



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



**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS ADICIONADOS
CON ANTIOXIDANTES Y PROBIÓTICOS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS
DE CALIDAD DE RODAJAS DE AGUACATE VARIEDAD HASS (*PERSEA
AMERICANA*)**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

P. Q. F. B XIADANI ORTIZ GUTIÉRREZ

DIRECTOR DE TESIS

DRA. PAOLA HERNÁNDEZ CARRANZA

ASESOR DE TESIS

DR. CARLOS ENRIQUE OCHOA VELASCO



“HUP, 50 años de enseñanza y salud”

OFICIO C.Q./CT 038P/2022

**C. Xiadani Ortiz Gutiérrez
PRESENTE**

Toda vez que se cuenta con la aprobación del Coordinador del Área de Bioquímica-Alimentos, le comunico que su anteproyecto de Tesis denominado:

“Efecto de la aplicación de recubrimientos adicionados con antioxidantes y probióticos sobre las características de calidad de rodajas de aguacate variedad hass (*Persea americana*)”

ha sido autorizado, siendo:

**D.C. Paola Hernández Carranza, Director de Tesis
D.C. Carlos Enrique Ochoa Velasco, Co-Director 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., 7 de septiembre de 2022

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena digital: 2Cy&Xt,By#Vx.Yr!Up!Sh"Be%Er-Fw!Ck.Vx)Iz" Fh!Xo" Fh)Eo\$YhITc\$Rt-Vc(Nu'Fi)Ca\$Mb!Id&Yu-Ep%Dz#Cn)Tj)%Lb-Lp"Pi&Ml"Kz)Yq/Hd(Kw!Op,Kh"Xt%Wa,Ke" Wd+Wp#Bk'ZIS Oq(BI"Vc" Sx-Yk&Ar&Hk'Pt.Pa!Jd/Ub)Vo.Ws/Ua+Mv"Vh.Bi.Qn!Qt!Ud" As/Pv)Og"Uc" Tb.Qz" Of" Ce(Np" Ig#Am-Sg&Hx#Ms" Zk(Cz\$Kk,Ug" Aa.Bf)Hi!Ss&Qt-VI'

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



"HUP, 50 años de enseñanza y salud"

OFICIO C.Q./CT 038CR/2022

M.E.C. **Obdulia Vera López**
D.C. **Armando Mena Contla**
M.C. **Armando Cortés Lozada**

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

Xiadani Ortiz Gutiérrez

cuyo título es:

"Efecto de la aplicación de recubrimientos adicionados con antioxidantes y probióticos sobre las características de calidad de rodajas de aguacate variedad hass (*Persea americana*)"

realizada en el área de Bioquímica-Alimentos.

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

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., 7 de noviembre de 2022

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena Digital: 7Lm)Tk,Qo.Dw&Vx\$Pd+Xg/Tt-Va\$Th-
Jq*Zi+WL.Ch,Pz.Qe\$Rf\$Ds\$Cy(HdIZf/Lj.Rv/Iu!SkaNo#Ay/QP'Dm\$tz)Wj.La%Gd(Js.Mh#Ht/Tu(Hg"XufVw)Qt&Yh,Za+Bc.Aw"Nor
Ku+Td)Yi"Ti*Ok"Ln)Nx%Ln/Pp)Sb&Dz(lx"Wg,Em.Yz)Dd.Tl\$Sq"Dw"Sc&Mw/Fg+Zx"XwlCl#Pq"Xn"Qv,Yd.Ce*Zi)Yc/Yi*Ed+Zp)H
y'EtrTx)Hx%Wu,Sw&Rl"Po"ly"Ba.Ww'

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. 7300



“HUP, 50 años de enseñanza y salud”

OFICIO C.Q./CT 046A/2022

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 Química Farmacobiólogo

Xiadani Ortiz Gutiérrez

realizada en el área de Bioquímica-Alimentos, comunican a Usted la autorización para la publicación del Trabajo de tesis bajo la dirección de la D.C. Paola Hernández Carranza y el D.C. Carlos Enrique Ochoa Velasco, con el siguiente título:

“Efecto de la aplicación de recubrimientos adicionados con antioxidantes y probióticos sobre las características de calidad de rodajas de aguacate variedad hass (*Persea americana*)”

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 9 de noviembre de 2022.

Atentamente
“Pensar bien, para vivir mejor”
H. Puebla de Z., a 10 de noviembre de 2022

M.E.C. Obdulía Vera López, PRESIDENTE

D.C. Armando Mena Contla, SECRETARIO

M.C. Armando Cortés Lozada, VOCAL

C.c.p. Archivo

Cadena digital: 2RfCl.Ro\$Zq)Dx.Zw/Ra+Lg&Pc)Iw(Zj+Tg'Cy/Ih&Fa)Qj-Kp"Vd-NlIBk-Tv,Pc(Mt/Wh(Yn\$Ys+Pi(Yw(Tu-Ay+Lu,Bj#Qs"OhsWx..Jn,Aq#Sz&Ce/To-Bt(Ts"Cj* Sf)Gb+Jh&Eg/Hn-Yh*Fa)Tw)Bm-Da"Uk+Wk.Vp.Rn/Kh)Le'Ki(Dm'Xc/Os&Gr)Cr#Hv%Ux*Gu+Gd,Dj,Jx/Tt,Wt'Zo#Dy.Oj-Ky\$A&Tn,Tn\$Fo)Ft%Sf/Ft%Ba)Tq/Gz+Ou/Qw&Vw,Vt-Fh.

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. 7300

La presente tesis se la dedico a mis padres y hermano por ser los autores principales de mi vida, por sus consejos, su amor, dedicación, apoyo y confianza.

Gracias por ayudarme a cumplir mis objetivos como persona y estudiante.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. Aguacate (<i>Persea americana</i>)	2
2.1.1. Origen.....	2
2.1.2. Taxonomía	2
2.1.3. Morfología del aguacate	3
2.1.4. Composición nutricional	4
2.1.5. Producción	5
2.2. Oscurecimiento en alimentos	6
2.2.1. Definición	6
2.2.2. Tipos y características	6
2.2.3. Formas de prevención del oscurecimiento	8
2.3. Recubrimientos comestibles	10
2.3.1. Definición	10
2.3.2 Características y propiedades	10
2.3.3. Materiales para su elaboración	11
2.3.3.1 Suero de leche	11
2.3.3.2. Alginato	12
2.3.4. Aplicaciones en alimentos	12
2.4. Bacterias ácido-lácticas	13
2.4.1. Generalidades.....	13
2.4.2. Clasificación.....	14
2.4.2.1 Homofermentadoras	14
2.4.2.2 Heterofermentadoras	15
2.4.3. <i>Lactobacillus</i>	16
2.4.3.1. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	17
2.5. Antioxidantes	18
2.5.1. Generalidades.....	18
2.5.2. Té verde	19

3. JUSTIFICACIÓN	20
4. OBJETIVOS	21
4.1. Objetivo General	21
4.2. Objetivos Particulares	21
5. DIAGRAMA DE TRABAJO	22
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
7. METODOLOGÍA.....	25
7.1 Preparación del medio de cultivo	25
7.2 Preparación de sistemas para el recubrimiento	25
7.3 Aplicación del recubrimiento	26
7.4 Análisis microbiológico	26
7.5 Evaluación de color, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos	27
7.6 Almacenamiento	28
7.7 Análisis estadístico	28
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
8.1. Crecimiento de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> en sistema con suero de leche y té verde.....	29
8.2. Aplicación de los recubrimientos sobre rodajas de aguacate	29
8.3. Evaluación del color de rodajas de aguacate aplicadas con el recubrimiento.	31
8.4. Evaluación de la población microbiana de rodajas de aguacate aplicadas con el recubrimiento y almacenadas en refrigeración	34
8.5. Evaluación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de rodajas de aguacate aplicadas con el recubrimiento y almacenadas en refrigeración	36
9. CONCLUSIONES.....	39
10. RECOMENDACIONES	40
11. REFERENCIAS.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología del aguacate (Tomada de Barrientos <i>et al.</i> , 2008).....	3
Figura 2. Mecanismo de la reacción de oscurecimiento enzimático (Tomado de Moon <i>et al.</i> , 2020).....	8
Figura 3. Fermentación homoláctica (Tomado de Parra Huertas, 2010).....	15
Figura 4. Fermentación heteroláctica (Tomado de Parra Huertas, 2010).....	16
Figura 5. Microscopía de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> (Tomado de Khue y Vinh, 2013)	17
Figura 6. Esquema de trabajo para la elaboración de recubrimiento aplicados a rodajas de aguacate.	22
Figura 7. Rodajas de aguacate recubiertas con alginato, solución de té verde y <i>Lactobacillus</i>	30
Figura 8. Cambio de color de rodajas de aguacate recubiertas con alginato, solución de té verde y <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	34
Figura 9. Población de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> en rodajas de aguacate almacenadas durante 24 h en refrigeración a 5°C.	35
Figura 10. Compuestos fenólicos en rodajas de aguacate después de la aplicación del recubrimiento y a las 12 h en refrigeración a 5°C en refrigeración a 5°C.....	37
Figura 11. Capacidad antioxidante en rodajas de aguacate después de la aplicación del recubrimiento y a las 12 h en refrigeración a 5°C.	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición del aguacate (<i>Persea americana</i>).	4
Tabla 2. Métodos y referencias utilizados en la investigación.	23
Tabla 3. Equipos utilizados en la investigación.	24
Tabla 4. Formulación de los sistemas elaborados	26
Tabla 5. Rodajas de aguacate recubiertas durante diferentes tiempos de evaluación de color.	32

RESUMEN

En la actualidad uno de los problemas más comunes que afecta a frutas y hortalizas es el oscurecimiento, por lo cual se han buscado e implementado diversas técnicas para ayudar a prevenir o evitar el cambio de color que experimentan los alimentos. Una de las técnicas que está tomando importancia es la aplicación de recubrimientos, los cuales pueden estar adicionados con bio-compuestos para potenciar su efectividad, aportar beneficios al consumirlos, o ambos. En este trabajo se evaluó el efecto de recubrimientos adicionados con antioxidantes y probióticos sobre las características de calidad de rodajas de aguacate variedad Hass (*Persea americana*).

Se elaboró un medio con suero de leche, sacarosa y té verde, se inoculó con *Lactobacillus rhamnosus*. Posteriormente, se formularon 8 sistemas adicionados con el medio fermentado, alginato de sodio (AS), cloruro de calcio (CaCl_2) y ácido cítrico (AC) como matriz de recubrimiento. Después de la aplicación de los recubrimientos, se evaluó el color, capacidad antioxidante (CA), compuestos fenólicos (CF) y población de *L. rhamnosus* en las rodajas de aguacate recién cubiertas y almacenadas a 5°C.

Los resultados mostraron que el medio preparado con suero de leche y té verde fue adecuado para el crecimiento de *L. rhamnosus*, ya que se obtuvo una población de 9.36 ciclos logarítmicos (CL). Los sistemas con medio fermentado y/o agua, AS al 20%, CaCl_2 al 3% y AC al 0.5 y 1% (sistemas 3, 4, 5 y 6), presentaron un cambio neto de color entre 10 y 20, evitando el oscurecimiento de rodajas de aguacate hasta por 8 h. Además, la población de *L. rhamnosus* se mantuvo por arriba de 6 CL después de 24 h, lo que permitió considerar que los recubrimientos elaborados contengan microorganismos con capacidad probiótica. Por otro lado, los CF y la CA no presentaron una diferencia significativa entre los sistemas evaluados (sistemas 3, 4, 5 y 6), sin embargo, después de 12 h de almacenamiento ambos compuestos se redujeron en todos los sistemas, esto se puede deber a la composición de los sistemas, los cuales al ser adicionados con compuestos antioxidantes pueden actuar en forma sinérgica, aditiva o antagónica. A pesar de esto, los recubrimientos presentaron una CA superior a lo reportado en aguacate, esto se debe a que los sistemas estudiados fueron enriquecidos con té verde, un componente rico en antioxidantes.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas actuales de la mayoría de los alimentos de origen vegetal durante su procesamiento, almacenamiento y distribución es el oscurecimiento; el cual modifica las características sensoriales y la composición química de los alimentos. El oscurecimiento enzimático es una de las causas principales de los cambios de color indeseables de alimentos ricos en compuestos polifenólicos como frutas y hortalizas, debido a la acción de la enzima polifenoloxidasas (Moon *et al.*, 2020).

