creación de recubrimientos y películas comestibles a base de biopolímeros, extractos naturales y antioxidantes que no solo retrasan el oscurecimiento por limitar la disponibilidad del oxígeno en la superficie, sino que también dan un valor agregado a los frutos por la incorporación de compuestos bioactivos.

Dado lo anterior, el objetivo de este trabajo es diseñar una película comestible para alargar la vida útil del guacamole a base de ácido cítrico, extracto de limón-cebolla y quitosano.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Aguacate

2.1.1 Generalidades

El aguacate (*Persea americana* Mill) es el fruto de un árbol originario del centro y oriente de México. Es una fruta climatérica, altamente perecedera debido a su alto contenido en lípidos que experimentan fácilmente reacciones de lipoperoxidación (Magri et al., 2022). Este pertenece a la familia *Lauraceae* y género *Persea*, del cual se desprenden alrededor de unas 50 especies (Ochoa-Zarzosa et al., 2021).

El aguacate es originario de una amplia área geográfica que va desde las tierras altas del centro y oriente de México, llegando a Guatemala y de ahí hasta la costa del Océano Pacífico en Centroamérica. Algunas evidencias antiguas datan de su consumo en una localidad de Puebla, México, con una antigüedad de 7000 a 8000 años (Pérez et al., 2015).

El árbol de este fruto es frondoso y de hoja perenne, con una floración generosa, además es sensible al frío y la humedad ambiental, por lo que su plantación debe hacerse en regiones libres de heladas, vientos calurosos y secos. Además, puede llegar a una altura de hasta 20 m, pero cuando este es usado en plantaciones para fines comerciales no se debe dejar crecer más de 5 m, ya que así se tienen mejores prácticas de control fitosanitario (Pérez et al., 2015). México se posiciona como el primer productor mundial, con más del 30% de la producción mundial del aguacate. En territorio nacional, se genera un aproximado de 1,800,000 toneladas al año y teniendo como principal productor nacional al estado de Michoacán (Ochoa-Zarzosa et al., 2021). Gracias a su gran producción a nivel nacional y a su sabor, este fruto es apreciado y consumido por la población local.

La exportación en fresco de este fruto a los Estados Unidos va creciendo de manera importante, tan solo en el año 2023 para el partido por el campeonato de la Liga Nacional de Fútbol Americano (NFL), el nivel de exportación de aguacate mexicano a Estados Unidos presentó un crecimiento constante, pasando de unas 121.600 toneladas métricas en 2019 a cerca de 135.000 en 2022, posicionando así a México como el mayor productor y exportador de aguacate en América Latina y el mundo (Statista, 2023).

2.1.2 Taxonomía del aguacate

Las características taxonómicas de este fruto se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características taxonómicas del aguacate (*Persea americana* Mill)

Familia	<i>Lauraceae</i>
Subfamilia	<i>Lauroideae</i>
Tribu	<i>Perseae</i>
Subtribu	<i>Perseineae</i>
Género	<i>Persea</i>
Especie	<i>americana</i>

Tomado y adaptado de Ochoa-Zarzosa et al., 2021.

La variedad mexicana de aguacate se caracteriza por un peculiar aroma anisado presente en sus hojas y por tener unos pequeños frutos de piel fina, con un rico sabor y de una excelente calidad. Este fruto tiene características que lo hacen rápidamente identificable, pues tiene una forma de pera de un color verde oscuro cuando aún no está maduro, a violeta-negro cuando ha llegado a su madurez con una peculiar cáscara rugosa y una pulpa verde en el exterior y amarilla en el centro, con un hueso central que puede ser o muy grande o pequeño y, dependiendo de su tamaño, puede pesar en promedio de 150 a 350 g (Pérez et al., 2015).

2.1.3 Morfología del aguacate

El aguacate es un fruto de una sola semilla con una pulpa carnosa que es generalmente conocida como drupa. Esta pulpa posee una gran variedad de colores, texturas y formas, pudiendo llegar a medir de 7.5 a 33 cm de largo y hasta 15 cm de ancho, dependiendo del cultivar.

El pericarpio puede tener ciertas tonalidades, desde verde a oscuras (negras), púrpuras, rojizas. La textura del exocarpio suele ser lisa o rugosa, lustrosa u opaca; delgada o como cuero y de hasta 6 mm de gruesa; flexible o granulada y quebradiza (Barrientos et al., 2008).

La semilla, por otro lado, puede tener una forma ovoide, redonda o cónica, de 5 a 6.4 cm de largo, dura y pesada, de un color marfil rosado, envuelta en dos capas de color café, frecuentemente adheridas a la cavidad pulposa, permitiendo así la salida fácil de la semilla.

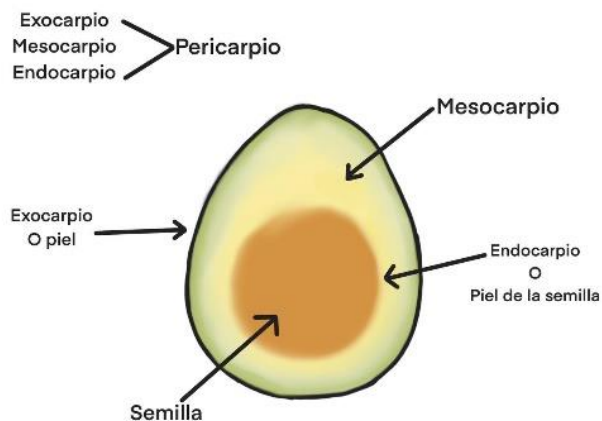


Figura 1. Morfología del aguacate (Tomado y adaptado de Barrientos et al., 2008).

2.1.4 Valor nutrimental del aguacate

El aguacate es considerado una fruta con una gran fuente de energía, ya que aporta alrededor de 140 a 228 kcal de energía. Es decir, su alto valor calórico está determinado por las altas cantidades de lípidos que posee (alrededor del 12 al 24%), especialmente en su pulpa, donde se han identificado de 5 a 6 ácidos grasos en cantidades significativas, conteniendo ácidos grasos saturados, monoinsaturados y polisaturados. De estos, los principales ácidos grasos son el ácido oleico, linoleico y palmitoleico (Lara-García et al., 2021).

El consumo de este fruto proporciona niveles significativos de fibra dietética, minerales (magnesio y potasio), vitaminas como la A, B-6, C, E, K, ácido fólico, pantoténico, colina, fitoesteroles, además de un buen aporte de proteína (1-3%) y carbohidratos (0.8 al 4.8%) (Salazar- López et al., 2020).

La cantidad de potasio que este fruto posee es considerablemente elevada pues contiene 500 mg por cada 100 g de este, comparado con otros frutos que son conocidos por presentar altos niveles de este mineral, como es el caso del plátano que tiene 358 mg por cada 100 g (Duarte et al., 2016).

El fruto del aguacate y sus subproductos que son la cáscara y semilla contienen otros nutrientes, pero en menor cantidad como los carotenoides, alcaloides, fitoesteroles, tocoferoles, entre otros (Salazar-López et al., 2020).

Dado lo anterior, algunos autores consideran al aguacate como un alimento funcional, ya que además de todos los componentes anteriormente mencionados, se destaca también la presencia de compuestos bioactivos, tales como el hidroxibenzoico, los ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y procianidinas (Lara- García et al., 2021).

2.1.5 Efectos del aguacate en la salud

Como ya se mencionó, el aguacate contiene una gran variedad de nutrientes que lo convierten en un fruto de múltiples estudios sobre sus efectos en la salud. El consumo de dicho fruto resulta beneficioso, puesto que se puede extraer de su piel, pulpa y semilla sustancias que otorgan diversos beneficios como actividad antimicrobiana, inhibición del dolor, efecto antioxidante, reducción de niveles de colesterol y de especies reactivas de oxígeno (Morelos y Hernández., 2019).

Se ha estudiado en los últimos años que en pacientes con diabetes el aguacate resulta ser un fruto altamente benéfico, esto debido a su bajo contenido de azúcar, además, el consumo de dicho fruto en estos pacientes incrementa el periodo de saciedad, seguido de una reducción en la secreción de insulina (Wien et al., 2013).

Por otro lado, los ácidos grasos del aguacate ofrecen beneficios sobre los factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, al reducir los niveles de colesterol LDL o “malo” y aumentar el HDL o colesterol “bueno”, lo cual lo convierte en un fruto cardioprotector. Además, la ingesta de aguacate promueve el control de la presión arterial, debido a su bajo contenido de sodio (Morelos y Hernández., 2019).

El aguacate, es de los pocos frutos que contiene niveles significativos de vitamina E y C, lo que le confiere una protección antioxidante ya que se han estudiado sus efectos protectores sobre el ADN, resultando un fruto beneficioso contra la edad (Morelos y Hernández., 2019). Por otro lado, el aguacate posee un número importante de fitoquímicos como los carotenoides, terpenoides y glutatión, que han sido estudiados por sus propiedades anticancerígenas (Ochoa-Zarzosa et al., 2021).

Varios estudios experimentales han encontrado que el consumo de aguacate mejora la función mitocondrial, disminuyendo los niveles de especies reactivas de oxígeno, actuando así contra el estrés oxidativo (Morelos y Hernández., 2019).

Finalmente, el consumo de aguacate tiene un papel importante al actuar contra células cancerosas y úlceras gástricas, además de ayudar a reducir la inflamación en articulaciones, mejorar la digestión, nutrir la piel, uñas, y cabello, así como ayudar en la salud visual (Salazar-López et al., 2020).

2.1.6 Guacamole

El guacamole es un producto alimenticio elaborado con aguacates maduros. Estos son cortados, se les retira la semilla y se separa la pulpa de la cáscara. La pulpa se mezcla coloquialmente con jugo de limón, cebolla, cilantro, chile serrano, sal y pimienta para ser consumido inmediatamente, antes de que este empiece a oscurecerse (González-Fernández et al., 2015).

Debido al rápido oscurecimiento de este preparado, se requiere el uso de aditivos para una adecuada estabilidad y poder ser lanzado a la venta como un producto listo para comer, por lo anterior, la industria alimentaria ha buscado alternativas que lo eviten o retrasen, como es el uso de antioxidantes, aditivos, conservadores, y almacenamiento en temperaturas de refrigeración, sin embargo, no son una solución efectiva, además de causar pérdida de sabor, aroma, color y apariencia del mismo en comparación con un preparado casero (Cortés-Rodríguez et al., 2019). Por otro lado, el consumidor busca en la medida de lo posible que contenga la menor cantidad de aditivos y sea lo más natural posible, por ello, se ha buscado el uso de extractos naturales asociados con propiedades anti pardeamiento (Bustos et al., 2015).

Una de las alternativas que se ha propuesto actualmente para poder contrarrestar este problema del oscurecimiento en el guacamole es secar la pulpa y usarla para posteriormente prepararlo, sin embargo, se ha reportado una pérdida de sabor del aguacate usando esta técnica, además de ser una tecnología costosa debido al procesamiento, tiempo y costes energéticos (Cortés-Rodríguez et al., 2019).

A pesar de sus diversos beneficios, una de las desventajas del aguacate es el ya mencionado y rápido oscurecimiento de la pulpa, específicamente el oscurecimiento enzimático.

2.2 Oscurecimiento enzimático

El oscurecimiento enzimático es un proceso de cambio de color en los alimentos (especialmente de frutas y verduras), que se da por una serie de reacciones químicas en las cuales intervienen diversas enzimas, de las cuales la más común es la polifenol oxidasa. Estas enzimas ayudan a la conversión de compuestos fenólicos en otra clase de compuestos, las quinonas, que se manifiestan en una coloración marrón (Quevedo et al., 2011).

El pardeamiento de la pulpa de diversas frutas es un problema grave ya que no solo se ven afectadas sus propiedades sensoriales y de valor comercial. Por un lado, el consumidor percibe este pardeamiento como un indicador de mala calidad, y por otro, se produce un efecto sobre los componentes propios del fruto como proteínas, aminoácidos y lípidos que pueden disminuir su biodisponibilidad por los radicales libres que son generados durante la reducción de la molécula de quinona (Toledo y Aguirre, 2016).

2.2.1 Características del oscurecimiento enzimático

El oscurecimiento de los alimentos puede ser de tipo no enzimático, que se da por asociación de reacciones químicas; y el enzimático, que requiere de enzimas presentes en el alimento y oxígeno para que la oxidación ocurra (Hamdan et al., 2022).

El oscurecimiento enzimático ocurre cuando todos los componentes que son esenciales para esta reacción se encuentran presentes. El rápido oscurecimiento de la pulpa del aguacate es consecuencia de su exposición al oxígeno del aire que cataliza la oxidación de fenoles a quinonas. Esto se produce debido a heridas en el tejido vegetal que se pueden dar durante su cosecha, manipulación o por estrés físico, como el corte del fruto que lo expone directamente al oxígeno (Quevedo et al., 2011).

En presencia de oxígeno, las enzimas presentes en la fruta del aguacate ayudan a la conversión de los compuestos fenólicos de este fruto en quinonas. Esto se da por una hidroxilación de los fenoles para formar así *o*-dihidroxifenoles; posteriormente se da la oxidación de estos en *o*-quinonas. Estas quinonas son capaces de polimerizarse al tomar las moléculas más pequeñas para unir las y formar una cadena larga de polímeros conocidos como melanina (Higuera et al., 2022).

Esta polimerización de la melanina, que se da especialmente en la fracción acuosa de las frutas, se manifestará con una coloración marrón a negra (Bustos et al., 2017).