Existen diversos métodos que permiten controlar la actividad enzimática, algunos de ellos implican el uso de temperaturas como el tratamiento térmico y la refrigeración, además de la irradiación, la adición de sales y antioxidantes, siendo el tratamiento térmico uno de los más populares (Queiroz *et al.*, 2008); sin embargo, este tratamiento puede modificar las características sensoriales del alimento.

Dicho lo anterior, es importante establecer técnicas de conservación adecuadas en alimentos a los que se requiere eliminar la cáscara parcial o totalmente durante su procesamiento, tal es el caso del aguacate. Este es un fruto de amplio consumo y alto valor nutritivo, susceptible de experimentar cambios de color.

Uno de los procedimientos para inhibir el pardeamiento es el uso de películas y/o recubrimientos comestibles que limitan la disponibilidad de oxígeno en la superficie expuesta de los alimentos. Además, reducen la permeabilidad y el intercambio de gases con el ambiente y pueden servir como un medio para la incorporación de compuestos bioactivos que aportan funciones adicionales a los alimentos (Falguera *et al.*, 2011).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la aplicación de recubrimientos adicionados con antioxidantes y probióticos sobre las características de calidad de rodajas de aguacate.

2. ANTECEDENTES

2.1. Aguacate (*Persea americana*)

2.1.1. Origen

La palabra “aguacate” deriva del vocablo azteca *ahuacatl*, que luego de modificaciones por parte del idioma español, resultó en la palabra *ahuacate* o *aguacate* (Cowan y Wolstenholme, 2016). El aguacate es nativo de México y América Central, y hay evidencia de su consumo en México desde hace más de 10,000 años (Gutiérrez-Contreras *et al.*, 2010). La primera evidencia de la existencia del aguacate fue encontrada en semillas en la Cueva de Coxcatlán, Valle de Tehuacán, Puebla (Zafar y Sidhu, 2010).

El aguacate (*Persea americana* Mill.) pertenece a la familia *Lauraceae*, la cual comprende alrededor de 2,200 especies (Pérez Álvarez *et al.*, 2015). Las especies de *Persea* se clasifican en dos subgéneros: *Eriodaphne* y *Persea*. *Eriodaphne* contiene la mayor parte del centenar de especies probables, incluidas algunas con una resistencia al mayor problema del aguacate: la pudrición de la raíz causada por *Phytophthora cinnamomi*. El subgénero *Persea* contiene los aguacates comerciales, el género *Persea*, especie *americana* (Bergh, 1992).

2.1.2. Taxonomía

Actualmente el aguacate se cultiva en el mundo bajo diferentes condiciones ambientales, los extremos climáticos varían desde zonas desérticas en Israel y sur de California, tierras altas subtropicales y bosques húmedos tropicales en Centroamérica, hasta regiones del sur de África y Australia sometidas a condiciones de niebla (Bower y Cutting, 1988).

Las características taxonómicas son: Familia: *Lauraceae*; Subfamilia: *Lauroideae*; Tribu: *Perseae*; Subtribu: *Perseineae*; Género: *Persea*; Especie: *americana*.

En promedio, un árbol de aguacate puede alcanzar una altura de hasta 20 metros; sin embargo, cuando se cultiva en plantaciones comerciales, no se deja crecer más de 5 metros, para facilitar las prácticas de control fitosanitario, cosecha, poda y fertilización foliar (Pérez Álvarez *et al.*, 2015).

Existen aproximadamente 400 variedades, por lo que se pueden encontrar frutos de formas y pesos diferentes, que pueden llegar a pesar de 150 a 350 g. Esta fruta no soporta la deshidratación, por lo que debe ser almacenada en ambientes húmedos y conserva su capacidad germinativa únicamente por corto tiempo (Pérez Álvarez *et al.*, 2015).

2.1.3. Morfología del aguacate

El aguacate es un fruto en forma de pera, de color verde claro a verde oscuro y de violeta a negro, cáscara rugosa con una pulpa verde amarillenta y una sola semilla central muy grande (Bhuyan *et al.*, 2019).

El pericarpio está compuesto por endocarpio, exocarpio y mesocarpio (Figura 1). El mesocarpio o pulpa de este fruto es carnosa y presenta una amplia variedad de colores, texturas y formas; puede medir de 7.5 a 33 cm de largo y hasta 15 cm de ancho, dependiendo del cultivar (Scora y Bergh, 1990). El exocarpio o cáscara puede ser desde color verde amarillo y alcanzar tonalidades oscuras, púrpuras, rojizas, o tan oscuras que llegan a parecer negras; en ocasiones tiene puntos amarillos cuya textura suele ser lisa o rugosa, lustrosa u opaca; delgada o de hasta 6 mm de gruesa; flexible o granulada y quebradiza (Barrientos *et al.*, 2008).

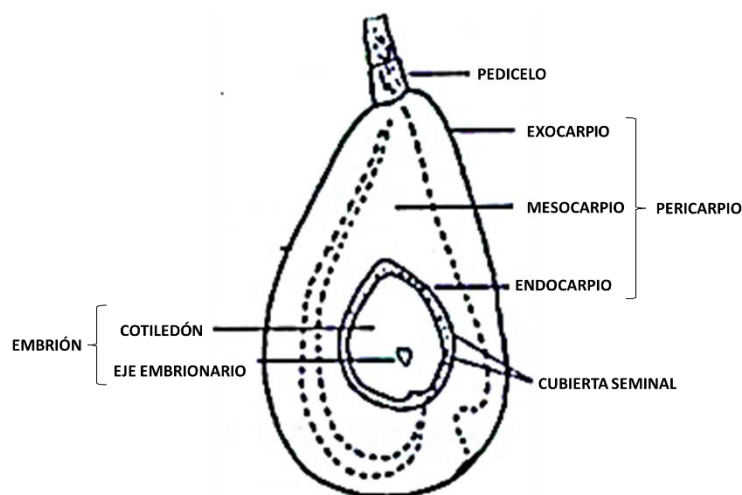


Figura 1. Morfología del aguacate (Tomada de Barrientos *et al.*, 2008).

La semilla, única, puede ser ovoide, redonda o cónica, de 5 a 6 cm de largo, dura y pesada, de color marfil rosado, envuelta en dos capas como papeles de color café,

frecuentemente adheridas a la cavidad pulposa, mientras la semilla sale fácilmente (Barrientos *et al.*, 2008).

2.1.4. Composición nutricional

El aguacate es reconocido y valorado por su alto valor nutricional. Un aguacate entero contiene de 140 a 228 kcal de energía, dependiendo del tamaño y la variedad (Duarte *et al.*, 2016). Los principales factores que pueden afectar a la composición del aguacate son la variedad, el grado de maduración, el clima, la composición del suelo y los fertilizantes (Bhuyan *et al.*, 2019).

La composición nutrimental de aguacate se muestra en la Tabla 1, de acuerdo con el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (FoodData Central, 2019).

Tabla 1. Composición del aguacate (*Persea americana*).

Composición nutricional	Valor por 100 g
Agua (g)	72.3
Energía (kcal)	167
Proteína (g)	1.96
Lípidos totales (g)	15.41
Carbohidratos (g)	8.64
Fibra dietética (g)	6.8
Azúcar (g)	0.3
Calcio (mg)	13
Magnesio (mg)	29
Hierro (mg)	0.61
Fósforo (mg)	54
Potasio (mg)	507
Sodio (mg)	8
Zinc (mg)	0.68
Vitamina C (mg)	8.8
Vitamina B6 (mg)	0.29
Vitamina E (mg)	1.97

Información tomada de FoodData Central, 2019

De acuerdo con la Tabla 1, el aguacate es un alimento rico en lípidos, la cual constituye alrededor del 15% de la composición total y de este, del 66.2 al 71% son ácidos grasos monoinsaturados, destacando en particular el elevado contenido en ácido oleico (García y Davidov-Pardo, 2021).

Otro aspecto importante a destacar son sus los niveles de potasio (500 mg/100 g) en comparación con otros frutos, lo que regula la actividad muscular y protege al organismo de enfermedades cardiovasculares. También representa una fuente de glutatión, un poderoso antioxidante que actúa sobre compuestos potencialmente cancerígenos (Duarte *et al.*, 2016).

El aguacate tiene cuatro veces más valor nutricional que cualquier otra fruta excepto el plátano, que contiene de 1 a 3% de proteínas y niveles significativos de vitaminas como B1, B2, ácido fólico y cantidades apreciables de calcio, potasio, magnesio, sodio, fósforo, azufre y silicio (Duarte *et al.*, 2016).

Asimismo, la variedad Hass contiene niveles más altos de luteína y tocoferol que la mayoría de las frutas. Los niveles de tocoferol encontrados en los extractos de aguacate se han relacionado con la inhibición de la proliferación de células de cáncer de próstata (Lu *et al.*, 2009).

2.1.5. Producción

Debido a sus características nutricionales y exquisito sabor, esta fruta tropical se consume en todo el mundo, lo que la convierte en un producto valioso con alta demanda y un gran impacto económico.

De entre las distintas variedades, el aguacate variedad Hass representan del 80 al 95 % del total de aguacate cosechado en todo el mundo. Los países productores de aguacate son México y República Dominicana, seguidos de otros como Perú, Indonesia y Colombia (García y Davidov-Pardo, 2021).

México es el principal productor de este fruto ya que produce un tercio del total mundial y es el principal exportador con el 40%. Además, de acuerdo con la FAO, tiene la mayor superficie cultivada del mundo con un 27% (Villamil *et al.*, 2018).

El principal país importador es Francia, con el 39% del total del volumen importado, mientras otros importantes compradores son Estados Unidos (10%), Reino Unido y Bélgica, estos dos últimos con un 6.5% cada uno (Pérez Álvarez *et al.*, 2015).

En el estado de Puebla en el año 2021 se obtuvo una producción de 10,232.41 toneladas, con una ganancia de \$149,722.22. Mientras que a nivel nacional se tuvo una producción de 2,383,796.87 toneladas con una ganancia de \$49,851,087.12. Lo anterior de acuerdo con los datos del Anuario Estadístico de la Producción Agrícola para la variedad Hass (SIAP, 2021).

2.2. Oscurecimiento en alimentos

2.2.1. Definición

El oscurecimiento es un proceso de cambio gradual en el color de los alimentos, debido a una serie de reacciones químicas, que dan como resultado la formación de nuevas sustancias responsables del color marrón característico, el cual puede ir desde un marrón claro hasta un marrón oscuro. Este proceso es de considerable importancia para la industria alimentaria, ya que influye en la calidad nutricional y la apariencia de los alimentos, reduciendo la aceptabilidad del consumidor (Moon *et al.*, 2020; Queiroz *et al.*, 2008).

El pardeamiento puede afectar la calidad de los alimentos tanto de manera positiva como negativa. Se considera indeseable para la mayoría de las frutas, verduras y mariscos; sin embargo, es deseable para producir colores y sabores característicos en algunos alimentos, como el pan, la salsa de soya, el té negro, el café, el cacao, las pasas, entre otros (Moon *et al.*, 2020).

2.2.2. Tipos y características

El oscurecimiento de los alimentos, según el mecanismo, puede ser de dos tipos: por actividad no enzimática y por la actividad de enzimas. El pardeamiento no enzimático

afecta a los alimentos debido a su composición química y la aplicación de tratamientos térmicos; entre estos se distinguen la caramelización, la reacción de Maillard y la oxidación del ácido ascórbico. En los dos primeros no se requiere la presencia de oxígeno para llevarse a cabo. En el oscurecimiento no enzimático se generan sustancias de color marrón a través de una serie de reacciones químicas que involucran uno o varios compuestos constituyentes en los alimentos, sin la intervención de alguna enzima (Moon *et al.*, 2020).

Por otro lado, el oscurecimiento enzimático se presenta por la acción de la enzima polifenoloxidasas (PPO), la cual afecta a alimentos ricos en fenoles. La polifenoloxidasas es una enzima que contiene cobre; también se conoce como catecoloxidasas, catecolasa, difenoloxidasas, o-difenolasa, fenolasa y tirosinasa. La PPO está presente en algunas bacterias y hongos, en la mayoría de las plantas, en algunos artrópodos y en todos los mamíferos. En todos los casos, la enzima se asocia con la pigmentación oscura en el organismo, y parece tener una función protectora. Esta enzima tiene la capacidad de convertir α -dihidroxifenoles en α -benzoquinonas, utilizando O_2 como segundo sustrato (Martínez y Whitaker, 1995).

Los estímulos mecánicos y físicos que involucran pelar, cortar, rebanar, rallar y triturar durante el procesamiento de los alimentos y los cambios severos de temperatura durante el almacenamiento, pueden causar daños físicos en los tejidos de las frutas y verduras. Debido al daño tisular, los compuestos fenólicos y la PPO que se encuentran en los alimentos se exponen al oxígeno, lo que inicia primero la hidroxilación de los fenoles para formar α -dihidroxifenoles, y después la oxidación de éstos en α -quinonas. Posteriormente, las α -quinonas y sus derivados se polimerizan a través de varias reacciones, formando un pigmento marrón relativamente insoluble conocido como melanina. La velocidad de pardeamiento enzimático está determinada por la actividad enzimática de la PPO. En la Figura 2 se muestra el mecanismo de la reacción de oscurecimiento enzimático (Moon *et al.*, 2020).

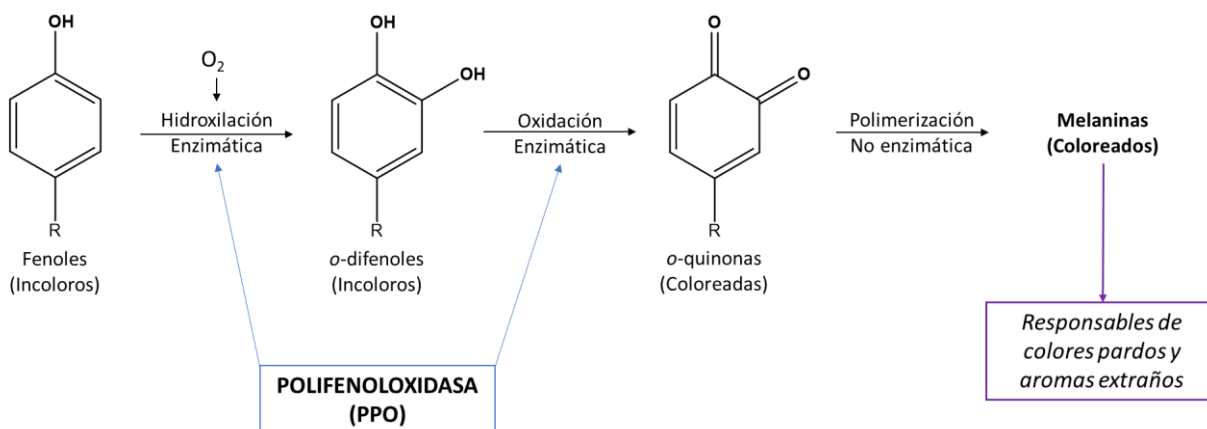


Figura 2. Mecanismo de la reacción de oscurecimiento enzimático (Tomado de Moon *et al.*, 2020).

El oscurecimiento enzimático ocurre principalmente en frutas y verduras durante la cosecha, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento; en consecuencia, influye en sus características sensoriales y nutricionales, por lo cual es importante su prevención. Se estima que más del 50% de las pérdidas en frutas ocurren como resultado del pardeamiento enzimático y las frutas y hortalizas tropicales y subtropicales son las más susceptibles a estas reacciones (Queiroz *et al.*, 2008).

Para disminuir o inhibir los efectos del oscurecimiento enzimático en los alimentos se requiere controlar la actividad de la PPO, esto se puede llevar a cabo mediante el control de algunos factores, entre los que se incluyen: el tipo y la cantidad de compuestos fenólicos endógenos, la presencia de oxígeno y el pH (Moon *et al.*, 2020).

2.2.3. Formas de prevención del oscurecimiento

Las formas de prevención del oscurecimiento enzimático incluyen métodos físicos y químicos, en los cuales se busca inhibir la actividad de la PPO centrándose en los componentes esenciales para la reacción, como el oxígeno, el sustrato, los productos y la enzima (Tinello y Lante, 2018).

Diferentes compuestos químicos pueden controlar el pardeamiento enzimático y estos se clasifican según el mecanismo de inhibición como agentes reductores, agentes

quelantes, acidulantes, inhibidores de enzimas, tratamientos enzimáticos y agentes complejantes. Los más utilizados para el control del pardeamiento son los agentes sulfitantes donde actúan como inhibidores irreversibles de la PPO; sin embargo, debido a los efectos adversos para la salud, se buscan agentes reductores sin sulfitos (Özoglu y Bayindirli, 2002).

Otros métodos químicos incluyen la acidificación del medio usando ácido cítrico, ácido ascórbico y glutatión ya que estos pueden inactivar la PPO bajando el pH. Los agentes antioxidantes, como el ácido ascórbico y la L-cisteína, pueden prevenir la formación de melanina al unirse a los productos intermedios (Nicolas *et al.*, 2003).

También se utilizan agentes quelantes del cobre como ácido cítrico y oxálico que pueden inhibir la actividad al unirse a cofactores metálicos en la enzima. Por último, se tiene a los extractos naturales que comprenden a la cebolla, el limón, la piña y el té verde, entre otros; la composición química de estos son una alternativa para la inhibición del pardeamiento enzimático (Moon *et al.*, 2020).

Dentro de los métodos físicos, los tratamientos térmicos son los más utilizados para inhibir la acción de la PPO. Se tiene el uso de bajas temperaturas donde se somete al alimento a refrigeración o congelación. Asimismo, el uso de altas temperaturas, donde técnicas como el escaldado, pueden inhibir fácilmente la actividad enzimática; además de la combinación de éste con microondas se ha propuesto como una alternativa (Devece *et al.*, 1999). También, la irradiación es otro método físico en el cual se irradia al alimento con luz ultravioleta o radiación gamma (Banerjee *et al.*, 2015).

Las técnicas convencionales de prevención del oscurecimiento están ligadas a pérdida de peso y calidad nutricional de los alimentos; por ejemplo, el escaldado puede causar una generación indeseable de color o sabor y un ablandamiento de la textura. Por otro lado, el oscurecimiento también se puede evitar manteniendo al alimento en atmósferas pobres en oxígeno o limitando su exposición a éste (Nicolas *et al.*, 2003). En este último se ha propuesto el uso de películas, recubrimientos comestibles o la inmersión de los alimentos en una solución de azúcar o sal de una determinada concentración para evitar el contacto con el oxígeno (Moon *et al.*, 2020).

El uso de métodos físicos o químicos para inhibir el oscurecimiento enzimático puede modificar las características sensoriales del alimento. Sin embargo, la combinación de ambos métodos puede resultar más efectiva (Moon *et al.*, 2020; Nicoli *et al.*, 1994). En este sentido, el uso de películas y recubrimientos comestibles además de cumplir su propósito (proteger al alimento), pueden dotar de ingredientes funcionales a los alimentos.

2.3. Recubrimientos comestibles

2.3.1. Definición

Sánchez-González *et al.* (2011) definen a los recubrimientos comestibles como una envoltura delgada, utilizada en la industria alimentaria, obtenida a partir de polímeros biodegradables, no tóxicos y que permite incrementar la calidad de los alimentos durante su conservación.

Otra definición del recubrimiento comestible es considerarlo como una matriz transparente, continua y delgada, la cual se estructura alrededor de un alimento. Esto se realiza generalmente mediante la inmersión del producto en una disolución formadora del recubrimiento con el fin de preservar su calidad y servir de empaque (Fernández Valdés *et al.*, 2015).

2.3.2 Características y propiedades

Los recubrimientos y películas comestibles deben cumplir diversas características para mantener la integridad y calidad del alimento; algunas de éstas son:

- Ser libres de tóxicos y seguros para la salud
- Ser económico
- Deben tener buenas propiedades de barrera contra el agua, la humedad, y gases como O₂, CO₂ y etileno
- Ser lo más insípido posible
- Debe permanecer intacto y cubrir un producto adecuadamente
- Deben ser de transparente a opaco, capaz de tolerar una ligera presión

- Deben mejorar la apariencia, integridad y las propiedades mecánicas para mantener la estructura y preservar la textura (Fernández Valdés *et al.*, 2015).

Para su empleo se puede adicionar a la matriz del empaque y así poder consumirse con el alimento, mejorando así la seguridad o incluso atributos nutricionales y sensoriales (Dhall, 2013).

Es importante saber que existen diferencias entre una película y un recubrimiento debido a que tienen diferentes propiedades: La película se forma por separado y es colocada sobre el alimento lo que implica que no forma parte de éste (Sharma y Rao, 2015), mientras que el recubrimiento se aplica sobre la superficie del alimento por diferentes métodos desde aspersion o inmersión, por lo que éste si forma parte del alimento (Arredondo Ochoa, 2012).

2.3.3. Materiales para su elaboración

Los recubrimientos comestibles pueden estar constituidos por tres componentes principales: proteínas, polisacáridos o lípidos. Las proteínas utilizadas pueden ser gluten de trigo, colágeno, zeína de maíz, proteína de soja, caseína y proteína de suero. Los polisacáridos más comunes son: alginato, almidón, quitosano, dextrina, pectina y derivados de celulosa. Los lípidos adecuados para su uso en recubrimientos incluyen ceras, acilgliceroles y algunos ácidos grasos (Cagri *et al.*, 2004; Falguera *et al.*, 2011).

Además, se añaden plastificantes a las soluciones precursoras para mejorar las propiedades del recubrimiento final. Estos aditivos suelen ser moléculas de bajo peso molecular y alto punto de ebullición, que son altamente compatibles con los polímeros. Los plastificantes comunes de calidad alimentaria, como sorbitol, glicerol, manitol, sacarosa y polietilenglicol, reducen la fragilidad y aumentan la flexibilidad del recubrimiento (Cagri *et al.*, 2004).

2.3.3.1 Suero de leche

Dentro de las proteínas más conocidas se tiene al suero de leche o también conocido como lactosuero, éste se define como un producto lácteo obtenido de la separación

del coágulo de la leche, de la crema o de la leche semidescremada, mediante la acción ácida o de enzimas del tipo del cuajo. Lo que provoca que se rompa la leche en dos fracciones coloidales (Poveda, 2013). Por un lado, a la fracción sólida la cual está compuesta por proteínas insolubles y lípidos. La segunda por una fracción líquida que corresponde al suero de leche que se encuentra suspendido y que contiene componentes nutricionales que no se integraron a la coagulación de la caseína como son carbohidratos, vitaminas y minerales (Doyle *et al.*, 1997).

El suero de leche tiene diversas aplicaciones en la industria, debido al alto contenido de proteína y minerales. Las proteínas de lactosuero son usadas ampliamente en una variedad de alimentos gracias a sus propiedades funcionales como solubilidad, emulsificación, retención de agua/grasa, espumado, espesantes y propiedades de gelificación (Parra, 2009).