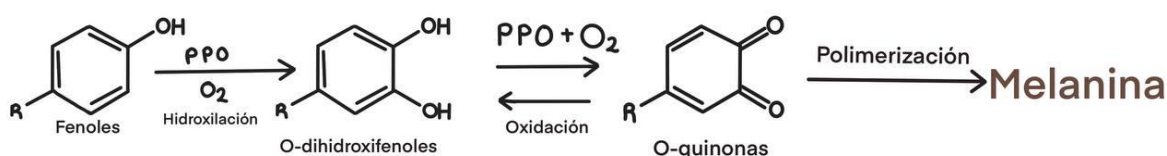


Figura 2. Mecanismo de reacción del oscurecimiento enzimático (Tomado y adaptado de McEvily et al., 1992).

Es necesaria la exposición al oxígeno de la pulpa del aguacate, para que los compuestos fenólicos, que están almacenados en las vacuolas de las células vegetales, en situaciones que disminuyan la integridad de la membrana de la célula vegetal (cortes, golpes, etc.) se puedan unir a las enzimas que se encuentra en el citoplasma circundante (Hamdan et al., 2022).

Sin embargo, la actividad de las enzimas que intervienen en el oscurecimiento, parecen actuar como un mecanismo de defensa contra agentes nocivos, como plagas y bacterias ya que las quinonas son compuestos tóxicos para las bacterias, permitiendo así que la fruta dure un poco más después de su exposición al oxígeno (Nicolas et al., 2003).

2.2.2 Prevención del oscurecimiento enzimático

Como se mencionó en los apartados anteriores, el pardeamiento enzimático es una reacción de oxidación donde la presencia de oxígeno y daños físicos provocados por la manipulación del aguacate desencadenan una reacción que da como resultado esa coloración café indeseable; sin embargo, esto se puede prevenir eliminando el oxígeno de la superficie de la fruta, pero esto no dura mucho ya que el pardeamiento se recupera cuando el oxígeno es reestablecido en la superficie (Quevedo et al., 2011).

2.2.3 Tecnologías no térmicas, térmicas y métodos combinados para la prevención del oscurecimiento enzimático

Las tecnologías no térmicas, térmicas y métodos combinados constituyen uno de los tratamientos alternativos para evitar o inhibir el oscurecimiento y se ha investigado mucho sobre estos en los últimos años no solo aplicado en el aguacate, sino también en otras frutas y verduras (Toledo y Aguirre, 2016).

En cuanto a las tecnologías no térmicas, algunos de los métodos utilizados para retrasar o inhibir el oscurecimiento enzimático son:

- ✓ Alta presión hidrostática: Este método consiste en la aplicación de alta presión hidrostática, para desestabilizar la estructura secundaria de las enzimas responsables del pardeamiento e inactivar algunos microorganismos sin alterar sus propiedades sensoriales y valor nutricional, ya que solo se ven afectadas las interacciones hidrofóbicas de las estructuras biológicas. Se ha estudiado que es necesario un tratamiento con diferentes presiones a diferentes tiempos para inhibir a las enzimas responsables del pardeamiento y evitar que lleven a cabo la reacción de oscurecimiento. Es una buena alternativa, sin embargo, el oscurecimiento se recuperará en cuestión de semanas. En resumen, es necesario controlar las variables del proceso (tiempo, temperatura y pH) para prevenir una reactivación de las enzimas.
- ✓ Ultrasonido: Este es otro método usado como alternativa para inhibir la actividad enzimática en diversas frutas como el aguacate. El principio de este método es la cavitación de la matriz líquida en la que las enzimas son suspendidas. La alta frecuencia lleva a la formación, crecimiento e implosión de pequeñas burbujas de gas en el líquido, afectando así la actividad de las enzimas. Sin embargo, en algunos estudios donde se ha usado puré de aguacate se observa un incremento de la actividad enzimática después de la aplicación del tratamiento, lo cual deja un poco de duda sobre su eficacia.
- ✓ Atmósfera modificada: Este método no inhibe la actividad catalítica de las enzimas responsables del pardeamiento enzimático, sin embargo, la ausencia de oxígeno en el medio provocado por el cambio de atmósfera detiene la progresión de las enzimas, al menos hasta que se reincorpore el oxígeno en el sistema.
- ✓ Protección contra el oxígeno: el uso de envases herméticos o plásticos adheribles resultan indispensables para evitar el oscurecimiento de frutas, como la pulpa del

aguacate. Sin embargo, la prevención del oscurecimiento falla cuando las condiciones de bloqueo de oxígeno ya no se mantienen y el cambio de color será más acelerado (Nicolas et al., 2003).

Por otro lado, la inhibición del pardeamiento en la pulpa del aguacate usando tratamientos térmicos fue uno de los primeros métodos utilizados y se ha declarado como el más eficaz para el control de la actividad enzimática.

- ✓ Tratamiento con altas temperaturas: Se ha estudiado mucho sobre la aplicación de altas temperaturas (60-80°C) y ha sido declarado como uno de los métodos más eficaces para el control de la actividad enzimática. Se ha visto que independientemente del estado de madurez, después de 10 minutos de la aplicación del tratamiento, la actividad enzimática se ve reducida en un 50 a 60%. Sin embargo, se ha visto que después de la aplicación térmica, se desarrollan sabores amargos (muchas veces indeseables) en el producto final.
- ✓ Tratamientos con bajas temperaturas y congelación: Una reducción de la temperatura induce una marcada disminución del oscurecimiento enzimático, sin embargo, el cambio de color sigue siendo rápido aun a 0°C. Por ello es necesario una rápida congelación que permita llegar a la temperatura de cristalización del agua de manera rápida, para evitar daños en el tejido vegetal. Una vez congelado, el cambio de color del fruto estará bloqueado mientras se mantenga la temperatura de congelación, si esta llegase a subir el oscurecimiento comenzará y será más rápido dado el daño celular. La inactivación de las enzimas responsables del pardeamiento en las frutas mediante métodos combinados es un último intento por lograr preservar la calidad del fruto o producto final lo mejor posible.
- ✓ Uso combinado de alta presión y temperatura: Se ha observado que la temperatura óptima para la inhibición enzimática en aguacate es a 65°C y los cambios ácidos en el pH, hacen más sensible a las enzimas al tratamiento de alta presión (Toledo y Aguirre, 2016).

En la tabla 2, se resumen las tecnologías no térmicas, térmicas y métodos combinados para la prevención del oscurecimiento enzimático.

Tabla 2. Métodos físicos para prevenir el oscurecimiento enzimático

Métodos	Mecanismo de acción
Inmersión	Inmersión del fruto o productos derivados en soluciones de extractos naturales o químicos
Tratamiento con altas temperaturas	Reducción de la PPO por el cambio de temperatura en la matriz del fruto
Tratamiento con bajas temperaturas y congelación	Reducción de la temperatura a 0°C para disminuir el pardeamiento enzimático
Alta presión hidrostática	Desestabilización de la estructura de la enzima, afectando las interacciones hidrofóbicas.
Ultrasonido	Fenómeno de cavitación: formación de pequeñas burbujas de gas en la matriz líquida donde se encuentra la enzima, afectando la actividad de esta.
Atmosferas modificadas	La ausencia de oxígeno en el medio de reacción detiene la progresión de la PPO, al menos hasta el momento en que el oxígeno se reincorpora al sistema

Tomado y adaptado de Toledo y Aguirre, 2016.

2.2.4 Métodos químicos usados para la inhibición del oscurecimiento enzimático

Por otro lado, los métodos químicos buscan inhibir la aparición de los pigmentos marrones. En esencia, lo que se busca para evitar el oscurecimiento es la inhibición de la actividad enzimática, centrándose en eliminar todos los componentes que desencadenan la reacción. Es por ello que el uso de antioxidantes e inhibidores del pardeamiento cada vez son más usados en la industria alimentaria y en los hogares, ya que frutos como el limón rico en antioxidantes, evitan la formación del color y el cambio de sabor. De esta forma, alargan la vida útil del alimento ya que las enzimas son sensibles a la condición ácida que el limón provee al fruto al acidificar el medio, aunque esta protección no es tan larga, sí prolonga más tiempo el oscurecimiento que los métodos físicos ya mencionados (Khettal et al., 2017). Hamdan et al. (2022) mencionan que otros métodos más comunes para evitar el oscurecimiento enzimático de algunas frutas y verduras a nivel industrial es la adición de agentes antioxidantes, quelantes, inhibidores de la enzima, tratamientos enzimáticos,

acidificación del medio con ácido ascórbico o ácido cítrico, tratamientos térmicos o el uso de extractos derivados de otras frutas u hojas. Sin embargo, no en todos los casos se obtienen los resultados deseados ya que se puede prevenir el oscurecimiento, pero no por un largo periodo de tiempo o la calidad nutricional de los frutos se pueden ver afectados.

2.3 Recubrimientos comestibles

En los últimos años, la creciente preocupación por el impacto que tienen los residuos plásticos sobre el medio ambiente ha llevado a la búsqueda de nuevas alternativas para el envasado de alimentos a fin de generar la menor cantidad de estos.

La conservación de los alimentos es un punto importante en la industria alimentaria, debido a que el consumidor busca que contengan la menor cantidad de aditivos y/o sustancias químicas y que el alimento se conserve lo más fresco posible. La investigación para crear recubrimientos y películas comestibles que además protejan los alimentos y verduras ha ido en constante evolución y aumento. Las películas y recubrimientos comestibles (PRC) han sido un campo de estudio prolijo en los últimos años ya que se busca que su uso no se limite a solo un sustituto de residuos, sino a que mejore la apariencia, conservación, propiedades y sabor de los alimentos en los que son aplicados (Ramos et al., 2012).

Las PRC son finas capas formuladas que son aplicados directamente sobre la superficie de un alimento o fruto mediante inmersión, rociado u otra técnica y son aptas para el consumo humano. Estas funcionan como barrera frente a distintos agentes externos (como el vapor de agua, oxígeno y humedad), así como protección frente a distintos microorganismos. Además, contienen en su formulación aditivos alimentarios como antioxidantes y nutracéuticos (probióticos, vitaminas, etc.) para mejorar su calidad, propiedades funcionales, prolongar la vida útil de los alimentos y mantenerlos lo más frescos posible (Ramos et al., 2012).

La mayoría de recubiertos y películas comestibles, son elaborados a partir de polisacáridos por sus buenas propiedades de adherencia a los frutos, lo cual permite que sean más efectivos. Los biopolímeros más comúnmente utilizados para la preparación de PRC, son elaborados a partir de: polisacáridos (como el almidón, pectina, celulosa, alginato y carragenano), proteínas (gelatina, caseína, gluten de trigo y zeína) y lípidos (ácido esteárico, ceras y grasas, ésteres de ácidos grasos), los cuales son usados solos o combinados entre sí, además de que se les pueden añadir plastificantes (sorbitol, glicerol) para mejorar la resistencia a la

transferencia de humedad y evitar que sea frágil al mejorar la flexibilidad y extensibilidad (Vázquez-Luna et al., 2019).

De manera general, no hay diferencias en la composición de las PRC, excepto quizá en su espesor que suele ser mayor en las películas y que estas se pueden usar como cubiertas, bolsas o cápsulas. A pesar de esto, no están diseñadas para desecharse, sino que forman parte del producto final (Ramos et al., 2012).

2.3.1 Uso de ácido cítrico como antioxidante en películas comestibles

La adición de antioxidantes a la formulación de las películas ayuda a mejorar su función conservante y reducir el pardeamiento de frutas y verduras producto de la oxidación de nutrientes. Para lograr la adición de algunos antioxidantes, es necesario evaluar cómo influirán en la formulación de la película, las interacciones químicas y las características del producto alimenticio al que será aplicado la película, ya que muchos antioxidantes (como el ácido cítrico) modifican de manera notoria el sabor y las características en ciertas frutas y verduras (Eca et al., 2014).

La mayoría de los antioxidantes naturales usados para formular películas se obtienen de extractos de plantas, algunas frutas, especias, hojas, etc. y destacan porque su capacidad antioxidante es comparable e incluso superior a los antioxidantes sintéticos, lo cual otorga mejor aceptación al consumidor (Ramos et al., 2012).

El ácido cítrico, adicionado como compuesto puro en la formulación de películas, reduce la permeabilidad al oxígeno de estas, que protege de manera potencial al material contra la oxidación y además actúa como agente antimicrobiano frente a algunos microorganismos como *Clostridium perfringens*, *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp (Eca et al., 2014).

Finalmente, para algunos biopolímeros (como el quitosano), la acidificación del medio es importante para mejorar la solubilidad en agua de estos. Por ello el uso de ácido cítrico es importante ya que acidifica el medio hasta bajar a un pH cercano al 3, óptimo para la solubilidad (Salama et al., 2020).

2.3.2 Quitosano como biopolímero usado en películas comestibles

El quitosano es un biopolímero producto de la desmineralización y desproteización de la quitina, que se encuentra comúnmente en algunas especies marinas, ejemplo de ellas el camarón, cangrejos, calamares y langostas (Nwe et al., 2011).

El quitosano puro presenta una baja solubilidad en medios acuosos; sin embargo, en medios acuosos que son previamente acidificados, los grupos aminos se convierten en cationes de amonio, permitiendo así que actúen con diversos tipos de moléculas, aumentando su hidrofilia y mejorando también su solubilidad en agua (Salama et al., 2020).