2.3.3.2. Alginato

Los alginatos son los polisacáridos más abundantes presentes en las algas marinas. Este polímero debe su carácter polianiónico a los grupos carboxilo que aparecen a lo largo de la cadena. Después de la adición de iones de calcio, el alginato sufre cambios conformacionales, dando lugar al conocido modelo de gelificación del alginato conocido como “caja de huevo” (Avendaño-Romero *et al.*, 2013).

La viscosidad de las soluciones de alginatos depende de la longitud de las moléculas, cuanto mayor sea la longitud de las cadenas, más alta será la viscosidad (Mancini *et al.*, 1999). Existen diferentes estudios que indican la seguridad del uso de los alginatos en los alimentos. Los alginatos de sodio, potasio, calcio y amonio, ácido algínico y el alginato de propilenglicol, son aditivos alimenticios reconocidos como inocuos y seguros (Avendaño-Romero *et al.*, 2013).

2.3.4. Aplicaciones en alimentos

Algunos estudios han demostrado que el uso de recubrimientos comestibles son una alternativa para el control de la actividad enzimática en los procesos de oscurecimiento

de ciertos alimentos. Por ejemplo, la aplicación de recubrimientos con quitosano en frutos “ojo de dragón” (*Dimocarpus longan*) disminuyó la actividad de la PPO durante el almacenamiento a 4°C, reduciendo ligeramente el pardeamiento del pericarpio del fruto (Vangnai *et al.*, 2006).

La alta demanda de los consumidores por una mayor calidad de mantenimiento y frescura de los alimentos listos para el consumo ha dado lugar al concepto de empaque activo, un tipo de empaque que altera las condiciones que rodean al alimento para mantener la calidad y frescura del producto, mejorar las propiedades sensoriales o mejorar la seguridad y la vida útil del producto (Cagri *et al.*, 2004). Esto puede conseguirse mediante la adición de compuestos bioactivos tales como antioxidantes, probióticos, entre otros.

2.4. Bacterias ácido-lácticas

2.4.1. Generalidades

El término Bacteria del Ácido-Láctico fue gradualmente aceptada a principios del siglo XX (van Reenen y Dicks, 2011). Se conoce con otros términos como "bacterias que agrian la leche" y "productoras de ácido-láctico". Las bacterias ácido-lácticas (BAL), se definen como un grupo heterogéneo de bacterias, tienen forma de cocos o bacilos, con una longitud variable y grosor de 0.5 -0.8 μm , son Gram positivas, no patógenas, no toxigénicas, fermentadoras, caracterizadas por producir ácido láctico a partir de carbohidratos, lo que las hace útiles como cultivos iniciadores para la fermentación de alimentos (Sánchez y Tromps, 2014).

Otros rasgos comunes de las BAL es que son microorganismos anaeróbicos, no forman esporas, no son móviles, son oxidasa y catalasa negativa, carecen de actividad respiratoria porque les falta la enzima citocromo catalasa, contienen un grupo hemo que les permite poner en marcha la cadena respiratoria con el oxígeno como aceptor de electrones, reducen el nitrato y no producen pigmentos. Son bacterias ácido-tolerantes, lo cual les permite crecer en medios donde otras bacterias no se desarrollan, pueden crecer en pH bajo, aunque normalmente a un pH de 4 y 4.5 (Ramírez Ramírez *et al.*, 2011).

Las BAL son quimiotróficas, esto quiere decir que encuentran la energía requerida para todo su metabolismo a partir de la oxidación de compuestos químicos. La oxidación de azúcares constituye el principal producto de energía (Khalid, 2011).

Además, son un grupo de bacterias exigentes para su crecimiento ya que no sólo necesitan carbohidratos como fuente de energía y de carbono, sino también de los aminoácidos, las vitaminas y nucleótidos. Y en el medio de cultivo suelen suplirse por carbohidratos fermentables, peptona, extracto de carne y extracto de levadura. (Samaniego y Sosa del Castillo, 2006)

Estos microorganismos se pueden encontrar en productos derivados de la leche, ya que son capaces de fermentar monosacáridos o polisacáridos para transformarlos en ácidos como láctico, cítrico, propiónico, exopolisacáridos, bacteriocinas, peróxido de hidrógeno, endulzantes no calóricos, vitaminas, bebidas lácteas, ensilados, formación de sabores y aromas deseables, maduración de quesos, entre otros. Los anteriores metabolitos y otros son producidos través de rutas metabólicas utilizando la glucosa como fuente primaria de energía hasta la producción del metabolito deseado. Se encuentran difundidos en productos fermentados líquidos y sólidos (Parra Huertas, 2010).

2.4.2. Clasificación

Las BAL se clasifican en géneros diferentes, estos pueden ser: por morfología, por su crecimiento a diferentes temperaturas, por el ácido producido, la habilidad para crecer a altas concentraciones de sal y tolerancia ácida. En la naturaleza existen diferentes géneros de BAL aunque las más representativas son: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc*. Asimismo, se pueden clasificar a partir de su modo de fermentación de la glucosa, de la cual se tiene dos subclases: homofermentadoras y heterofermentadoras (Ramírez Ramírez *et al.*, 2011).

2.4.2.1 Homofermentadoras

Las homofermentadoras poseen la enzima aldolasa y producen ácido láctico como el producto principal de la fermentación de la glucosa, la vía homofermentativa incluye una primera fase de todas las reacciones de la glucólisis como se muestra en la Figura 3, que transforman la hexosa a piruvato; donde se convierte 1 mol de glucosa en dos

moles de ácido láctico. Las bacterias pertenecientes a este grupo poseen las enzimas aldolasa y hexosa isomerasa, pero carecen de la fosfoacetolasa; algunos ejemplos de estas bacterias son: *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* (Hernandez-Mendoza *et al.*, 2007).

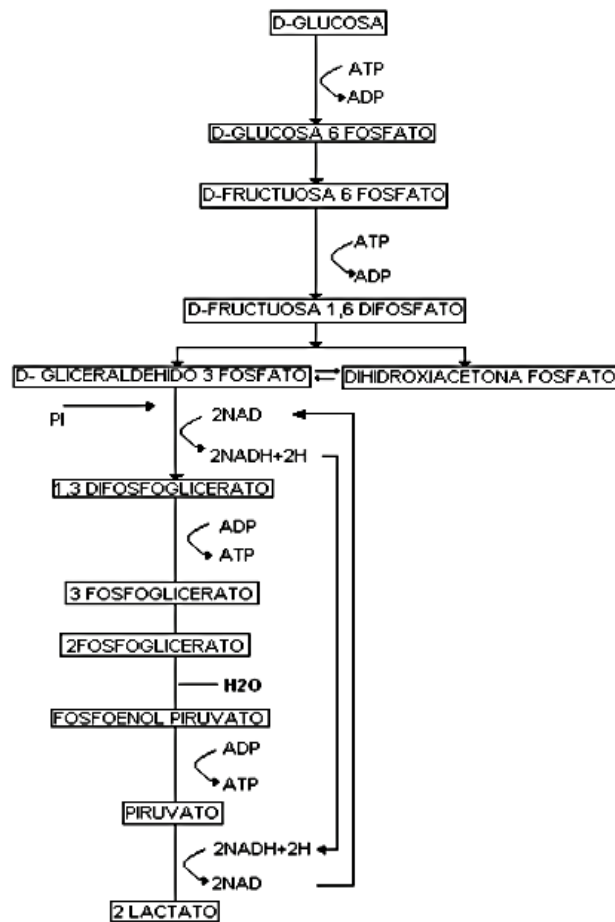


Figura 3. Fermentación homoláctica (Tomado de Parra Huertas, 2010).

2.4.2.2 Heterofermentadoras

Las heterofermentadoras son las que convierten hexosas a pentosas por la vía 6-fosfogluconatofosfoacetolasa produciendo en el proceso ácido láctico y cantidades significantes de otros productos como acetato, etanol, ATP y CO₂, lo anterior se muestra en la Figura 4. A diferencia de los homofermentadores estas bacterias contienen las enzima fosfoacetolasa pero carecen de aldolasa y hexosa isomerasa (Hernandez-Mendoza *et al.*, 2007; Carr *et al.*, 2002).

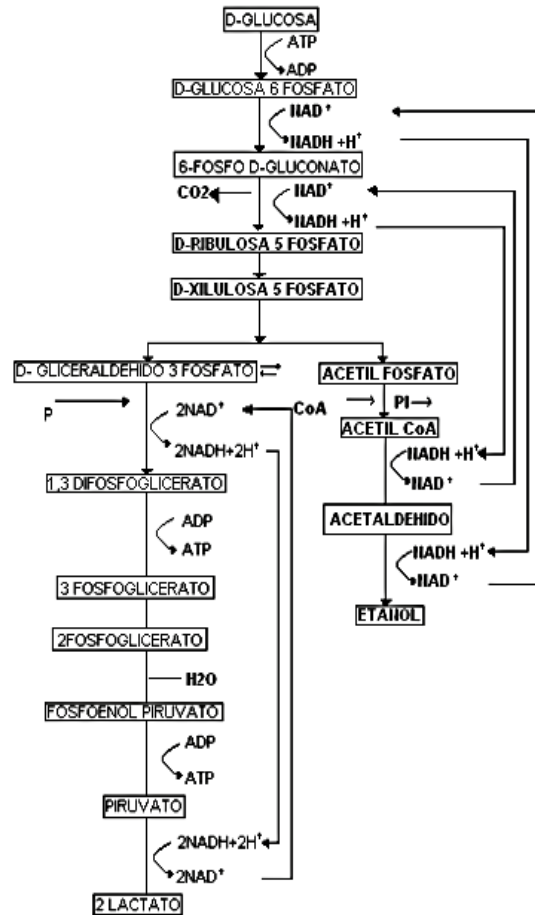


Figura 4. Fermentación heteroláctica (Tomado de Parra Huertas, 2010).

2.4.3. *Lactobacillus*

Los *Lactobacillus* son un género de bacterias que tiene forma de bastones o mejor conocido como bacilos largos y cortos o cocobacilos que se presentan en cadenas. Son Gram positivos, no esporulados, inmóviles y son mesófilos, aunque su rango de temperaturas para el crecimiento oscila entre 2 y 53 °C, algunos crecen por debajo de 15 °C y hay cepas que crecen por debajo de 5 °C (Samaniego y Sosa del Castillo, 2006).

Dentro de las características bioquímicas la mayoría de ellos tienen un metabolismo homofermentativo ya que forman ácido láctico como producto principal de la fermentación de los azúcares; son aerotolerantes, no reduce nitratos, catalasa

citocromo negativo. Además, tienden a crecer en medios ligeramente ácidos con pH 6 y 4, pero llegan a morir en medios neutros o alcalinos (Goldstein *et al.*, 2015).

2.4.3.1. *Lactobacillus rhamnosus*

Lactobacillus rhamnosus es una bacteria Gram positiva, no formadora de esporas, en forma de varilla, como se muestra en la Figura 5. Es facultativamente anaerobia o microaerofílica, inmóvil ya que no posee flagelos, presenta pilis, plásmidos y es catalasa negativa. Pertenece a los organismos mesófilos, algunas cepas pueden crecer a temperaturas inferiores a 15 °C o superiores a 40 °C. El tamaño de esta célula es de 0.8 a 1.0 µm de ancho y de 2.0 a 4.0 µm y puede crecer en forma individual o en cadenas cortas (Valík *et al.*, 2008).



Figura 5. Microscopía de *Lactobacillus rhamnosus* (Tomado de Khue y Vinh, 2013).

Es una bacteria muy exigente ya que, para crecer, requiere de varias vitaminas, incluido ácido fólico, riboflavina, niacina, ácido pantoténico y calcio mineral. El valor de pH inicial óptimo para su crecimiento está en el intervalo de 4.5 a 6.4. Tiene un metabolismo heterofermentativo ya que transforma las hexosas en L (+)-ácido láctico, las pentosas igual se fermentan. En ausencia de glucosa, produce ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico y etanol. Asimismo, es el único que puede fermentar a la ramosa (Valík *et al.*, 2008).