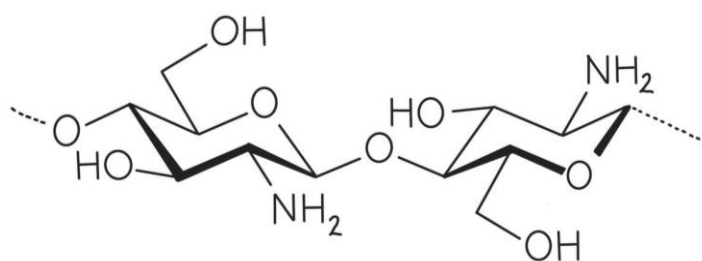


Figura 3. Estructura del quitosano (Tomado de Muxika et al., 2017).

El uso de empaques y recubrimientos que son elaborados a base de quitosano mejora la preservación de la calidad de los alimentos ya que extiende su vida en anaquel debido a sus propiedades antimicrobianas. Esto es porque el quitosano posee cargas catiónicas responsables de unirse a los componentes aniónicos de las membranas bacterianas: grupos fosforilo, proteínas, aminoácidos y lipopolisacáridos a través de atracciones electrostáticas y ruptura de la permeabilidad de la membrana celular del microorganismo que se desea inhibir (Salama y Hesemann, 2017). El quitosano, inhibe el crecimiento de algunos grupos de bacterias Gram negativas y Gram positivas, además de poseer actividad antifúngica (Sahariah y Masson, 2017).

En algunos estudios se ha analizado que para preparar una solución de quitosano se pueden emplear diferentes proporciones de reactivos, siendo para el quitosano la máxima de 2% y una mínima de 1.5% y tomando en cuenta que la solución no debe someterse a temperaturas superiores a 40°C (Fernández-Pan et al., 2015). Al aumentar la concentración de quitosano en una película, tendremos como resultado una película áspera y gruesa (Ngo et al., 2020).

Finalmente, se puede utilizar algún plastificante para incrementar así la flexibilidad de la película, ya que sin este se tendría una película frágil, es por ello que el uso de plastificantes como el glicerol, mejoran las propiedades mecánicas en la formulación (Ramos et al., 2012).

2.3.3 Uso de glicerina en películas comestibles

El glicerol, también llamado glicerina, es un alcohol con tres grupos hidroxilos soluble en agua. Es el plastificante más popular usado en la producción de películas dada su gran compatibilidad con materiales y porque ofrece además una buena elasticidad a las películas sin reducir la resistencia a la tensión (Alata et al., 2019).

El glicerol tiene gran compatibilidad con el quitosano, por lo que, al ser usado para la elaboración de películas con estos dos componentes, tienden a ser más hidrofóbicas, ya que el glicerol, por sus tres grupos hidroxilo, interrumpe en la interacción de las moléculas de quitosano que están formando puentes de hidrógeno con los grupos amino, previendo así de flexibilidad y traslucidez a la película (Chen et al., 2018).

2.4 Antioxidantes

2.4.1 Generalidades de los antioxidantes

Hamdan et al. (2022) definieron a los antioxidantes como sustancias, de origen natural o sintético, que ayudan a proteger a las proteínas, lípidos y otras biomoléculas de la oxidación provocada por algunas enzimas presentes en frutas y verduras, de esta forma, se logra evitar la formación de sabores y colores desagradables en estas y además se prolonga su vida útil.

La adición de antioxidantes en la industria alimentaria es algo que se ha utilizado desde hace más de 50 años para prevenir la oxidación y el pardeamiento de frutas y verduras, sin embargo, varios antioxidantes que son agregados a estos resultan de gran preocupación, pues se han asociado con toxicidad en algunas personas que son alérgicas o sensibles a algunos de ellos (Hamdan et al., 2022).

2.4.2 Uso de los antioxidantes en la industria alimentaria

Para poder controlar el pardeamiento en productos derivados de frutas y verduras, como lo es el pure de aguacate o guacamole, se han añadido soluciones antioxidantes como el ácido ascórbico y sus derivados, esto dadas sus propiedades reductoras. Sin embargo, no es algo

cien por ciento efectivo y solo es temporal por lapso de horas hasta que todos los componentes necesarios para que ocurra el pardeamiento vuelvan a estar presentes (Favre et al., 2018).

Otra alternativa que se dio fue la adición de compuestos de sulfito, como el dióxido de azufre y sulfitos, como inhibidores y antioxidantes sintéticos que ayuden a controlar el pardeamiento enzimático y no enzimático de algunos productos alimenticios. Estos compuestos pueden resultar efectivos, pero la principal preocupación es que estos pueden causar varios efectos secundarios en algunas personas, por ello, la FDA en 1986, prohibió el uso de estos compuestos en la industria (Hamdan et al., 2022). Por otro lado, el uso de agentes químicos antioxidantes sintéticos como el hidroxitolueno butano se han asociado con hepatotoxicidad y tener propiedades cancerígenas (Hamdan et al., 2022).

Dado todos estos antecedentes, se han buscado nuevas alternativas en aditivos que eviten el oscurecimiento y que provengan de fuentes naturales e incluso de otros frutos, hojas, plantas o hierbas como conservantes naturales para frutas, verduras y sus derivados (Favre et al., 2018).

Actualmente, la investigación se centra en extractos naturales con potencial propiedad antioxidante y anti oscurecimiento para preservar frutas, verduras y sus derivados. Además de esos beneficios, se busca que estos compuestos naturales posean una alta calidad de sustancias bioactivas que, en consecuencia, sean beneficiosas para la salud y que también complementen y enriquezcan aún más estos frutos (Hamdan et al., 2022).

2.4.3 Ácido cítrico, cebolla y limón como agentes anti oscurecimiento en el guacamole

El ácido cítrico es un ácido orgánico tricarbónico, que está presente en la mayoría de las frutas, especialmente en cítricos como la naranja y el limón. Este es un buen conservante y antioxidante natural y es añadido durante el envasado de muchos alimentos (De'Nobili et al., 2016).

Este ácido actúa acidificando el medio al que es añadido, de este modo, las enzimas responsables de que ocurra el pardeamiento en las frutas, que son sensibles a las condiciones ácidas del medio, disminuyen la polimerización y retrasan el oscurecimiento (Hamdan et al., 2022).

De forma similar, el limón realiza su función, ya que es muy común añadir el jugo de este cítrico al guacamole una vez preparado, que además de retrasar el oscurecimiento como ya se mencionó, da un aporte extra de vitamina C (ácido ascórbico). Además, actúa como un antioxidante, por lo que la adición de jugo o extractos de este fruto aporta doble beneficio de antioxidante a frutas y verduras, en especial al aguacate (Nicolas et al., 2003).

La cebolla (*Allium cepa*) es un fruto ampliamente usado en la cocina y que forma parte de la dieta diaria de las personas. Además de sus aportes nutricionales, otorga un sabor agradable a los alimentos que son preparados con ella. Es bien sabido que posee una gran fuente de flavonoides saludables (flavonoides y quercetinas) y otros compuestos que contienen azufre como el trisulfuro de alilo acetilcisteína, etc (Tinello et al., 2020).

Busto et al. (2017) observó que al obtener extracto de cebolla y adicionarlo a la pulpa del aguacate, mejora notablemente la capacidad antioxidante en casi un 60%, concluyendo que esto podría atribuirse a los compuestos de la cebolla que contienen azufre y sus derivados.

Por otro lado, Lim et al. (2019) estudió la inhibición de la polifenol oxidasa en extractos acuosos de cebolla, concluyendo que se tiene un buen efecto de inhibición sobre esta, debido a que el extracto obtenido contiene el grupo sulfhidrilo, que permite la interacción con el cobre del sitio activo de la enzima, lo que dificulta su actividad catalítica.

En conclusión, diversos extractos y agentes naturales anti oscurecimiento, se pueden utilizar para reemplazar los productos químicos peligrosos usados por la industria, además de añadir mayor valor nutrimental, sabor y aroma aceptables para el consumidor.

3. JUSTIFICACIÓN

Las reacciones de oscurecimiento, como la que desencadena la polifenol oxidasa, es un problema común en el aguacate que afecta su aspecto físico y valor nutricional. Esta reacción de oscurecimiento es algo indeseable en dicho fruto y sus derivados como el guacamole.

Para solucionar esto, se añaden antioxidantes y compuestos de sulfito como el dióxido de azufre o se someten a procesos físicos como refrigeración. Sin embargo, no son soluciones efectivas a largo plazo y el producto tomará un color café, que hace que sea menos atractivo e incluso el sabor de este se vea afectado.

Es por ello que la importancia de este trabajo radica en el diseño, elaboración y aplicación de una película comestible a base de quitosano, ácido cítrico y extracto de limón-cebolla que disminuya o reduzca la actividad enzimática en el guacamole, retrasando su oscurecimiento.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Diseñar una película comestible con base en quitosano, ácido cítrico y extracto de limón-cebolla para alargar la vida útil de guacamole.

4.2 Objetivos específicos

- Formular películas comestibles a partir de quitosano, ácido cítrico y extracto de limón-cebolla.
- Analizar el efecto de la aplicación de películas comestibles formuladas en sus propiedades antioxidantes, anti oscurecimiento, antimicrobianas durante el almacenamiento.
- Evaluar el efecto del almacenamiento sobre las características físicas, microbiológicas, antioxidantes de la película comestible seleccionada.
- Analizar el efecto de la aplicación de película comestible almacenada en las características antioxidantes, de color, sensorial y microbiológicas del guacamole.

5. DIAGRAMA DE TRABAJO

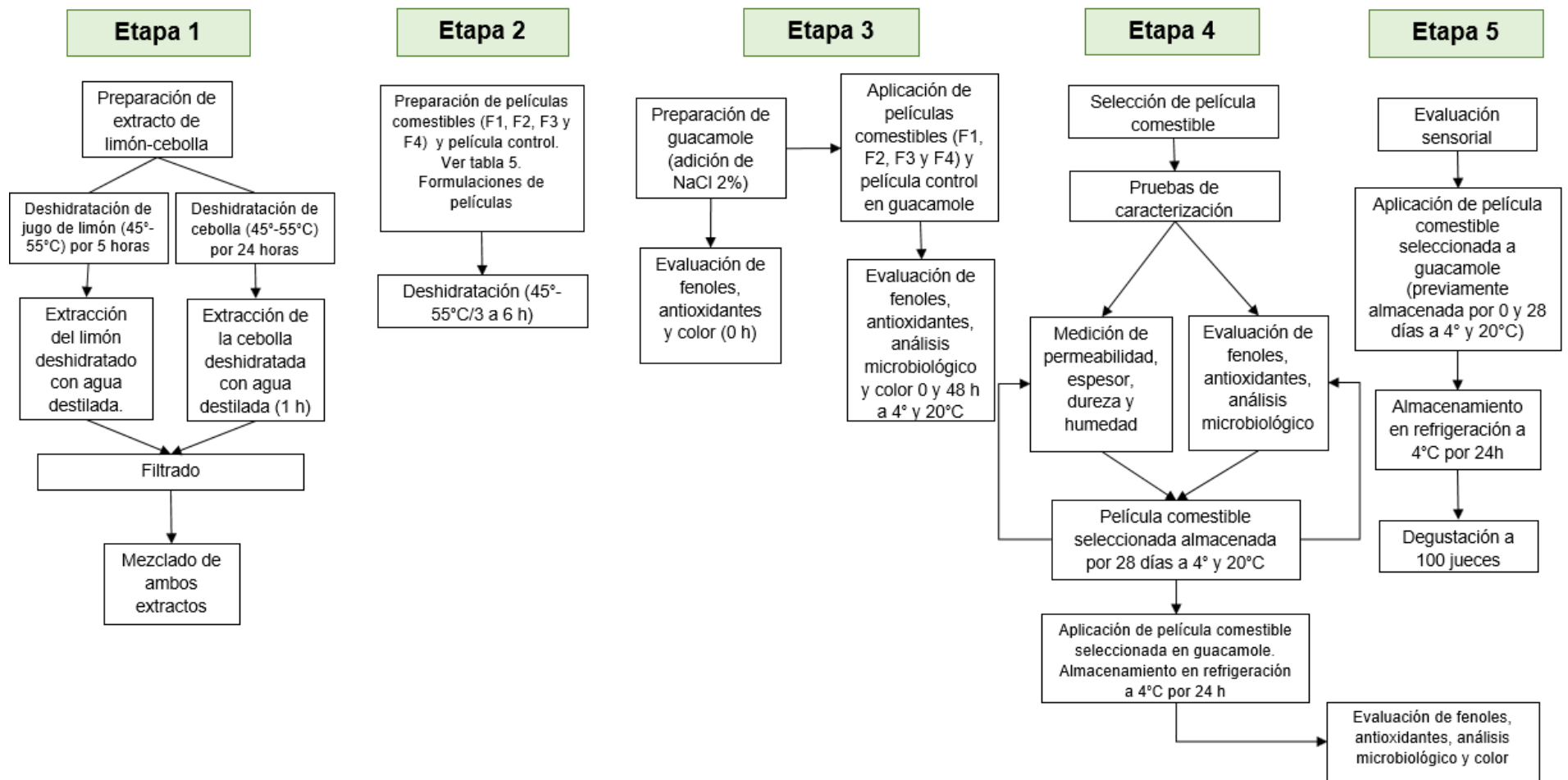


Figura 4. Diagrama de trabajo

6. MATERIALES Y MÉTODOS

- Material de vidrio: el necesario para cada determinación.
- Material biológico: Aguacate variedad Hass, limón y cebolla en buen estado, sin magulladuras o contaminación evidente. Quitosano.
- Reactivos los necesarios para cada determinación grado analítico o grado alimenticio

Tabla 3. Métodos y referencias utilizados en la investigación.

Determinación	Técnica	Referencia
Color	Colorimetría	Rodríguez-Campos et al., (2020)
Compuestos fenólicos	Método espectrofotométrico (Folin-Ciocalteu)	Gao et al., (2004)
Capacidad antioxidante	Método espectrofotométrico (DPPH)	Luna-Guevara et al., (2014)
Bacterias mesofílicas aerobias	Vertido en placa	NOM-092-SSA1-1994
Mohos y levaduras	Vertido en placa	NOM- 092-SSA1-1994
Permeabilidad al vapor de agua	Método gravimétrico	Norma ASTM-E96
Espesor	Torsión de tornillo	Aparicio-Fernández et al., (2018)
Dureza	Resistencia a la tracción	Kumar et al., (2021)
Humedad	Método de secado en horno	Aparicio-Fernández et al., (2018).

Tabla 4. Equipos utilizados en la investigación.

Equipo	Marca	Modelo
Autoclave	CISA	AS-25
Balanza analítica	Ohaus – Serie Pioneer	PA 224C
Centrífuga	Premiere	XC-2450
Colorímetro	PCR	TCR 200
Contador de colonias	SOL-BAT	Q-20
Deshidratador	Excalibur	2900ECB
Horno	Felisa	FE-293AD
Micrómetro	Qfun	IP54
Texturómetro	EZ-test	EZ-SX
Incubadora	LUZUREN	DHP-500
Parrilla digital	Fisher Scientific	Isotemp
Refrigerador	MABE	RMT510

7. METODOLOGÍA

7.1 Preparación de extracto de limón-cebolla

Se prepararon dos extractos, uno de limón y uno de cebolla. El limón y la cebolla se seleccionaron con base en sus características sensoriales, sin lesiones o contaminación evidente. Los limones se lavaron y secaron con papel absorbente. A las cebollas se les eliminó la primera capa no comestible. Para preparar el extracto de limón estos se cortaron y se extrajo el jugo de este, posteriormente se metió a desecador a $40^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 2 a 4 h aproximadamente. Una vez pasado ese tiempo, se resuspendió el limón deshidratado con agua destilada en una relación 1:4 (por cada gramo de limón seco se agregaron 4 mL de agua destilada). Se coló y filtró.

Por otro lado, la cebolla se cortó en cuadros y se metió al desecador a $40^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 24 h. Posteriormente se tomó 1 g de la cebolla deshidratada, esta se colocó en un matraz de 50 mL cubierto con aluminio con 25 mL de agua destilada por 1 h con agitación constante. El extracto se filtró. Ambos extractos se mezclaron en una relación 1:4. Se guardó en refrigeración en un frasco ámbar. Lo anterior se realizó para estandarizar la cantidad de extracto de limón y extracto de cebolla agregado en la formulación de la película comestible.

7.2 Preparación de la películas comestibles (F1, F2, F3, F4 y control)

La elaboración de las películas comestibles se realizó con la metodología propuesta por Kumar et al. (2021) con algunas modificaciones.

Se realizó un estudio preliminar de diversas formulaciones (12) de las cuales se seleccionaron 4 con base en medición de color al ser aplicadas en guacamole. La Tabla 5 nos muestra los componentes y el porcentaje en que fueron formuladas las 4 películas seleccionadas y el control. Las 4 fórmulas tienen en común dos componentes importantes: Quitosano (2%) y glicerina (1%) como base, variando en porcentajes el extracto de limón-cebolla, ácido cítrico y agua. Las diferentes variaciones en los porcentajes de extracto limón-cebolla y ácido cítrico aplicados en las películas se realizaron para evaluar cómo influyen las diferentes concentraciones en la disminución o retardo del oscurecimiento enzimático al ser aplicadas a guacamole y observar así que película resultó mejor y poder relacionarlo con los porcentajes de extracto y ácido cítrico añadido. A las 4 formulaciones y al control se les midió color, se les evaluaron compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y se realizó un análisis microbiológico. Con base en los resultados obtenidos, se seleccionó la película comestible F1 para estudios de caracterización y evaluación sensorial.

Para la preparación de las películas, primero se colocó la cantidad de agua indicada para cada formulación, con la glicerina, se colocó en una parrilla a agitación media, se dejó que se integrara la glicerina por al menos 5 minutos, posteriormente se agregó el ácido cítrico y el extracto. Se dejó en agitación otros 5 min. Por último, se fue agregando poco a poco, pero con agitación rápida el quitosano, una vez agregado todo el quitosano se dejó en agitación rápida unos min y luego se disminuyó poco a poco hasta dejar en una agitación media. Se dejó agitando de 10 a 15 min o hasta que todo el quitosano estuviera perfectamente solubilizado. Se dejó reposar 2 h a 4°C para eliminar burbujas de aire que se pudieran haber formado.

Se formaron cajas de papel estrella de 18 x 12 cm, se colocó el preparado de las formulaciones en cada una de las cajas hasta que quedara toda el área cubierta, se dejó reposar otros 20 min y se metieron al deshidratador por 2 a 3 h a 45°-60°C.

Tabla 5. Formulaciones de películas

	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4	Película Control
Quitosano %	2	2	2	2	2
Glicerina %	1	1	1	1	1
Ac. Cítrico %	2.5	2.5	2	1.5	2.5
Extracto %	1.5	1	2	2	-
Agua %	93	93.5	93	93.5	94.5

7.3 Obtención de guacamole

Se seleccionaron aguacates variedad Hass en su estado óptimo de maduración, con características sensoriales adecuadas y sin lesiones o contaminación evidente. Se lavaron, secaron con papel absorbente y se cortaron para obtener la pulpa. Esta pulpa se colocó en un procesador de alimentos para obtener el puré de aguacate y se le adicionó 2% de NaCl.

7.3.1 Medición de color, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante a guacamole al tiempo 0 h

Se realizó la determinación de color a guacamole preparado, para lo cual se utilizó un colorímetro; se midieron 3 diferentes zonas.

Se determinaron los parámetros L^* (Luminosidad), a^* (+rojo, -verde) y b^* (+amarillo, - azul) que fueron usados para calcular el cambio de color total (ΔE) usando la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$$

Donde L_0^* , a_0^* y b_0^* son los parámetros de color iniciales al tiempo 0 h.

Para el análisis de la capacidad antioxidante se siguió la metodología propuesta por Luna-Guevara et al. (2014) y para la prueba de compuestos fenólicos se siguió el método propuesto por Gao et al. (2004) ambos con modificaciones, para lo cual se realizó una extracción de 10 g de guacamole en 100 mL de una mezcla de agua-acetona en una relación 70:30 (70 mL de acetona y 30 mL de agua), durante 30 min en agitación constante. Transcurrido el tiempo se filtró el extracto obtenido y se repartió en 2 tubos falcon, a un tubo se le agregaron 15 mL de etanol y al otro 15 mL de metanol. Estas diluciones se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min y se continuó con la determinación de la capacidad antioxidante.

Para la capacidad antioxidante se tomó una alícuota de 100 μ L del extracto solubilizado en etanol para un tubo tapado y 100 μ L del extracto solubilizado en metanol para otro tubo tapado, posteriormente se le adicionó a cada uno 900 μ L de disolvente que fue para un tubo agua y para otro etanol y se agregó 1 mL de DPPH. Se mezcló perfectamente, dejando reposar la reacción por 30 min en ausencia de luz, se realizó la lectura de la muestra en espectrofotómetro UV-Vis a 517 nm.

Los compuestos fenólicos totales se determinaron tomando una alícuota de cada extracto que fue solubilizado previamente y se le adicionó 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 0.1 M. La mezcla se dejó en reposo por 3 min a temperatura ambiente en oscuridad. Pasado este tiempo, a la mezcla se le adicionó 1 mL de Na_2CO_3 al 0.5%. La mezcla se dejó reposar 30 minutos en oscuridad y se procedió a su lectura en el espectrofotómetro UV-Vis a 765 nm.

7.4 Aplicación de películas comestibles (F1, F2, F3, F4 y control) a guacamole

Las películas comestibles (F1, F2, F3, F4 y control) se aplicaron sobre guacamoles en cajas Petri. Para poder realizar las determinaciones de compuestos fenólicos, antioxidantes y análisis microbiológico fue necesario mezclar la película al guacamole hasta que esta se integrara completamente en el guacamole.

7.4.1 Medición de color, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

Se realizaron las mismas pruebas mencionadas en el apartado 7.3.1. Para guacamole al que se le aplicaron las películas comestibles (F1, F2, F3, F4 y control). Las mediciones se realizaron al tiempo 0 y 48 h a dos temperaturas de almacenamiento de los guacamoles (4° y 20°C).

7.4.2 Análisis microbiológico

Se procedió a realizar una cuantificación de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) y mohos más levaduras en guacamole al que se le aplicaron las películas comestibles F1, F2, F3, F4 y control. Las mediciones se realizaron al tiempo 0 y 48 h a dos temperaturas de almacenamiento de los guacamoles (4° y 20°C).

Se utilizó la técnica de vertido en placa. De manera general, se tomó 1 g de guacamole con película y se colocó en un tubo con 9 mL de agua peptonada. Se colocó en vortex 1 min. Posteriormente se tomó 1mL de la muestra y se colocó en caja Petri para realizar siembra. Para BMA se usó agar nutritivo y para mohos-levaduras agar papa dextrosa. BMA se incubaron a 37°C ± 2°C durante 24 h. Mohos y levaduras se incubaron a 22°C ± 2°C durante 72 h.

7.5 Selección de película comestible F1 para almacenamiento y pruebas de caracterización

Con base en los parámetros obtenidos en el apartado 7.4, se seleccionó la película comestible F1 para la realización de pruebas de caracterización al tiempo 0 h y para ser sometida a almacenamiento por 28 d a dos diferentes temperaturas (4° y 20°C) y evaluar así cómo se comporta y que tanto afecta la temperatura y el tiempo de almacenamiento las propiedades de la película.

7.5.1 Espesor de película comestible F1 y control

El espesor de la película se determinó utilizando un micrómetro milimétrico. Se tomaron medidas en 5 posiciones aleatorias de la película.

7.5.2 Permeabilidad al vapor de agua a película comestible F1 y control

La permeabilidad al vapor de agua se midió después de la elaboración y el almacenamiento utilizando el método de agua de acuerdo con la Norma ASTM-E96. Se selló con película en la parte superior un recipiente que contenía agua destilada sin que la película tocara el agua. Se selló en sus laterales con Parafilm. Se colocó a 4°C y 25°C para ir pesando cada h por 6 h. La Permeabilidad al vapor de agua se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Permeabilidad al vapor de agua} \left(\frac{g \text{ mm}}{h \text{ m}^2 \text{ kPa}} \right) = \frac{WVTR \times L}{\Delta P}$$

Donde $WVTR$ es la tasa de transmisión de vapor de agua expresada en $(g/h \text{ m}^2)$, L es el espesor de la película (mm) y ΔP es la diferencia entre la presión de vapor de agua parcial (kPa).

7.5.3 Resistencia a la tracción y rotura de película comestible F1 y control

Para esta prueba se utilizó un analizador de textura (EZ-test, EZ-SX, Shimadzu corp., Japón), para lo cual se cortaron rectángulos de película de aproximadamente 3.5 x 6 cm. Estos se sujetaron firmemente en las pinzas del equipo, a una distancia de 3 cm. Se registró la fuerza y la deformación, en el software TRAPEZIUM X Material Testing Operation Software.

Resistencia a la tracción y la resistencia a la rotura se calcularon usando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Resistencia a tracción (MPa)} = \frac{\text{Fuerza máxima (N)}}{\text{espesor (mm)} \times \text{ancho (mm)}}$$

$$\text{Resistencia a la rotura (\%)} = \frac{(L_1 - L_0)}{L_0} \times 100$$

7.5.4 Humedad a película comestible F1 y control

La humedad se determinó mediante secado en horno que debía estar a 105°C hasta peso constante. Se metieron a horno (Felisa) 24 h previas charolas de aluminio perfectamente lavadas y secadas. Se sacaron del horno pasadas las 24 h y se pusieron en desecador por 15 min. Se pesó 1g de película y se regresó a estufa por 5 h aproximadamente. Se sacaron, se metieron a desecador 15 min y se pesaron.

7.5.5 Medición de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante a película comestible F1 y control

Se evaluaron los compuestos fenólicos a ambas películas al tiempo 0 h y después de su almacenamiento por 28 d a 4° y 25°C. Se realizaron dichas mediciones con la metodología propuesta por Gao et al. (2004). Se pesó aproximadamente 1 g de película, se colocó en un vaso con 200 mL de agua, se calentó en parilla con agitación media a 50°C durante 30 min. Una vez pasado ese tiempo, se detuvo la agitación y se dejó reposar por al menos 15 min.

Para la prueba de compuestos fenólicos se tomó 1 mL del sobrenadante de la muestra y se le adicionó 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (0.1 M). La mezcla se dejó en reposo por 3 min a temperatura ambiente en un tubo de vidrio de 10 mL en oscuridad. Pasado este tiempo, a la mezcla se le adicionó 1 mL de Na₂CO₃ al 0.5%. La mezcla se dejó reposar 30 min en oscuridad y se procedió a su lectura en el espectrofotómetro UV-Vis a 765 nm.