L. rhamnosus GG es considerada una cepa probiótica, ya que ha sido clínicamente estudiada y se encontró que ayuda a diversas enfermedades, pero principalmente a la salud del sistema digestivo. Dentro de sus capacidades, puede inhibir el crecimiento de bacterias que presentan alta patogenicidad (Hickey, 2017).

2.5. Antioxidantes

2.5.1. Generalidades

Shahidi (2000) define a los antioxidantes como aquellas sustancias que, cuando están presentes en los alimentos en concentraciones bajas en comparación con las de un sustrato oxidable, retrasan o previenen la oxidación de éste.

Los antioxidantes son sustancias de interés en la industria alimentaria para prevenir el deterioro de los alimentos y mantener su calidad nutricional. Además, son de interés en las áreas biológica y médica, porque pueden ayudar al cuerpo a disminuir el daño causado por sustancias susceptibles a la oxidación y por radicales libres (Shahidi, 2000).

En los últimos años se han estudiado muchas fuentes de antioxidantes de origen vegetal por su fácil accesibilidad. Los vegetales contienen numerosos tipos de antioxidantes con actividades variadas; entre estos destacan, los aceites y las semillas oleaginosas, las especias, hierbas y sus correspondientes oleosinas, los cereales, los granos, así como los hidrolizados de proteínas y los tés se han estudiado ampliamente (Shahidi, 2000).

Un tipo de antioxidante presente en varios alimentos de origen vegetal son los compuestos fenólicos. Algunas fuentes son los frijoles (isoflavonas), cítricos (flavonoides), cebolla (quercetina), aceitunas (polifenoles), entre otros. Asimismo, estos compuestos fenólicos se han encontrado en el café, vino tinto y té. Por tanto, el consumo de alimentos ricos en antioxidantes ayuda a proteger al organismo contra la oxidación producido por los radicales libres (Avello y Suwalsky, 2006).

Una fuente vegetal de antioxidantes es la planta de té. El extracto de té verde mostró un rendimiento antioxidante comparable al antioxidante sintético convencional

terbutilhidroquinona (TBHQ) y puede ser más rentable que otras fuentes naturales de antioxidantes (Senanayake, 2013).

2.5.2. Té verde

La planta de té (*Camellia sinensis*) es una planta cuyas hojas y brotes se utilizan para preparar el té, una de las bebidas más consumidas en el mundo. El té se puede clasificar en tres tipos principales, dependiendo del nivel de oxidación de las hojas: té verde, té oolong y té negro. El té verde se produce al inactivar la polifenoloxidasas de las hojas frescas mediante la aplicación de tratamientos térmicos, lo que evita la oxidación enzimática de las catequinas, los compuestos flavonoides más abundantes presentes en los extractos de té verde (Senanayake, 2013).

La composición química del té verde varía según el clima, la estación, las prácticas hortícolas y la posición de la hoja en el brote cosechado. Los principales componentes de interés antioxidante son los polifenoles y dentro de ellos se encuentran los flavonoides. Los cuatro flavonoides principales en el té verde son las catequinas: epicatequina, epigallocatequina, galato de epicatequina y galato de epigallocatequina (Sinija y Mishra, 2008).

Asimismo, las hojas de té frescas contienen cafeína (3.5 % del peso seco total, aproximadamente), teobromina (0.15-0.2%), teofilina (0.02-0.04%) y otras metilxantinas; lignina (6.5%), ácidos orgánicos (1.5%), clorofila (0.5%) y otros pigmentos, teanina (4%) y aminoácidos libres (1-5.5%) y numerosos compuestos de sabor. Además, contienen una amplia variedad de otros componentes, que incluyen flavonas, ácidos fenólicos y dépsidos, carbohidratos, alcaloides, minerales, vitaminas y enzimas (Senanayake, 2013). Por otro lado, otros compuestos de interés en las hojas secas de té verde incluyen ácido gálico, quercetina, kaempferol, miricetina, ácido cafeico y ácido clorogénico (Sinija y Mishra, 2008).

3. JUSTIFICACIÓN

Las reacciones de oscurecimiento provocan deterioro en los alimentos modificando su aspecto físico, sensorial y su calidad nutricional. Este deterioro es un problema común que se observa en el hogar, la industria y en el sector comercial, el cual a su vez puede causar pérdidas económicas.

En particular, las reacciones de oscurecimiento enzimático son indeseables en la mayoría de los alimentos que se consumen diariamente; éstas afectan principalmente a aquellos ricos en polifenoles por la acción enzimática de la polifenoloxidasa, siendo el aguacate uno de los alimentos más afectados por esta enzima. Este es un alimento ampliamente consumido en México y exportado a varias regiones del mundo para su empleo en distintos platillos, por lo que es importante buscar una forma de conservarlo adecuadamente, una vez que su pulpa es expuesta al ambiente.

En este trabajo se propone elaborar un recubrimiento comestible, que evite o disminuya la actividad de la polifenoloxidasa en este fruto, sin modificar las características fisicoquímicas y sensoriales. Al mismo tiempo, se busca que al combinarse con el aguacate forme un alimento funcional mediante la adición de extractos naturales de té verde que aporten antioxidantes y además contenga bacterias ácido-lácticas que contribuyan con características funcionales.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de recubrimientos adicionados con té verde y *Lactobacillus rhamnosus* sobre las características de calidad de rodajas de aguacate variedad Hass (*Persea americana*).

4.2. Objetivos Particulares

- Preparar un medio de crecimiento para *Lactobacillus rhamnosus* con suero de leche, té verde y sacarosa, y evaluar el crecimiento del microorganismo.
- Elaborar recubrimientos a partir del medio de crecimiento fermentado, alginato, cloruro de calcio y ácido cítrico, y aplicarlos a rodajas de aguacate.
- Determinar color, población microbiana, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las rodajas de aguacate recubiertas y almacenadas en refrigeración.

5. DIAGRAMA DE TRABAJO

El esquema de trabajo que se siguió para la realización de este proyecto se muestra en la Figura 6 y se describe con más detalles en la metodología.

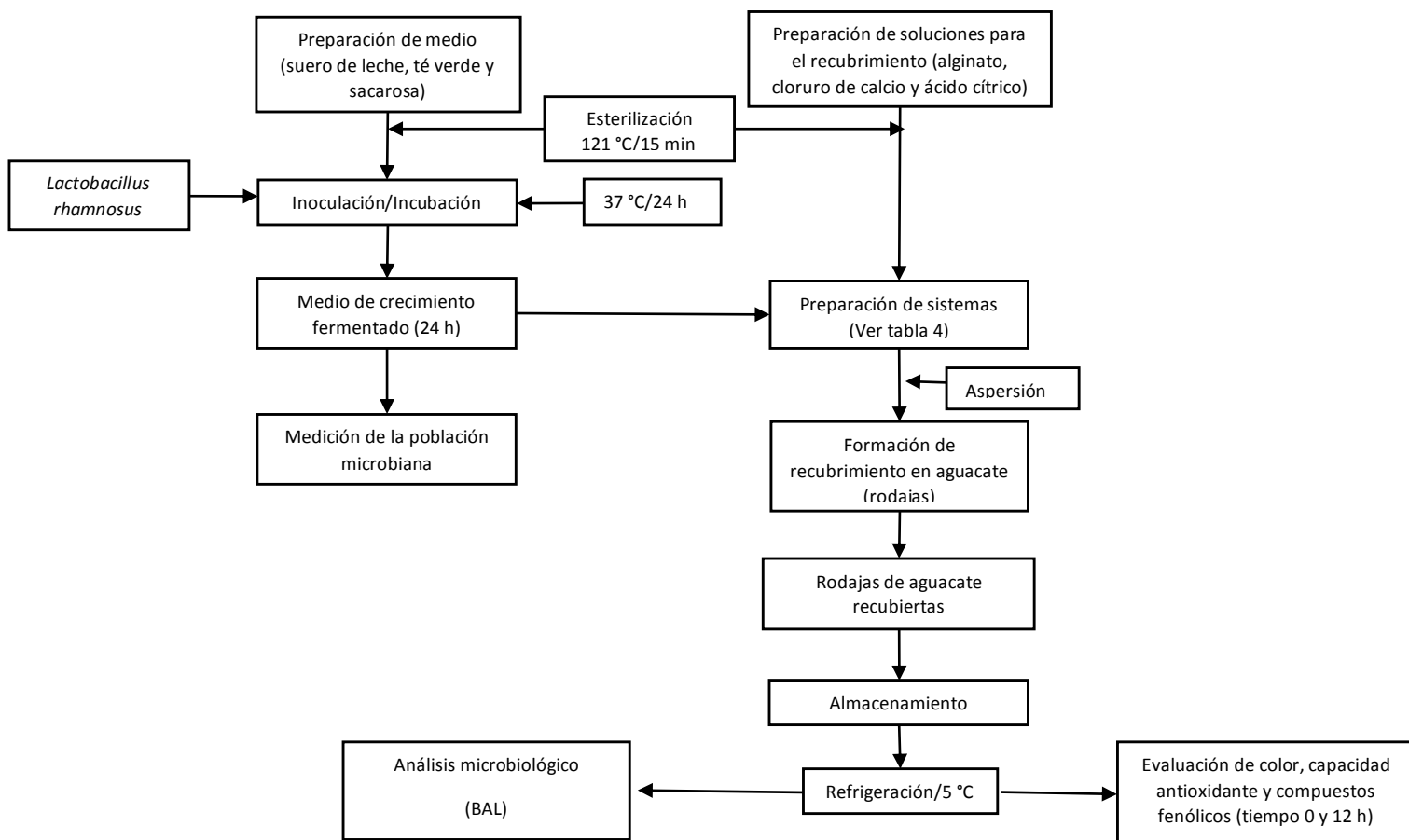


Figura 6. Esquema de trabajo para la elaboración de recubrimientos aplicados a rodajas de aguacate.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

- Material de vidrio: El necesario para cada determinación.
- Material biológico: Aguacate variedad Hass en buen estado, maduro, sin magulladuras o contaminación evidente; cepa de *Lactobacillus rhamnosus* de la colección de cepas del laboratorio de bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas, suero de leche y té verde marca Therbal.
- Reactivos: Los necesarios para cada determinación grado analítico o grado alimenticio.

Tabla 2. Métodos y referencias utilizados en la investigación.

Determinación	Técnica	Referencia
Color	Colorimetría	Rodríguez-Campos <i>et al.</i> , (2020)
Compuestos fenólicos	Método espectrofotométrico (Folin-Ciocalteu)	Rodríguez-Campos <i>et al.</i> , (2020)
Capacidad antioxidante	Método espectrofotométrico (DPPH)	Rodríguez-Campos <i>et al.</i> , (2020)
Bacterias ácido-lácticas (BAL)	Vertido en placa	NOM-092-SSA1-1994

Tabla 3. Equipos utilizados en la investigación.

Equipo	Marca	Modelo
Autoclave	CISA	AS-25
Balanza analítica	Ohaus – Serie Pioneer	PA 224C
Baño de agua AquaBath	Barnstead Lab-Line	18005AQ
Campana de flujo laminar vertical	Prendo	CFLV-102
Colorímetro	PCR	TCR 200
Contador de colonias	SOL-BAT	Q-20
Incubadora	LUZUREN	DHP-500
Incubadora orbital	Prendo	INO-650
Medidor de pH portátil	Conductronic	PH10
Parrilla digital	Fisher Scientific	Isotemp
Refrigerador	MABE	RMT510

7. METODOLOGÍA

7.1 Preparación del medio de cultivo

Se preparó un medio de cultivo a partir de una solución al 5% de suero de leche y sacarosa, junto con una infusión elaborada con una bolsa de té verde comercial (marca therbal) en 200 mL de agua a ebullición, la solución se mantuvo en reposos durante 15 min. Una vez preparado el medio, éste se esterilizó en una autoclave a 121 °C por 15 min. Posteriormente, el suero se inoculó con 2 mL de *Lactobacillus rhamnosus* y se incubó a 37 °C durante 24 h.