Para la evaluación de la capacidad antioxidante a ambas películas al tiempo 0 h y después de su almacenamiento por 28 d a 4° y 25°C se realizó esta medición con la metodología propuesta por Luna-Guevara et al. (2014). Para ello, se tomó una alícuota de 1 mL de muestra, posteriormente se le adicionó 1 mL del reactivo DPPH. Se mezcló perfectamente, dejando reposar la reacción por 30 min en ausencia de luz, se realizó la lectura de la muestra en espectrofotómetro UV-Vis a 517 nm.

7.5.6 Análisis microbiológico a película comestible F1 y control

Se procedió a realizar una cuantificación de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) y mohos más levaduras tanto en la película comestible F1 como en la película control a las 0 h y 28 d después de ser almacenada a 4°C y 25°C.

Se utilizó la técnica de vertido en placa. De manera general, se tomó 1 g de película y se colocó en un tubo con 9 mL de agua peptonada. Se colocó en vortex 1 min. Posteriormente se tomó 1 mL de la muestra y se colocó en caja Petri para realizar siembra. Para BMA se usó agar nutritivo y para Mohos y Levaduras agar papa dextrosa. BMA se incubaron a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. Mohos y levaduras se incubaron a $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 72 h.

7.5.7 Pruebas de caracterización a película F1 28 d después del almacenamiento a 4° y 20°C
Se realizaron las mismas pruebas de caracterización a la película comestible F1 de los apartados 7.5.1, 7.5.2, 7.5.3, 7.5.4, 7.5.5, 7.5.6 y 7.5.7.

7.6 Aplicación de película comestible F1 almacenada a 4° y 20°C a guacamole

7.6.1 Evaluación de color, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y análisis microbiológico a guacamole con película comestible F1 almacenado por 24 h a 4°C .

Se realizaron las mismas pruebas mencionadas en el apartado 7.3.1. y 7.4.2 para evaluar así cómo se comporta la película en el guacamole y que tanto afecta el tiempo de almacenamiento las propiedades de la película y guacamole.

7.7 Evaluación sensorial a película F1

Se realizó una evaluación sensorial a la película comestible F1 al tiempo 0 h y después de 28 d de almacenamiento a dos temperaturas (4° y 20°C) para lo cual se elaboraron aproximadamente 300 g de guacamole al cual se le colocó la película F1, cuidando de eliminar todas las burbujas. El guacamole con la película se almacenó a 4°C por 24 h. Pasadas esas 24 h se mezcló y se reservó. Por otro lado, se elaboraron otros 300 g de guacamole fresco control que contenía ácido cítrico (2.5%), sal (2%) y extracto de limón-cebolla (1.5%) en los mismos porcentajes que fueron usados para la elaboración de la película comestible F1. Ambos guacamoles (control fresco y con película) se dieron a probar a cien estudiantes de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla a quienes se les preguntó si consumían regularmente guacamole para poder realizar la evaluación.

La aceptación del consumidor se evaluó a través de una escala hedónica de 7 puntos, donde 1 significa que me disgusta mucho y 7 significa que me gusta mucho. Se evaluó el olor, color, sabor, textura y aceptación en general del guacamole con película y del guacamole control.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Medición de color, fenoles y antioxidantes a guacamole con películas comestibles (F1, F2, F3, F4 y control) al tiempo 0 y 48 h a 4° y 20°C

La Tabla 6 muestra la evaluación del color que se realizó al guacamole recubierto con las 4 películas comestibles formuladas y a guacamole control sin ningún recubrimiento al inicio y después de 48 h de almacenamiento a 4°C y 20°C. Como se puede observar, a las 48 h de almacenamiento hay una disminución en los valores de L^* (luminosidad, principal indicador de pardeamiento) de todos los guacamoles recubiertos con las películas comestibles a ambas temperaturas, teniendo una menor disminución de este valor los guacamoles recubiertos con las películas comestibles y almacenados a 4°C, en comparación con el control sin película comestible almacenado a 20°C. Por otra parte, el parámetro de color a^* incrementó durante el almacenamiento, lo que se puede traducir como la pérdida del color verde y la aparición del color rojo, fenómeno asociado a la degradación de la clorofila (pigmento responsable del color verde de frutas y verduras). Cortés-Rodríguez et al. (2019) obtuvieron valores similares a los reportados en este trabajo para los parámetros de $L^*= 47,3$ a $54,6$, $a^*= -7,3$ a $-4,6$ y $b^*= 31,76$ a $36,1$.

Además, las bajas temperaturas (4°C) presentan una menor afectación en el color (L^* , a^* y b^*) esto se debe a que las enzimas, como la polifenol oxidasa, disminuyen su actividad a medida que disminuye la temperatura, además, es importante recordar que varios procesos metabólicos y fisiológicos que se llevan a cabo dentro del aguacate se detienen por estas disminuciones de temperatura. (Vega et al., 2020). Lo dicho anteriormente se puede corroborar con el cambio neto de color (ΔE). En donde podemos apreciar que el menor cambio de color se presenta en el guacamole recubierto con la película comestible F1 y almacenado a 4°C ($\Delta E= 5.92$).

Rodríguez-Campos et al. (2020) obtuvieron valores superiores de ΔE (18.1 a 42.2) a los encontrados en este estudio debido a que aplicaron los extractos de limón y de cebolla directamente en el guacamole y no en forma de película. Al aplicarlo en forma de película comestible se limita el contacto del guacamole con el oxígeno, principal factor de la oxidación y responsable de las reacciones que conducen al pardeamiento enzimático (Ramos et al., 2012). El pardeamiento de la

fruta es causado por la actividad enzimática de la polifenol oxidasa presente en diversas frutas y verduras, como es el caso del aguacate. Sin embargo, el ácido cítrico presente en el limón por su actividad quelante y efecto reductor del pH y los flavonoides presentes en la cebolla que irrumpen en la reacción oxidativa de la enzima actúan como buenos inhibidores de la actividad de esta y otras enzimas, además de la combinación con la temperatura de almacenamiento, que retrasa la actividad enzimática. Con los parámetros evaluados en este estudio, se concluye que la película comestible F1 aplicada a guacamole y almacenado a 4°C, presenta un menor cambio de color.

La Figura 5 nos muestra la aplicación de las películas comestibles F1, F2, F3, F4 y Control a guacamole. En la Figura 5a se aprecia el guacamole recubierto a las 0 h, se observa el color verde del aguacate en perfecto estado, en comparación con la Figura 5b donde 48 h después se observa cómo las películas mantienen el color verde característico del guacamole, sin embargo, en el guacamole control sin ningún recubrimiento se observa un marcado oscurecimiento.

Figura 5a: se muestra la aplicación de las películas comestibles F1, F2, F3, F4 y Control a guacamole a las 0 h.

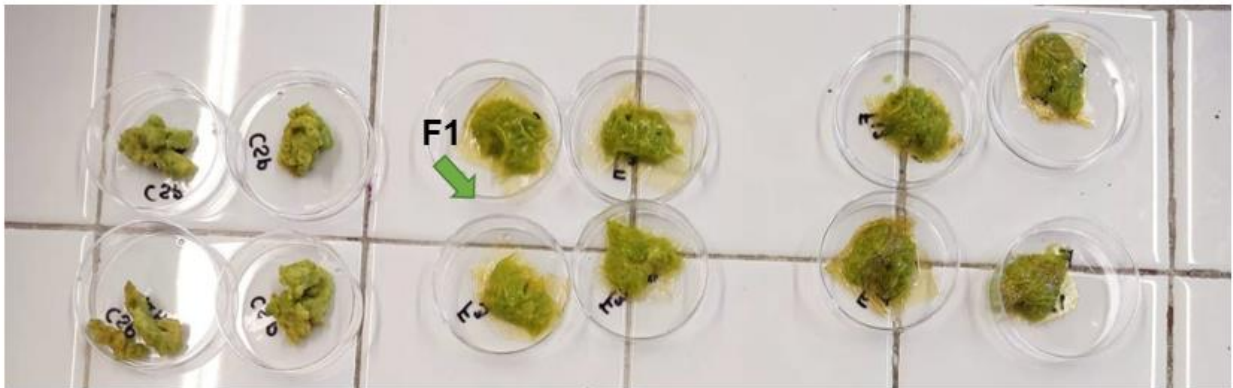


Figura 5b: guacamole con películas comestibles 48 h después.

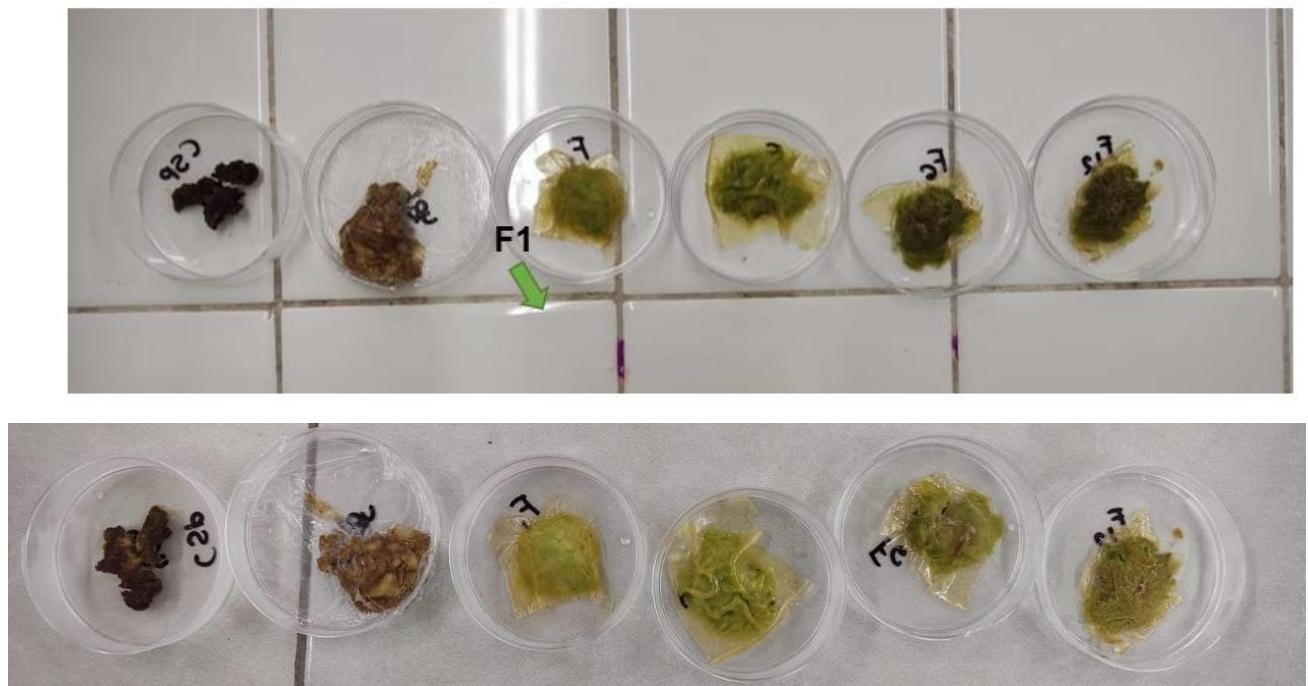


Figura 5. Aplicación de películas comestibles sobre guacamole.

Tabla 6. Cambio de color de guacamole recubierto con las 4 películas comestibles seleccionadas a las 0 y 48 h a 4° y 20°C.

		Temperatura Tiempo (h)		L^*	a^*	b^*	ΔE
F1	4°C	0		51.58 ± 3.51 _a	-7.68 ± 1.34 _b	21.52 ± 2.49 _a	0
		48		53.55 ± 10.99 _a	-4.73 ± 0.17 _a	25.25 ± 0.48 _a	5.92
	20°C	0		38.40 ± 0.55 _a	-8.15 ± 0.52 _b	24.24 ± 1.81 _b	0
		48		33.75 ± 1.66 _b	-1.80 ± 0.33 _a	32.73 ± 1.15 _a	11.79
F2	4°C	0		51.32 ± 1.75 _a	-12.69 ± 1.75 _b	22.77 ± 5.42 _a	0
		48		40.92 ± 0.32 _b	-0.97 ± 0.27 _a	13.24 ± 0.63 _b	18.77
	20°C	0		40.30 ± 1.68 _a	-7.80 ± 0.98 _b	24.46 ± 1.68 _b	0
		48		35.08 ± 2.68 _b	-1.24 ± 0.08 _a	28.21 ± 0.47 _a	9.61
F3	4°C	0		48.09 ± 3.06 _a	-7.41 ± 0.84 _b	14.39 ± 7.75 _a	0
		48		40.68 ± 0.25 _b	0.08 ± 0.03 _a	12.44 ± 0.25 _a	12.2
	20°C	0		37.80 ± 1.82 _a	-8.95 ± 1.87 _b	28.27 ± 1.82 _a	0
		48		29.28 ± 1.44 _b	0.13 ± 0.28 _a	26.59 ± 3.09 _a	12.6
F4	4°C	0		51.57 ± 6.34 _a	-10.42 ± 1.09 _b	29.14 ± 6.07 _a	0
		48		43.85 ± 0.19 _a	-3.89 ± 0.19 _a	18.56 ± 0.09 _b	14.64
	20°C	0		42.97 ± 1.96 _a	-8.51 ± 0.95 _b	31.10 ± 2.19 _a	0.00
		48		24.66 ± 2.76 _b	2.62 ± 0.89 _a	29.62 ± 1.64 _a	21.48
Control	4°C	0		39.71 ± 4.85 _a	-6.22 ± 1.00 _b	16.36 ± 1.40 _a	0
		48		29.91 ± 0.53 _b	3.44 ± 0.19 _a	-6.05 ± 1.55 _b	15.28
	20°C	0		39.83 ± 1.97 _a	-8.60 ± 1.13 _b	18.46 ± 2.57 _a	0
		48		14.63 ± 0.68 _b	2.15 ± 0.78 _a	11.75 ± 1.36 _b	21.53

Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes para el mismo parámetro de color indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

La Figura 6 muestra la evaluación de compuestos fenólicos en guacamole recubierto con las 4 formulaciones de películas comestibles, la película control y el control sin película a las 0 y 48 h a 4° y 20°C. Como se observa, hay un leve aumento de estos compuestos fenólicos al usar las películas comestibles formuladas en comparación con el control. Los valores más altos los podemos observar a las 0 h con la película comestible F1 (33.51 ± 2.01 mg GAE/100g). Por otro lado, 48 h después se ven afectados estos compuestos fenólicos, ya que se redujeron en todos los sistemas y no se observa una diferencia significativa en las 4 formulaciones ($p > 0.05$). Sin embargo, la mayor afectación se presenta en la película comestible F1 ya que presenta el valor más alto al tiempo 0 y luego baja a los mismos niveles de las demás formulaciones y la menor afectación se observa en la película comestible F2, donde a las 48 h no reduce tanto sus niveles, comparado a las 0 h (de 21.29 ± 2.14 mg GAE/100g a 19.73 ± 2.23 mg GAE/100g a 4°C y 16.62 ± 2.75 mg GAE/100g a 20°C). Rodríguez-Carpena et al. (2011), obtuvieron valores de 17.19-22.62 mg GAE/100g en pulpa de aguacate variedad Hass, estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio. Dentro de los compuestos fenólicos más importantes, los flavonoides ocupan uno de los lugares más importantes y que se encuentran presentes en la cebolla, la cual fue usada para la preparación del extracto, los cuales muestran una marcada actividad contra agentes oxidantes (Lim et al., 2019).

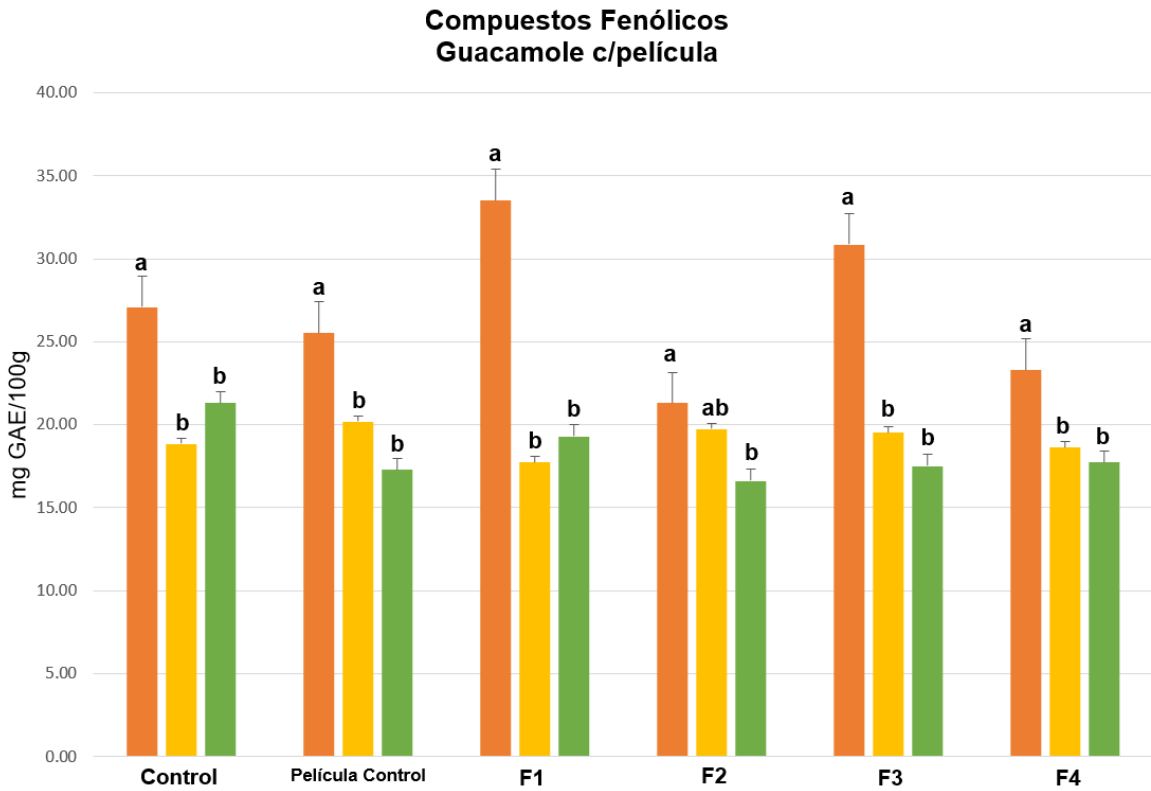


Figura 6. Evaluación de compuestos fenólicos totales de guacamole recubierto con las 4 películas comestibles seleccionadas a las 0 y 48 h a 4° y 20°C. Columna naranja: 0 h, columna amarilla: 48 h de almacenamiento a 4°C, columna verde: 48 h de almacenamiento a 20°C. Letras diferentes en cada grupo de columnas indica diferencias significativas ($p < 0.05$).

La Figura 7 muestra la capacidad antioxidante en guacamole recubierto con las 4 formulaciones de películas, la película control y el control sin película a las 0 y 48 h a 4° y 20°C. Se observa un marcado aumento en la capacidad antioxidante a las 0 h en los guacamoles recubiertos con las películas comestibles formuladas e incluso con la película control, en comparación con el control sin ninguna película, debiéndose esto al enriquecimiento en las formulaciones de las películas comestibles con el extracto de limón-cebolla y el ácido cítrico, teniendo el valor más alto (no significativo, $p > 0.05$) a ese tiempo la película comestible F2 (57.37 ± 5.77 mg Trolox/100g). Sin embargo, se observa una caída de estos valores a las 48 h, siendo más notoria a temperatura ambiente (20°C) que a 4°C, pero se observa que la película comestible F1 a 4°C presenta el valor más alto de antioxidantes (55.77 ± 12.91 mg Trolox/100g).

Comparando estos resultados con los obtenidos por Rodríguez-Carpena et al. (2011) quienes indicaron valores de 8.0 a 9.25 mg Trolox/100g tras evaluar la capacidad antioxidante de la pulpa de aguacate, los resultados logrados en este estudio son superiores (29.73 ± 5.67 a 57.37 ± 5.77 mg Trolox/100g) y se puede inferir que el efecto se debe al enriquecimiento con antioxidantes a las películas formuladas, que están presentes tanto en el limón (ácido cítrico y ácido ascórbico) y los flavonoides presentes en la cebolla, que poseen la capacidad de capturar los radicales libres formados por la oxidación. Algunos compuestos antioxidantes, como los usados en este estudio, pueden actuar de manera sinérgica, para disminuir la oxidación que se presenta en la pulpa de aguacate. Esto se debe probablemente a la acción del ácido ascórbico y los flavonoides presentes en el extracto de limón-cebolla usado en este estudio, que muestran actividad sinérgica con el y-tocoferol, agente protector contra la oxidación. Se ha estudiado que el tocoferol actúa como un antioxidante cuando dona sus H^+ a radicales peroxi alilo o alquilo (intermediarios de reacciones que tienen un e- desapareado), al donar su H^+ , los tocoferoles se desestabilizan y para poder reestablecerse necesitan recuperar su H^+ , es por ello que al agregar ácido cítrico y el extracto de limón-cebolla, los flavonoides y el ácido ascórbico presentes en dicho extracto le van a donar un H^+ para regenerar los tocoferoles y evitar así una mayor oxidación (Rodríguez-Campos et al., 2020). A partir de los resultados obtenidos se puede decir que la actividad antioxidante se vio afectada por las formulaciones de las películas comestibles, siendo mejor la película comestible F1, tanto en porcentaje de adición de ácido cítrico como en extracto de limón-cebolla, como por

las condiciones de almacenamiento. Además, la actividad antioxidante de la película comestible F1 fue mayor a 4°C.

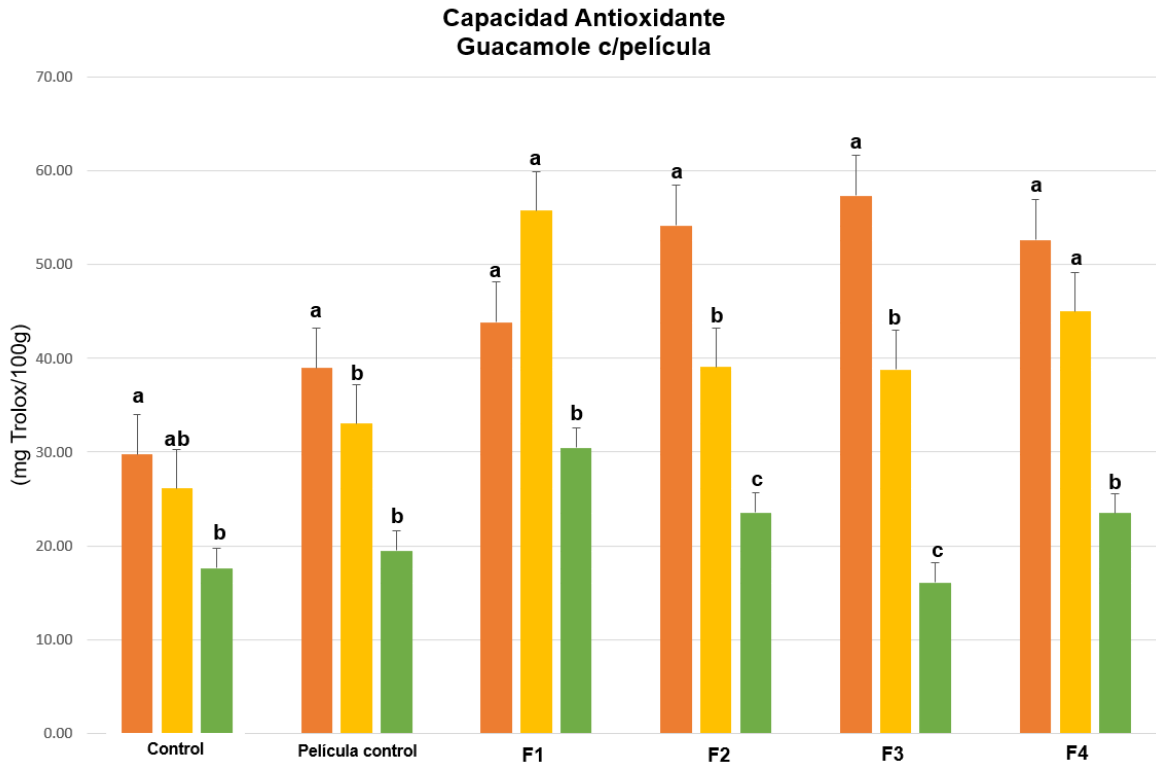


Figura 7. Evaluación de capacidad antioxidante de guacamole recubierto con las 4 películas seleccionadas a las 0 y 48 h a 4° y 20°C. Columna naranja: 0 h, columna amarilla: 48 h de almacenamiento a 4°C, columna verde: 48 h de almacenamiento a 20°C. Letras diferentes en cada grupo de columnas indica diferencias significativas ($p < 0.05$).

Las películas y recubrimientos comestibles son finas capas formuladas que, al ser aplicadas sobre la superficie de algún alimento o fruto, funcionan como una barrera frente a diversos agentes externos y brindan protección frente a distintos microorganismos (Ramos et al., 2012). La base para la formulación de las películas usadas en este estudio es el quitosano, el cual es un biopolímero cuya característica principal es su propiedad antimicrobiana. El quitosano inhibe el crecimiento de algunas bacterias tanto Gram negativas como Gram positivas, así como mohos y levaduras (Sahariah y Masson, 2017). En la Tabla 7 podemos observar el crecimiento de Bacterias Mesofílicas Aerobias y Mohos y Levaduras en guacamole recubierto y sin recubrimiento, mostrando el promedio de las UFC/g obtenidas.

De acuerdo con las Norma Oficial Mexicana 093 para las Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos, el rango de colonias adecuadas es de 150, 000 UFC/g. En este aspecto, se observa en la tabla 7 como al inicio del almacenamiento los recuentos tanto de BMA como de mohos y levaduras se encuentran en rango, tanto en el control sin recubrimiento como en los guacamoles con recubrimiento; debiéndose esto principalmente a que se realizaron buenas prácticas de manufactura tanto para la preparación del guacamole y la aplicación de la película.. Después de 48 h de almacenamiento a 4° y 20°C, se observa un aumento en los recuentos microbianos, siendo mayores en el control sin ningún recubrimiento. Se puede observar cómo en ambas temperaturas de almacenamiento y con las diferentes películas no hay una diferencia significativa en los recuentos ($p>0.05$). Como ya se mencionó, donde sí observamos un aumento notorio es en el control sin recubrimiento a ambas temperaturas, esto debido a que, al estar expuesto al ambiente, es más fácil para los microorganismos estar en contacto con el alimento y contaminarlo. La importancia de las películas radica en que los guacamoles recubiertos y almacenados a ambas temperaturas mantienen sus recuentos bajos, no llegando a superar las 40 UFC/g tanto de bacterias aerobias y de mohos más levaduras no mayor a 10 UFC/g, encontrándose en los rangos que nos indica la norma para ambos grupos de microorganismos, cumpliendo así su función de barrera. Además del quitosano que evidentemente muestra su efecto antimicrobiano con los resultados obtenidos, podemos atribuir también como los demás componentes de la formulación (extracto de limón-cebolla y ácido cítrico) están involucrados en la inhibición de la actividad antimicrobiana tanto en la acidificación del medio y por las propiedades de la cebolla.