Se determinó en el medio fermentado la población de *L. rhamnosus* por el método de vertido en placa, usando agar MRS e incubando las cajas Petri en condiciones de anaerobiosis a 37 °C durante 24 h. Al término de la incubación se realizó el conteo de la población; los resultados fueron expresados como unidades formadoras de colonia (UFC/mL).

7.2 Preparación de sistemas para el recubrimiento

Se prepararon soluciones de alginato de sodio, cloruro de calcio y ácido cítrico, éstas se esterilizaron en una autoclave a 121 °C por 15 min.

A continuación, se formaron diferentes sistemas con las soluciones y el medio fermentado, manteniendo un pH = 3. En la Tabla 4 se muestran las concentraciones de las soluciones y la combinación de éstas para formar el recubrimiento que se aplicó sobre rodajas de aguacate variedad Hass.

Tabla 4. Formulación de los sistemas elaborados.

Sistemas	Medio fermentado	Alginato			Cloruro 3%	Ácido cítrico		Agua
		0.5%	10%	20%		0.5%	1%	
1	X		X		X	X		
2	X		X		X		X	
3	X			X	X	X		
4	X			X	X		X	
5								X
6	X							X
7		X			X			
8							X	

7.3 Aplicación del recubrimiento

Se seleccionaron aguacates en buenas condiciones, sin magulladuras y sin contaminación evidente. Se cortó el alimento en rodajas de aproximadamente 0.5 cm de grosor e inmediatamente se aplicaron por aspersion los sistemas que se muestran en la Tabla 4 para formar un recubrimiento homogéneo. Una vez aplicado el recubrimiento se realizaron los análisis descritos 7.4 y 7.5.

7.4 Análisis microbiológico

A las rodajas de aguacate recubiertas con los sistemas que contenían el medio fermentado en su formulación se les realizó un recuento de bacterias ácido-lácticas (BAL). Este análisis se realizó por el método de vertido en placa.

Se tomó una muestra del aguacate recubierto y se diluyó en agua peptonada. Posteriormente, se inocularon cuatro cajas Petri por duplicado, utilizando agar MRS e incubando las placas a 35 °C durante 24 h en condiciones anaeróbicas. Finalmente se

realizó el conteo en placa y se determinó la presencia de bacterias ácido-lácticas expresando los resultados como UFC/mL.

7.5 Evaluación de color, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos

Se determinó el color de los sistemas elaborados utilizando un colorímetro; midieron 3 diferentes zonas de cada una de las rodajas recubiertas.

Se determinaron los parámetros L^* (Luminosidad), a^* (+rojo, -verde) y b^* (+amarillo, -azul) de la escala CIELab, con estos parámetros se determinó el cambio neto de color (ΔE) usando la siguiente ecuación:

$$\Delta E = [(L_n - L_0)^2 + (a_n - a_0)^2 + (b_n - b_0)^2]^2$$

donde los subíndices n y 0 corresponden a los tiempos de medición (n son los diferentes tiempos de medición y 0 al tiempo después de la aplicación del recubrimiento). La medición del color se realizó a diferentes tiempos: 0, 1, 2, 4, 8, 12 y 16 h de colocado el recubrimiento.

Por otro lado, se realizó el análisis de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos, siguiendo la técnica del DPPH y el método de Folin-Ciocalteu, los cuales se describen a continuación.

Se realizó una extracción a los sistemas tales (S3, S4, S5, S6) con 50 ml de una mezcla de agua-acetona en una relación 70:30, durante 30 min en agitación constante. Transcurrido el tiempo se filtró el extracto obtenido y se diluyó con 15mL de etanol, esta dilución se centrifugó 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 un 1mL del extracto solubilizado en etanol, 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 el espectrofotómetro a 517 nm. La capacidad antioxidante fue expresada como mg de Trolox/100 g de muestra.

Los compuestos fenólicos totales se determinaron tomando una alícuota 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 la 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 min y se leyó en el espectrofotómetro a 765 nm. El contenido de compuestos fenolicos fue expresado como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g de muestra.

7.6 Almacenamiento

Las muestras de aguacate recubiertas se almacenaron en refrigeración (5°C) y se volvieron a estudiar mediante los análisis descritos en el apartado 7.4 y 7.5.

7.7 Análisis estadístico

Todas las determinaciones se hicieron por duplicado. Para el análisis de los datos se empleó el software Minitab 2016, en el cual se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación estadística de Tukey con un nivel de confianza de $\alpha=0.05$.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus* en sistema con suero de leche y té verde

La evaluación del crecimiento de *L. rhamnosus* en la solución con té verde, suero de leche y sacarosa después de 24 h de incubación fue de $2.31 \times 10^9 \pm 0.04$ UFC/mL lo que equivale a 9.36 ciclos logarítmicos esta población se encuentra 2 ciclos por arriba de lo reportado para bacterias ácido-lácticas con capacidad probiótica, la cual debe ser de 1×10^6 UFC/mL (FAO-WHO, 2006). También se encuentra por arriba de lo reportado por Montero-Lagunes *et al.* (2009), quienes mencionan que el crecimiento de *Lactobacillus casei* en suero de leche fue de 1×10^7 UFC/mL. Esto se puede atribuir a la presencia de suero de leche en el sistema, debido a que el suero de leche contiene proteína 2.2%, bajo contenido de grasa 0.5% y lactosa 4.3%, nutrientes que fueron aprovechados por el microorganismo (Montero-Lagunes *et al.*, 2009). Por otro lado, Torres Rodelo (2018) reportó que *L. rhamnosus* presenta un crecimiento máximo de 12.5 ciclos logarítmicos en lactosuero adicionado con inulina al 2% y extracto de levadura 4.9%, la población obtenida en nuestra investigación es menor en comparación con el trabajo mencionado; sin embargo, el sistema formulado por nosotros no contenía sustancias prebióticas o fuentes extras de nitrógeno, por lo que el medio formulado para esta investigación puede ser un buen vehículo para el crecimiento de *Lactobacillus*.

8.2. Aplicación de los recubrimientos sobre rodajas de aguacate

La Figura 7 muestra la aplicación de los recubrimientos sobre las rodajas de aguacate de los sistemas elaborados, indicados en la Tabla 4 y numerados en las placas como S1 a S8. Para los sistemas S1, S2, S3, S4 y S7 la consistencia del recubrimiento fue gelatinosa y se mantuvo sobre la superficie de la rodaja; mientras que en los sistemas S5, S6, y S8 no se apreció dicha consistencia, ésta se escurría sobre la rodaja, esto último debido a que no se presenta la interacción alginato-cloruro en estos sistemas.

La interacción de alginato-cloruro se debe a un intercambio iónico, el cual es una reacción química reversible que se da cuando un ion se intercambia por otro de igual carga que se encuentra unido a una partícula sólida inmóvil. En el caso del alginato, éste tiene la capacidad de formar un gel a partir de un intercambio iónico con el cloruro de calcio en la que el sodio es remplazado por el calcio (González Alvarado, 2009). El alginato es un polisacárido que puede formar cadenas lineales en las cuales existen cavidades donde se puede acomodar un ion de calcio. Al realizarse el intercambio iónico, el alginato experimenta un cambio de conformación dando lugar al modelo de “caja de huevo” en el cual se forman enlaces entre las cadenas adyacentes del polímero dando como resultado un gel brillante (Avendaño-Romero et al., 2013).

Por otro lado, los sistemas S5, S6, y S8 están formulados únicamente con agua, agua-medio fermentado y ácido cítrico, respectivamente. La ausencia del alginato en estos sistemas de base acuosa ocasiona que no exista un proceso de gelificación como en los otros sistemas, lo cual provoca que no haya una interacción entre los componentes y por tanto genera que el recubrimiento escurra sobre las rodajas de aguacate.



Figura 7. Rodajas de aguacate recubiertas con alginato, solución de té verde y *Lactobacillus*.







8.3. Evaluación del color de rodajas de aguacate aplicadas con el recubrimiento

La Tabla 5 muestra la evaluación del color que presentaron las rodajas de aguacate cubiertas con los recubrimientos, a diferentes tiempos (1 – 16 h). Como se puede observar, para el tiempo de 1 h, las rodajas de aguacate analizadas no presentaron ningún cambio de color y textura evidente. Después de 4 h el cambio de color es aún imperceptible, así como la textura de las muestras. Sin embargo, a partir de la hora 8 se comenzó a observar oscurecimiento en algunos sistemas. Para las 12 h, además de tener un cambio de color apreciable, las muestras comenzaron a presentar cambios en la textura. Finalmente, a las 16 h es completamente visible el cambio de color y de textura en las rodajas de aguacate.

Como se describió anteriormente, la actividad de la enzima polifenoloxidasasa es la responsable del oscurecimiento de frutas y verduras ricas en polifenoles; por lo que es importante inhibir esta enzima para reducir el oscurecimiento en los alimentos. En la actualidad se desarrollan diferentes métodos de inhibir la actividad de la PPO para mantener la calidad de los alimentos; sin embargo, de acuerdo con las tendencias actuales, también se deben satisfacer las necesidades de los consumidores que buscan atención a las fuentes naturales, los beneficios para la salud y la sostenibilidad (Moon *et al.*, 2020).

Se han realizado diversos trabajos sobre las formas de inhibir la actividad de la PPO y reducir el oscurecimiento en los alimentos. En este sentido, Almeida y Nogueira (1995) investigaron el uso de métodos de inhibición de la PPO en frutas y verduras con el fin de eliminar o reducir el uso de sulfitos, un agente inhibidor tradicional, pero dañino para la salud. Encontraron que para el caso del aguacate la actividad de la PPO fue resistente a la mayoría de los tratamientos empleados, donde el uso de sulfitos fue el inhibidor más eficiente de la actividad de la PPO del aguacate.

Tabla 5. Rodajas de aguacate recubiertas durante diferentes tiempos de evaluación de color.

Tiempo /h	1	2	4
Evidencia			
Tiempo /h	8	12	16
Evidencia			

El color es una de las características más importantes en los alimentos, ya que éste es un valor estético y de frescura, la selección inicial de un alimento siempre se hace con el sentido de la vista, por lo cual es una característica que se debe cuidar durante el almacenamiento de estos.

En este trabajo se buscó utilizar compuestos que redujeran el oscurecimiento, por lo cual se incluyó en la elaboración de los sistemas el té verde. Éste es rico en antioxidantes polifenólicos, siendo las catequinas las de mayor proporción; esta característica es gracias a que las hojas son frescas y no pasan por un proceso de oxidación enzimática (Hernández Figueroa *et al.*, 2004). De igual manera se incluyó al ácido cítrico debido a que permite mantener un pH bajo, lo que inhibe la actividad enzimática. Asimismo, el ácido cítrico actúa como agente quelante lo cual también inhibe la actividad de la PPO (Silveira, 2017; Campos Martin, 2014). Sin embargo, a pesar de la adición de estos ingredientes no fue posible evitar el oscurecimiento en las rodajas de aguacate, después de 8 h.

La Figura 8 muestra cuantitativamente el cambio neto de color que presentaron las rodajas de aguacate cubiertas, se presenta únicamente la evaluación durante 12 h, debido a que como se observó en la Tabla 5, a las 12 h las rodajas de aguacate presentaban afectación de la textura.