De acuerdo con los resultados obtenidos al estudiar los comportamientos de las 4 formulaciones realizadas, se seleccionó la película comestible F1 para realizar los estudios de caracterización y pruebas de almacenamiento a 0 y 28 d.

Tabla 7. Crecimiento de Mohos y Levaduras y BMA en aguacate recubierto con las 4 películas comestibles formuladas, así como la película control y el control sin ninguna protección al tiempo 0 y 48 h a 4° y 20°C.

	Mohos y levaduras (UFC/g)			BMA (UFC/g)		
	0	48 h 20°C	48h 4°C	0	48 h 20°C	48h 4°C
Control	6±1.25 _b	84±8.58 _a	10±0.95 _b	53±6.45 _b	92±8.42 _a	39±18.38 _b
Película control	8 ±2.16 _a	10±2.38 _a	6±1.5 _a	22±2.98 _b	34±3.86 _a	31±4.57 _a
F1	2±0.5 _a	3± 1.15 _a	2±1.26 _a	13±4.64 _a	21±6.73 _a	17±5.94 _a
F2	3±1.82 _a	3±0.81 _a	3±0.81 _a	11±3.77 _a	23±4.42 _a	20±8.53 _a
F3	3±1.63 _b	5±0.95 _a	3±0.5 _b	15±2.75 _a	24±7.59 _a	17±5.37 _a
F4	1±0.81 _c	6±0.95 _a	3±0.82 _b	19±3.86 _b	34±3.65 _a	14±8.09 _b

Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en cada grupo de recuento indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

De acuerdo con los resultados obtenidos de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, color y análisis microbiológico al estudiar los comportamientos de las 4 formulaciones realizadas y la película control, se seleccionó la película comestible F1, esto porque la película comestible F1 aplicada a guacamole y almacenado a 4°C, presenta el menor cambio de color, una mayor actividad antioxidante y una buena inhibición del crecimiento microbiano. Dado lo anterior, la película comestible F1 fue usada para realizar los estudios de caracterización y pruebas de almacenamiento a 0 y 28 d.

8.2 Caracterización de película comestible F1 seleccionada

En la Tabla 8 se muestran los resultados de las evaluaciones de las propiedades físicas, mecánicas, antioxidantes y microbianas realizadas a la película comestible F1 comparadas con la película comestible control al inicio y 28 d después del almacenamiento a 4° y 20°C. Cabe destacar la importancia de la evaluación de las propiedades mecánicas, ya que nos indican la manejabilidad, durabilidad y aplicación de las películas comestibles y la capacidad que tienen para mantener la integridad de los alimentos durante su manipulación y almacenamiento (Homez et al., 2018).

El porcentaje de humedad para la película comestible F1 se encuentra en un rango del 13 al 15% a ambas temperaturas de almacenamiento, mostrando una reducción menor al 2% con respecto a la película control. Un porcentaje bajo de humedad, en general, nos indica que se tuvo una rápida evaporación del agua con la que es formulada la película, evitando el paso de formación de gel por la reorganización estructural que puede sufrir la película si no es secada a altas temperaturas en un periodo de tiempo corto. Por otro lado, al almacenar las películas en bolsas herméticas se limitó la transferencia de humedad en el ambiente en que se encontraba la película, lo cual puede verse reflejado en esta mínima reducción después de 28 d. Porcentajes muy similares de % de humedad, resistencia a la rotura y permeabilidad al vapor de agua en rangos de 10.8 al 31.3%, 1.5 y 42% y 0.27×10^{-11} a 92.2×10^{-11} respectivamente obtuvieron Homez et al (2018).

La resistencia a la tracción es la capacidad de un material para resistir la fractura cuando se somete a un estiramiento en direcciones contrarias. Podemos observar cómo esta resistencia aumenta significativamente cuando la película comestible F1 fue almacenada a 20°C, esto debido a que la resistencia a la tracción aumenta al aumentar la temperatura, ya que se promueve una mayor interacción entre las cadenas poliméricas, además esta interacción disminuye el volumen lo que se refleja en la reducción del espesor; caso contrario sucede con la resistencia a la rotura, ya que esta disminuye cuando la temperatura aumenta y viceversa, lo que se corrobora con los datos obtenidos, ya que observamos como la resistencia a la rotura disminuyó en la película almacenada a 20°C y aumentó en la película almacenada a 4°C.

La permeabilidad refleja la capacidad de la película para prevenir o reducir la transferencia de humedad entre el alimento y su entorno; la película comestible F1 que fue almacenada a 4°C

muestra la menor disminución en comparación al tiempo 0 h, esto debido a que una menor temperatura de almacenamiento da como resultado formación de áreas amorfas que permiten que el agua penetre.

Finalmente se observa como los recuentos de BMA y Hongos y Levaduras se mantienen con una carga microbiana baja, sin una diferencia significativa ($p>0.05$) a pesar del tiempo y temperatura de almacenamiento, así como se mantienen constantes la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos, sin mostrar diferencia significativa ($p>0.05$). Estos resultados son de vital importancia ya que nos indican que la película comestible F1 es estable durante el tiempo de almacenamiento, dejando claro que tanto sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes no cambian, lo cual hace que esta película exhiba características adecuadas para ser aplicada en alimentos, en este caso guacamole.

La Figura 8a nos muestra la película comestible F1 a las 0 h, previo a su almacenamiento, mientras que la Figura 8b nos muestra a las películas comestibles F1 28 d después de su almacenamiento a 4° y 20°C.



Figura 8a: película comestible F1 a las 0 h, previo a su almacenamiento.

Figura 8b: películas comestibles F1 28 días después de su almacenamiento a 4° y 20°C.



Película F1 almacenada 28 días a 20°C



Película F1 almacenada 28 días a 4°C

Figura 8. Películas comestibles F1

Tabla 8. Caracterización y evaluación de la estabilidad de la película comestible F1.

Características	0 d		28 d
	F1	F1 4°C	F1 20°C
Humedad (%)	17.20 ± 0.33 _a	13.21 ± 0.66 _b	14.60 ± 0.13 _b
Resistencia a la tracción (MPa)	0.61 ± 0.08 _a _b	0.57 ± 0.10 _b	1.15 ± 0.45 _a
Resistencia a la rotura (%)	60.02 ± 0.08 _a	63.70 ± 6.00 _a	58.81 ± 0.02 _a
Espesor (mm)	0.14 ± 0.01 _a	0.13 ± 0.06 _a	0.08 ± 0.03 _a
Permeabilidad (*10 ¹⁰)	5.44 ± 0.79 _a	4.58 ± 0.95 _a	4.05 ± 1.37 _a
BMA (UFC/mL)	< 10 UFC/mL	19 ± 5.1 _a	21 ± 4.35 _a
Mohos y Levaduras (UFC/mL)	< 10 UFC/mL	2 ± 1.64 _a	3 ± 1.30 _a
Compuestos fenólicos (mg GAE/100 g)	1781.3 ± 71.6 _a	1754.7 ± 165.2 _a	1670.2 ± 199.1 _a
Capacidad antioxidante (mg Trolox/100g)	38.70 ± 1.90 _a	37.66 ± 1.90 _a	40.92 ± 8.70 _a

Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en cada parámetro indica diferencias significativas (p < 0.05).

En la Tabla 9 se observan los resultados de la estabilidad de la película comestible F1 en guacamole. Como se observa, el recuento de Bacterias Mesofílicas Aerobias, así como el de Hongos y Levaduras no muestra aumento significativo ($p>0.05$) durante el almacenamiento, presentando una carga microbiana baja. Podemos decir que, a pesar de los 28 d de almacenamiento de la película comestible F1 a ambas temperaturas, la película comestible no sufrió afectación alguna en cuanto a sus propiedades de barrera e inhibición de agentes microbianos, en comparación a los 0 d.

Por otro lado, los compuestos fenólicos muestran una reducción mínima del día 0 a los 28 d de almacenamiento de la película comestible F1, sin embargo, la capacidad antioxidante muestra una reducción cercana al 50%. Esto quizá lo podamos atribuir al tiempo de almacenamiento de la película junto con el guacamole, que fue de 24 h en refrigeración, donde al almacenarse el guacamole a pesar de tener la película comestible, no se puede evitar por completo la oxidación de los compuestos propios del guacamole, lo cual se puede ver reflejado al momento de hacer la evaluación de dichos compuestos, pues como se observa en la Tabla 8 donde se realizó la evaluación de la pura película comestible F1, no hay una reducción tan drástica de los compuestos fenólicos ni de la capacidad antioxidante en comparación con lo mostrado en la Tabla 9.

Finalmente, se realizó una medición de color, evaluando los parámetros de L^* , a^* y b^* . Como se observa en esta tabla, no hay diferencia significativa ($p>0.05$) en cuanto a los parámetros de color del día 0 con respecto a los 28 d de almacenamiento de la película comestible F1. Esto nos indica que la película comestible F1 a pesar del periodo de almacenamiento que tuvo, evita la pérdida del color verde y el pardeamiento se ve controlado. En general, la estabilidad del guacamole al usar una película comestible F1 que fue almacenada durante 28 d a diferentes temperaturas (4° y 20°C) no se ve afectada.

Tabla 9. Aplicación en guacamole de la película comestible F1, almacenada durante 28 d a 4° y 20°C.

Parámetros	0 días	28 días	
		Guacamole con película F1 almacenada a 4°C por 24 h	Guacamole con película F1 almacenada a 20°C por 24 h
BMA (UFC/g)	13±4.64 _a	9±2.44 _a	10±1.70 _a
Mohos y levaduras (UFC/g)	2±0.5 _a	4±0.96 _a	6±0.96 _a
Compuestos fenólicos (mg GAE/100g)	33.51±2.01 _a	23.84±0.16 _b	21.74±0.73 _c
Capacidad Antioxidante (mg Trolox/100g)	43.84±5.82 _a	18.93±2.82 _b	20.84±0.89 _b
<i>L*</i>	51.58±3.51 _a	48.2±9.37 _a	45.13±5.23 _a
<i>a*</i>	-7.68±1.34 _a	-7.50±1.34 _a	-9.35±1.18 _a
<i>b*</i>	21.52±2.49 _a	29.6±5.68 _a	23.82±5.25 _a

Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en cada parámetro indica diferencias significativas ($p < 0.05$).

En la Tabla 10 se muestran los resultados obtenidos del estudio de aceptación sensorial realizado a la película comestible F1 aplicada en guacamole, en el cual se evaluaron las propiedades sensoriales como el aroma, color, sabor, textura y la aceptación en general tanto de guacamole fresco como en guacamole con la película aplicada y almacenado durante 24h a 4°C. Después de ese tiempo, el guacamole con la película comestible F1 se mezcló y se usó para la evaluación sensorial.

Como se observa, el promedio general de las características sensoriales tanto del guacamole control fresco (ácido cítrico 2.5%, sal 2% y extracto de limón-cebolla 1.5%) y del guacamole con película comestible F1 se encuentra en los valores de 5 y 6 de la escala hedónica de 7 puntos que se realizó, el valor de 5 corresponde a me gusta y el 6 corresponde a me gusta mucho; lo que significa que en todos los parámetros sensoriales evaluados, ambos guacamoles fueron bien aceptados por los consumidores y no percibieron la adición de la película comestible ni que el guacamole ya presentaba 24 h de almacenamiento, mucho menos se hizo notorio que las películas presentaban 28 d de almacenamiento, lo cual nos indica que no hay pérdida de sabores ni olores por parte de la película comestible F1 a pesar del tiempo y temperaturas de almacenamiento.

Por otro lado, la aceptación general del guacamole adicionado con la película comestible F1 tanto a los 0 d como a los 28 d de almacenamiento fue mayor que el guacamole control y esto se puede deber a que el guacamole con la película conserva un mejor sabor que el guacamole control, a pesar de tener el mismo extracto de limón-cebolla.

Un estudio de evaluación sensorial similar lo realizaron Rodríguez-Campos et al. (2020), donde se evaluó la aceptación sensorial de guacamole con adición de extractos de limón y cebolla, similares a los usados en la formulación de la película de este estudio. Su escala hedónica fue de 9 puntos y obtuvieron valores de 6 a 8, donde el 6 es me gusta poco y 8 me gusta mucho. Por lo anterior se infiere que el uso de estos extractos aplicados a la película y usada en el guacamole resulta atractivo para los consumidores, puesto que estos sabores no los perciben como algo extraño, sino como una característica del guacamole.

Tabla 10. Evaluación sensorial de guacamole con aplicación de película comestible F1 almacenada durante 28 d a 4° y 20°C.

Características sensoriales	0 días		28 días	
	Control	Guacamole con película comestible F1	Guacamole con película almacenada a 4°C	Guacamole con película almacenada a 20°C
Aroma	5.33±1.11 _a	5.48±1.30 _a	5.48±1.18 _a	5.17±1.13 _a
Color	6.05±0.83 _a	5.92±0.86 _a	5.85±1.01 _{ab}	5.51±1.18 _b
Sabor	5.33±1.28 _a	5.75±1.12 _a	5.71±1.23 _a	5.32±1.22 _a
Textura	5.58±1.32 _b	5.98±1.07 _a	5.89±0.87 _{ab}	5.61±1.04 _{ab}
Aceptación en general	5.49±1.21 _b	5.9±0.97 _a	5.88±0.82 _a	5.45±1.07 _b

Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en cada característica sensorial indica diferencias significativas ($p < 0.05$).

9. CONCLUSIONES

- Se logró la formulación de películas comestibles a base de quitosano, ácido cítrico y extracto de limón-cebolla, las cuales al ser aplicadas en guacamole lograron controlar el pardeamiento para así mantener el color verde característico de este, así como aumentar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante y reducir la carga microbiana durante 48h de almacenamiento a 4° y 20°C
- Se seleccionó una formulación de película comestible (F1) para su almacenamiento durante 28 d a 4° y 20°C y posteriormente realizarle pruebas de caracterización, las cuales demostraron que esta se mantenía estable durante el tiempo de almacenamiento, ya que sus propiedades físicas y mecánicas, así como sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas no mostraron cambios significativos.
- El guacamole al usar una película comestible F1, mantuvo el característico color verde, además de que inhibió el crecimiento microbiano y el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante se conservaron a pesar de los 28 d de almacenamiento que tuvo la película comestible.
- La evaluación sensorial realizada al guacamole con película comestible F1 mostró una buena aceptación comparada con guacamole fresco.
- La película comestible F1 presenta una capacidad antioxidante superior a lo reportado para guacamole, esto debido en gran medida a que la película está enriquecida con el extracto de limón-cebolla y el ácido cítrico, componentes ricos en antioxidantes y que reducen en gran medida el oscurecimiento enzimático.

10. RECOMENDACIONES

- Medir la actividad de la enzima polifenol oxidasa, ya que esta es la principal enzima responsable del pardeamiento enzimático en frutas como el aguacate.
- Evaluar la aplicación de la película en aguacate cortado, como si fuera una especie de papel filme.

11. REFERENCIAS

- Alata-Mayhuire, E., Cuadros-Huamaní, Y., Miranda-Zanardi, L., & Medina-de- Miranda, E. (2019). Biopelículas producidas con cáscara de naranja y reforzadas con celulosa bacteriana. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85, 231-241.
- Aparicio-Fernández, X., Vega-Ahuatzin, A., Ochoa-Velasco, C. E., Cid-Pérez, S., Hernández-Carranza, P., & Ávila-Sosa, R. (2018). Physical and antioxidant characterization of edible films added with red prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) cv. San Martín peel and/or its aqueous extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 368–379.
- Barrientos, A., Muñoz, R., Reyes, J.C., Borys, M., & Martínez, M.T. (2008). Taxonomía, cultivares y portainjertos. *El aguacate y su manejo integrado*. Mundi Prensa México, 29-62.
- Bustos, M.C., Mazzobre, M.F., & Buera, M.P. (2015). Stabilization of refrigerated avocado pulp: Effect of *Allium* and *Brassica* extracts on enzymatic browning. *LWT-Food Science and Technology*, 61, 89-97.
- Bustos, M. C., Mazzobre, M. F., & Buera, M. P. (2017). Stabilization of refrigerated avocado pulp: chemometrics-assessed antibrowning *allium* and *brassica* extracts as effective lipid oxidation retardants. *Food and Bioprocess Technology*, 10, 1142–1153.
- Cerqueira, M.A., Souza, B., Teixeira, J., & Vicente, A. (2012). Effects of interactions between the constituents of chitosan-edible films on their physical properties. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 3181–3192.
- Chen, M., Runge, T., Wang, L., Li, R., Feng, J., Shu, X-L., & Shi, Q-C. (2018). Hydrogen bonding impact on chitosan plasticization. *Carbohydrate Polymers*, 200, 115–121.
- Cortés-Rodríguez, M., Orrego-Vargas, F.S., & Rodríguez-Sandoval, E. (2019) Optimization of guacamole formulation made with avocado powder and fresh avocado. *Revista DYNA*, 86, 126-134.

De'Nobili, M. D., Soria, M., Martinefski, M. R., Tripodi, V. P., Fissore, E. N., & Rojas, A. M. (2016). Stability of L-(+)-ascorbic acid in alginate edible films loaded with citric acid for antioxidant food preservation. *Journal of Food Engineering*, 175, 1–7.

Duarte, P.F., Chaves, M.A., Borges, C.D., & Mendonça, C.R.B. (2016). Avocado: characteristics, health benefits and uses. *Ciencia Rural*, 46, 747-754.

Eca, K. S., Sartori, T., & Menegalli, F. C. (2014). Films and edible coatings containing antioxidants, a review. *Brazilian Journal of Food Technology*, 17, 98–112.

Favre, L.C., Dos-Santos, C., Lopez-Fernandez, M.P., Mazzobre, M.F., & Buera, M.D.P. (2018). Optimization of beta-cyclodextrin-based extraction of antioxidant and anti-browning activities from thyme leaves by response surface methodology. *Food Chemistry*, 265, 86–95.

Fernández-Pan, I., Maté, JI., Gardrat, C., & Coma, V. (2015). Effect of chitosan molecular weight on the antimicrobial activity and release rate of carvacrol-enriched films. *Food hydrocolloids*, 51, 60–68.

Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Bjork, L., & Traljkovski, V. (2004). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea L., (*Hippophae rhamnoides* L) during maturation Buckthorn. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1485-1490.

González-Fernández, J., Galea, Z., Álvarez, M., Hormaza, I., & López, R. (2015). Evaluation of composition and performance of composts derived from guacamole production residues. *Journal of Environmental Management*, 147, 132–139.

Hamdan, N., Lee, C., Wong, S., Nurshafika, C., Zamir, N., & Lee, T. (2022). Prevention of enzymatic browning by natural extracts and genome-editing: a review on recent progress. *Molecules*, 27, 1-37.

Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa, R., Guerrero-Beltrán, J. A., Navarro-Cruz, A. R., Corona-Jiménez, E., & Ochoa-Velasco, C. E. (2016). Optimization of antioxidant compounds extraction from fruit by-products: apple pomace, orange, and banana peel. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40, 103–115.

- Higuera-Rubio, J. M., Ibarra-Laclette, E., Reyes-López, M. A., Sandoval-Castro, E., Cruz-Mendivil, A., Vega-García, M. O., & Calderón-Vázquez, C. L. (2022). Enzymatic browning and genome-wide polyphenol oxidase gene identification in three contrasting avocado accessions. *Plant Biotechnology Reports*, 16, 465-477.
- Homez, J. A., Daza, L. D., Aguirre, D. M., Muñoz, J. A., Solanilla, J. F., & Váquiro, H. A. (2018). Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 1233–1240.
- Khettal, B., Kadri, N., Tighilet, K., Adjebli, A., Dahmoune, F., & Maiza-Benabdeslam, F. (2017). Phenolic compounds from Citrus leaves: antioxidant activity and enzymatic browning inhibition. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 14, 1-13.
- Kumar, N., Pratibha, Trajkovska Petkoska, A., Khojah, E., Sami, R., & Al-Mushhin, A.A.M. (2021). Chitosan edible films enhanced with pomegranate peel extract: study on physical, biological, thermal, and barrier properties. *Materials*, 14, 3305.
- Lara-García, C., Jiménez-Islas, H., & Miranda-López, R. (2021). Perfil de compuestos orgánicos volátiles y ácidos grasos del aguacate (*Persea americana*) y sus beneficios a la salud. *Ciencia AUT*, 16, 162-177.
- Lim, W. Y., Cheun, C. F., & Wong, C. W. (2019). Inhibition of enzymatic browning in sweet potato (*Ipomoea batatas var. lobata*) with chemical and natural anti-browning agents. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1-8.
- Luna-Guevara, M.L., Jiménez- González, O., Luna- Guevara, J.J., Hernández-Carranza, P. & Ochoa-Velazco, C.E. (2014). Quality parameters and bioactive compounds of red tomatoes (*Solanum lycopersicum L.*) cv Roma VF at different postharvest conditions. *J. Food Res.* 3, 8-18.
- Magri, A., Cice, D., Capriolo, G., & Petriccione, M. (2022). Effects of ascorbic acid and melatonin treatments on antioxidant system in fresh cut avocado fruits during cold storage. *Food and Bioprocess Technology*, 15, 2468–2482.
- McEvily, A., Iyengar, R., & Otwell, W. (1992). Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 253-273.

Morelos, G., & Hernández, E. (2019). El consume de aguacate y sus beneficios para la salud, una revisión general. *Milenaria, Ciencia y Arte*, 14, 17-19.

Muxika, A., Etxabide, A., Uranga, J., Guerrero, P., & De la Caba, K. (2017). Chitosan as a bioactive polymer: processing, properties, and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 1358–1368.

Ngo, T. M. P., Nguyen, T. H., Dang, T. M. Q., Tran, T. X., & Rachtanapun, P. (2020). Characteristics and antimicrobial properties of active edible films based on pectin and nanochitosan. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 1-16.

Nicolas, J. C., Billaud, M-A Rouet-Mayer, J. Philiooon (2003) *Enzymatic -Technical Aspects and Assays*. Elsevier Science pp. 682-692 CHECAR

Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.

Nwe, N., Furuike, T., Osaka, I., Fujimori, H., Kawasaki, H., Arakawa, R., Tokura, S., Stevens, W., Kurozumi, S., & Takamori, Y. (2011). Laboratory scale production of ¹³C labeled chitosan by fungi *Absidia coerulea* and *Gongronella butleri* grown in solid substrate and submerged fermentation. *Carbohydrate Polymers*, 84, 743–750.

Ochoa-Zarzosa, A., Báez-Magaña, M., Guzmán-Rodríguez, J., Flores-Alvarez, J., Lara-Márquez, M., Zavala-Guerrero, B., & López-Meza, E. (2021). Bioactive molecules from native mexican avocado fruit (*Persea americana* var. *drymifolia*): a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76, 133–142.

Pereda. A.G., Ponce, N.E., Marcovich, R.A., Ruseckaite, & J, Martucci. (2011). Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 25, 1372-1381.

Pérez-Álvarez, S., Ávila-Quezada, G., & Coto-Arbelo, O. (2015). El aguacatero (*Persea americana* Mill). *Cultivos Tropicales*, 36, 111-123.

Quevedo, R., Ronceros, B., Garcia, K., López, P., & Pedreschi, F. (2011). Enzymatic browning in sliced and puréed avocado: a fractal kinetic study. *Journal of Food Engineering*, 105, 210–215.

Ramos, O., Fernandes, J., Silva, S., Pintado, M., & Malcata, F. (2012). Edible films and coatings from whey proteins: a review on formulation, and on mechanical and bioactive properties, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 533-552.

Rodríguez Campos, S.V., Hernández Carranza, P., Ávila Sosa, R., Ruiz López, I.I., & Ochoa Velasco, C.E. (2022). Effect of natural extracts addition on antioxidant, color, and sensory properties of avocado (*Persea americana cv. criollo sp.*) puree. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 2623–2634.

Rodríguez-Carpena, J.G., Morcuende, D., Andrade, M.J., Killi, P., & Estévez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5625-5635.

Sahariah, P., & Masson, M., (2017). Antimicrobial chitosan and chitosan derivatives: a review of the structure-activity relationship. *Biomacromolecules*, 18, 3846–3868.

Salama, A., Hasanin, M., & Hesemann, P. (2020). Synthesis and antimicrobial properties of new chitosan derivatives containing guanidinium groups. *Carbohydrate Polymers*, 241, 1-8.

Salama, A., & Hesemann, P. (2017). Synthesis of *N*-guanidinium-chitosan/silica hybrid composites: efficient adsorbents for anionic pollutants. *Polymers and the Environment*, 26, 1986-1997.

Salazar-López, N., Domínguez-Avila, J., Yahia, M., Belmonte-Herrera, B., Wall-Medrano, A., Montalvo-González, E., & González-Aguilar, G. A. (2020). Avocado fruit and by-products as potential sources of bioactive compounds. *Food Research International*, 1-56.

Statista. (2023). <https://es.statista.com/estadisticas/1263627/exportaciones-de-aguacate-mexicano-durante-sb>

Toledo, L., & Aguirre, C. (2016). Enzymatic browning in avocado (*Persea americana*) revisited: history, advances, and future perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 3860–3872.

Tinello, F., Mihaylova, D., & Lante, A. (2020). Valorization of onion extracts as anti-browning agents. *Food Science And Applied Biotechnology*, 3, 16–21.

Vázquez-Luna, A., Santiago, M., Rivadeneyra-Domínguez, E., & Díaz-Sobac, R. (2019). Películas comestibles a base de almidón nanoestructurado como material de barrera a la humedad. *Ciencia UAT*, 13, 152-164.

Vega, N., Salazar, S., Bautista, T., & Muñoz, G. (2020). Evaluación del efecto inhibitor de la enzima polifenol oxidasa en una salsa de aguacate (*persea americana* Mill). *Entre Ciencia e Ingeniería*, 14, 58-62.

Wien, M., Haddad, E., Oda, K., & Sabaté, J. (2013). A randomized 3x3 crossover study to evaluate the effect of Hass avocado intake on post-ingestive satiety, glucosa and insulin levels, and subsequent energy intake in overweight adults. *Nutrition Journal*, 12, 155.