Esta evaluación se hizo midiendo el cambio neto de color (ΔE), este parámetro se refiere a la diferencia que existe entre dos o más muestras. La norma ISO 126547-2 estipula los estándares de tolerancia para el ΔE , la cual indica que un valor superior a 5 es inaceptable en la mayoría de los procesos en los que indican diferencia de color especialmente evidente. En la Figura 8 se puede observar que los sistemas más afectados transcurridas 12 h de aplicado el recubrimiento son 1, 2, y 7, los cuales superan el ΔE de 20. San Martín (2021) determinó que los valores de ΔE en manzana verde en diferentes estados de madurez, osciló entre 10.2 y 15.4, estos valores son mayores a 5; sin embargo, debe existir una diferencia grande para que los cambios de color se puedan observar a simple vista (PCC Group, 2020).

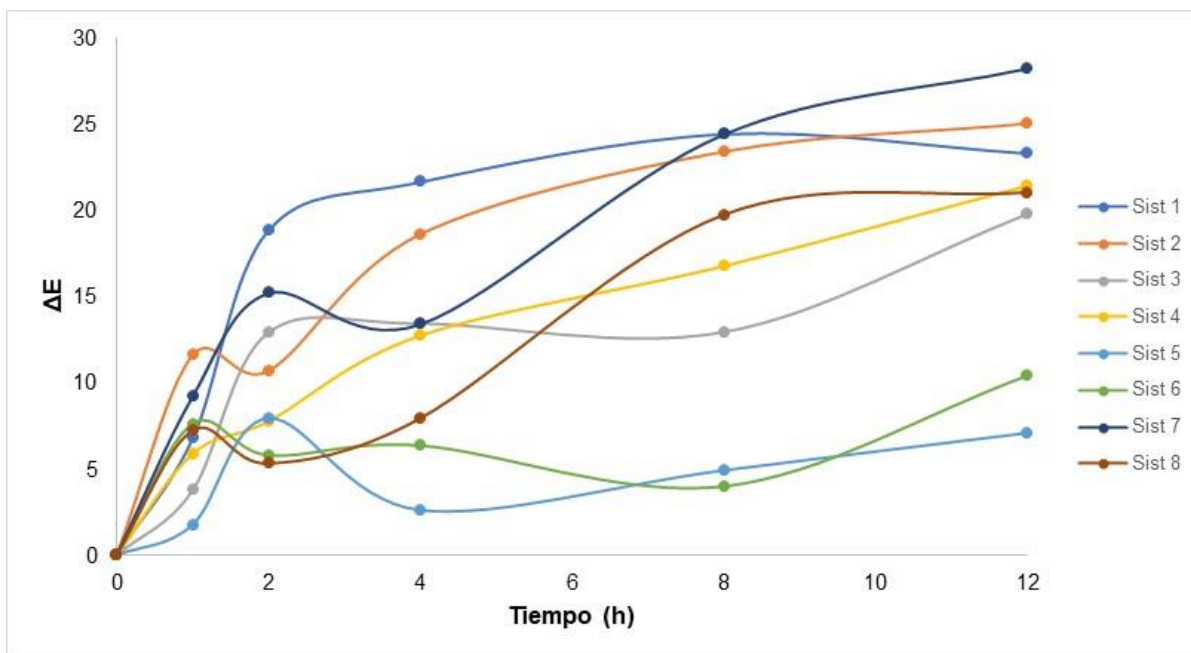


Figura 8. Cambio de color de rodajas de aguacate recubiertas con alginato, solución de té verde y *Lactobacillus rhamnosus*.

Por otro lado, los sistemas que menor afectación presentaron son el 5 y 6 con un ΔE menor a 10, en cambio los sistemas 3 y 4 presentaron un ΔE mayor a 10, estos tenían en su composición el medio fermentado adicionado con té verde y ácido cítrico, como se mencionó anteriormente estos ingredientes no fueron obstáculos suficientes para evitar la afectación por la PPO, sin embargo, tuvieron menor afectación; por lo cual, se decidió que a estos recubrimientos se les evaluará la población de BAL, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos.

8.4. Evaluación de la población microbiana de rodajas de aguacate aplicadas con el recubrimiento y almacenadas en refrigeración

La Figura 9 muestra la población de *L. rhamnosus* en las rodajas de aguacate recubiertas con los sistemas en los cuales se utilizó el medio fermentado (sistemas 3, 4 y 6). Puede observarse que el crecimiento fue mayor en el sistema 6 alcanzando 8 ciclos logarítmicos ($p < 0.05$), mientras que los sistemas 3 y 4, la población se redujo 1 ciclo logarítmico. En el caso del sistema 6 sólo tenía el medio fermentado y agua, no

tenía alginato, cloruro, ni ácido cítrico, por lo que se puede suponer que estos componentes influyen en el crecimiento de *L. rhamnosus*.

La disminución de un ciclo logarítmico en el crecimiento de *L. rhamnosus* en los sistemas 3 y 4, respecto al sistema 6, puede atribuirse a la composición de estos. Debido a que presentaban en su composición alginato de sodio, cloruro de calcio y ácido cítrico, este último es un compuesto que disminuye el pH. Draget et al. (2005) mencionan que la exposición prolongada a tratamientos térmicos y variaciones de pH, degradan al alginato por lo cual se puede ver afectado y así provocar que el recubrimiento adicionado con *L. rhamnosus* disminuya su población al no estar encapsulado totalmente. Por otra parte, el alginato y el cloruro de calcio son sales, las cuales pueden afectar el crecimiento de las bacterias, ya que un aumento en la concentración de sal produce una disminución en la velocidad de crecimiento y un aumento en la fase de latencia; es decir, un retardo en el crecimiento (Girard, 1991).

De acuerdo con Parra Huertas (2010), el recuento de las bacterias ácido-lácticas debe estar en un rango de 10^6 - 10^7 UFC/mL o g, para considerarse como un cultivo probiótico, por lo que la población de BAL presente en los sistemas 3, 4 y 6 cumple con lo reportado en la bibliografía, lo que permite considerar que los recubrimientos elaborados tengan microorganismos con capacidad probiótica.

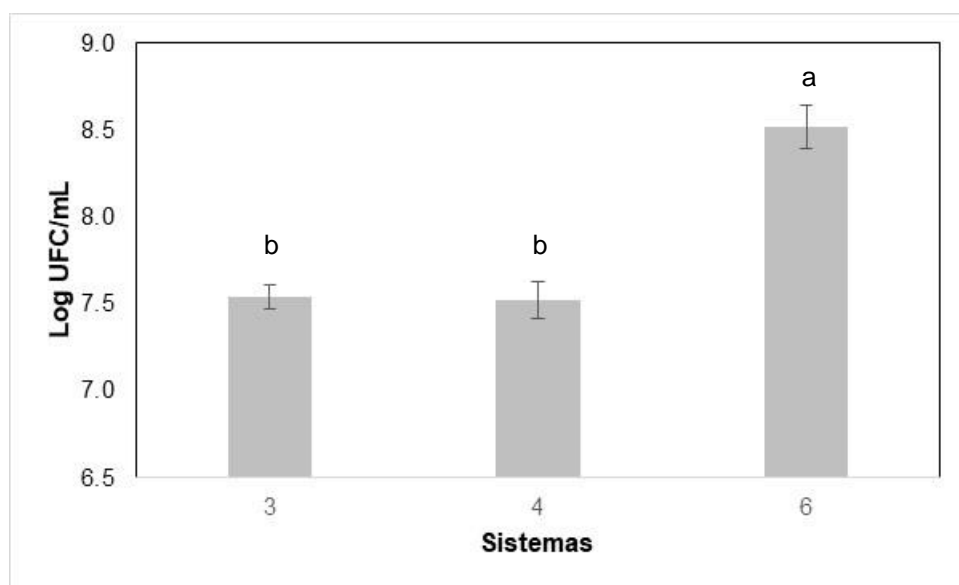


Figura 9. Población de *Lactobacillus rhamnosus* en rodajas de aguacate almacenadas durante 24 h en refrigeración a 5°C.

8.5. Evaluación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de rodajas de aguacate aplicadas con el recubrimiento y almacenadas en refrigeración

La Figura 10 muestra los compuestos fenólicos en las rodajas de aguacate recubiertas después de la aplicación (tiempo 0 h) y después del almacenamiento en refrigeración 5°C (tiempo 12 h). Se observa que no hay diferencia en el contenido de compuestos fenólicos de los recubrimientos aplicados a las rodajas de aguacate, aunque algunos sistemas (3 y 5) presentan los valores más altos (16.26 ± 2.70 y 14.18 ± 2.97 mg EAG/100 g, respectivamente), no hay diferencia estadística ($p < 0.05$) entre los diferentes sistemas. Los valores de compuestos fenólicos de las rodajas de aguacate recubiertas (tiempo 0 h) son similares a los determinados por Rodríguez-Carpena et al. (2011), quienes reportan valores de 17.19 a 22.62 mg EAG/100 g en pulpa de aguacate fresca variedad Hass. Por otro lado, después de 12 h se afectaron los compuestos fenólicos, ya que se redujeron en todos los sistemas, siendo diferentes estadísticamente respecto al tiempo 0 ($p < 0.05$), aunque entre ellos no hay diferencia estadística ($p > 0.05$). La menor afectación se presentó en el sistema 5, con una reducción del 55%; mientras que en los sistemas 3, 4 y 6 la reducción de fenoles fue de 67, 75 y 64%, respectivamente. Esta disminución de compuestos fenólicos a las 12 h puede ser debida a que el recubrimiento no se atribuyó de forma uniforme sobre la rodaja de aguacate. Además, los valores de compuestos fenólicos después del almacenamiento son diferentes a los reportado por otros autores, quienes mencionan que los compuestos fenólicos de pulpa de aguacate después de 7 días de almacenamiento en refrigeración se mantienen constantes o incluso incrementan durante el almacenamiento (Prabath Pathirana *et al.*, 2013), esto se puede deber a la composición de los sistemas (3, 4 y 6), debido a que algunos compuestos antioxidantes pueden actuar en forma sinérgica, aditiva o antagónica. Por ejemplo, el ácido ascórbico y α -tocoferol (presente en el aguacate) producen actividad sinérgica (Choe y Min, 2009), sin embargo, en este trabajo no se observa esta actividad sinérgica pues no hay un incremento de los compuestos fenólicos, lo cual puede deberse a factores como la variedad, el estado de madurez, la temporada de cosecha, incluso el solvente usado para la extracción y análisis de los compuestos fenólicos (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011).

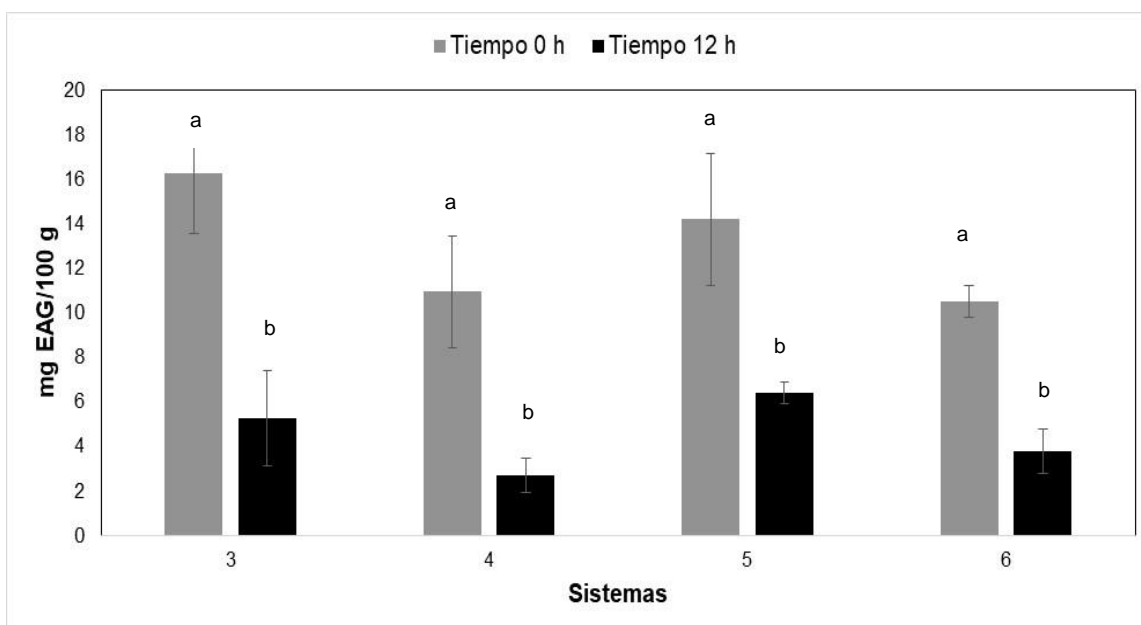


Figura 10. Compuestos fenólicos en rodajas de aguacate después de la aplicación del recubrimiento y a las 12 h en refrigeración a 5°C.

Los datos obtenidos para la capacidad antioxidante de rodajas de aguacate recubiertas después de la aplicación (tiempo 0 h) y las 12 h se presentan en la Figura 11. Se puede observar que se mantiene el mismo comportamiento que para los compuestos fenólicos. Para el caso de los sistemas 3, 4 y 5, no hay diferencia en la capacidad antioxidante de los recubrimientos aplicados a las rodajas de aguacate al tiempo 0. A pesar de que los sistemas 3 y 5 son los que mostraron los valores mayores que van de 217.90 a 219.19 mg Trolox/100 g no hay diferencia estadística ($p < 0.05$) entre estos sistemas, únicamente con el sistema 6 donde se obtuvo un valor de 127.54 mg Trolox/100g. Mientras que, a las 12 h de haber aplicado el recubrimiento, se disminuyó la capacidad antioxidante en todos los sistemas siendo estadísticamente iguales respecto al tiempo 0 ($p < 0.05$).

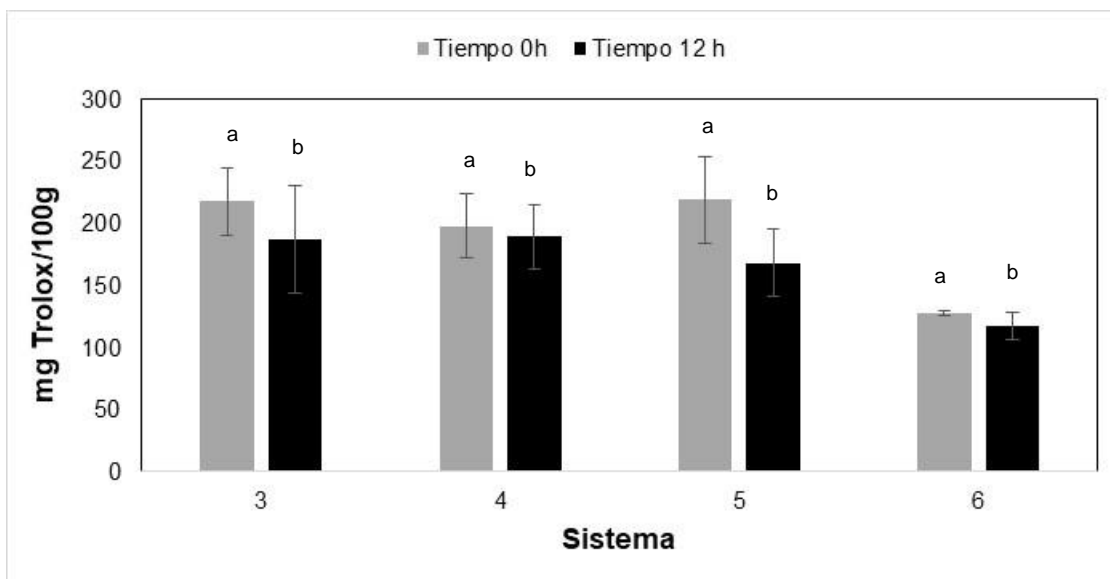


Figura 11. Capacidad antioxidante en rodajas de aguacate después de la aplicación del recubrimiento y a las 12 h en refrigeración a 5°C.

De acuerdo con Yar Narváez (2021), la variedad Hass presenta valores de capacidad antioxidante que van de 106.93 a 112.20 mg Trolox/100 g, por lo que los valores obtenidos en este trabajo están por encima del valor reportado. Esto se debe a que los sistemas estudiados fueron enriquecidos con el té verde, un componente rico en antioxidantes.

Finalmente, como se mencionó anteriormente la disminución de la capacidad antioxidante después de 12 h puede ser debida a la afectación de los compuestos fenólicos, mismos que se redujeron y por ende afectaron la capacidad antioxidante.

9. CONCLUSIONES

- El medio adicionado con suero de leche, sacarosa y té verde, utilizado en esta investigación resultó adecuado para el crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus*.
- Se logró la formación de recubrimientos con alginato aplicados sobre rodajas de aguacate, con los cuales se pudo controlar el oscurecimiento enzimático y la mantener la textura, durante 8 h y en refrigeración a 5°C.
- Las rodajas de aguacate recubiertas con los sistemas 5 y 6 presentaron un menor cambio neto de color ($\Delta E < 10$).
- Las rodajas de aguacate recubiertas con los sistemas 3, 4 y 6 mantuvieron la población de *L. rhamnosus* por arriba de 6 ciclos logarítmicos, lo cual es suficiente para que se pueda considerar como un recubrimiento funcional.
- El contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las rodajas de aguacate recubiertas con los sistemas 3, 4, 5 y 6, se encuentra dentro de la reportado para puré de aguacate, sin embargo, se presentó una reducción después del almacenamiento, atribuida a la composición de los sistemas, observándose que al ser adicionados compuestos antioxidantes, estos pueden actuar en forma sinérgica, aditiva o antagónica.
- Los recubrimientos presentaron una capacidad antioxidante superior a lo reportado en aguacate, esto debido en gran medida a que los sistemas estudiados fueron enriquecidos con té verde, un componente rico en antioxidantes.

10. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas sensoriales a las rodajas de aguacate recubiertas para comprobar su aceptabilidad entre la población.
- Evaluar el proceso de rancidez en las rodajas de aguacate recubiertas como parte de las características de calidad.
- Evaluar otras formas de aplicación del recubrimiento para determinar su efectividad en el control del oscurecimiento enzimático.
- Determinar la actividad de la PPO, para conocer el nivel de deterioro producido por la enzima en las rodajas de aguacate.
- Evaluar la aplicación del recubrimiento en puré de aguacate, para determinar si existe un mayor efecto sobre el oscurecimiento.

11. REFERENCIAS

Almeida, M.E.M., & Nogueira, J.N. (1995). The control of polyphenol oxidase activity in fruits and vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, 47, 245-256.

Arredondo Ochoa, T. (2012). Diseño de empaques comestibles activos a base de almidón modificado para su posible aplicación en alimentos en fresco (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Querétaro.

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, 494, 161-172.

Avendaño-Romero, G.C., López-Malo, A., & Palou, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7, 87-96.

Banerjee, A., Suprasanna, P., Variyar, P.S., & Sharma, A. (2015). Gamma irradiation inhibits wound induced browning in shredded cabbage. *Food Chemistry*, 173, 38-44.

Barrientos, A., Muñoz, R., Reyes, J.C., Borys, M., & Martínez, M.T. (2008). Taxonomía, cultivares y portainjertos. In *El aguacate y su manejo integrado*, (eds D. Téliz and A. Mora), Mundi Prensa, México, 29-62.

Bergh, B. (1992). The origin, nature, and genetic improvement of the avocado. *California Avocado Society Yearbook*, 76, 61-75.

Bhuyan, D.J., Alsherbiny, M.A., Perera, S., Low, M., Basu, A., Devi, O.A., Barooah, M.S., Li, C.G., & Papoutsis, K. (2019). The odyssey of bioactive compounds in avocado (*Persea americana*) and their health benefits. *Antioxidants*, 8, 426.

Bower, J.P., & Cutting, J.G. (1988). Avocado fruit development and ripening physiology. *Horticultural Reviews*, 10, 229-271.

Cagri, A., Ustunol, Z., & Ryser, ET. (2004). Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*, 67, 833-848.

Campos Martin, T.B. (2014). Efecto del ácido cítrico en la inhibición del oscurecimiento enzimático de la yuca blanca (*Manihot esculenta* Crantz) mínimamente procesada, envasada y almacenada en refrigeración – Departamento de Ucayali (Tesis profesional). Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia.

- Carr, F.J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28, 281-370.
- Choe, E., & Min, D.B. (2009). Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 345-358.
- Cowan, A.K. & Wolstenholme, B.N. (2016). Avocado. *Encyclopedia of Food and Health*, 294-300.
- Devece, C., Rodríguez-López, J.N., Fenoll, L.G., Tudela, J., Catalá, J.M., de los Reyes, E., & García-Cánovas, F. (1999). Enzyme inactivation analysis for industrial blanching applications: Comparison of microwave, conventional, and combination heat treatments on mushroom polyphenoloxidase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4506-4511.
- Dhall, R.K. (2013). Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 435-450.
- Doyle, M.P., Beuchat, L.R., & Montville, T.J. (1997). Food Microbiology. Fundamentals and frontiers. ASM Press, Washington D.C., U.S.A.
- Draget, K.I., Smidsrød, O., & Skjåk-Bræk, G. (2005). Alginates from algae. Polysaccharides and polyamides in the food industry: properties, production, and patents, 1-30.
- Duarte, P.F., Chaves, M.A., Borges, C.D., & Mendonça, C.R.B. (2016). Avocado: characteristics, health benefits and uses. *Ciência rural*, 46, 747-754.
- Falguera, V., Quintero, J.P., Jiménez, A., Muñoz, J.A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 292-303.
- Fernández Valdés, D., Bautista Baños, S., Fernández Valdés, D., Ocampo Ramírez, A., García Pereira, A., & Falcón Rodríguez, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24, 52-57.

Food and Agriculture Organization, & World Health Organization. (2006). Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. FAO.

FoodData Central. (2019). U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Avocados, Raw, California. [Consultado en línea el: 17/08/2022]. Disponible en: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171706/nutrients>

García, F., & Davidov-Pardo, G. (2021). Recent advances in the use of edible coatings for preservation of avocados: A review. *Journal of Food Science*, 86, 6-15.

Girard, J.P. (1991). Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. Zaragoza, España, Ed. Acribia S.A.

Goldstein, E.J., Tyrrell, K.L., & Citron, D.M. (2015). *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60, S98-S107.

González Alvarado, G.G. (2009). Estabilidad e intercambio de iones calcio en geles de alginato (Reporte de residencia profesional). Instituto Tecnológico de Durango.

Gutiérrez-Contreras, M., Lara-Chávez, M.B.N., Guillén-Andrade, H., & Chávez-Bárceñas, A.T. (2010). Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia*, 35(9), 647-653.

Hernández Figueroa, T.T., Rodríguez-Rodríguez, E., & Sánchez-Muniz, F.J. (2004). El té verde ¿Una buena elección para la prevención de enfermedades cardiovasculares? *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54, 380-394.

Hernandez-Mendoza, A., Robles, V.J., Angulo, J.O., De La Cruz, J., & Garcia, H.S. (2007). Preparation of a whey-based probiotic product with *Lactobacillus reuteri* and *Bifidobacterium bifidum*. *Food Technology and Biotechnology*, 45, 27-31.

Hickey, M. (2017). Current legislation of probiotic products. In probiotic dairy products (eds A.Y. Tamime and L.V. Thomas).

ISO 12647-2: 2004/Amd 1:2007. Graphic technology – Process control for the production of half-tone colour separations, proof and production prints – Part 2: Offset lithographic processes.

- Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Bioscience*, 1, 1-13.
- Khue, N.T.H., & Vinh, D.T.T. (2013). Effects of carbon sources on cell differentiation of *Lactobacillus rhamnosus* PN04 and applications. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 6(2), 197-203.
- Lu, Q.Y., Zhang, Y., Wang, Y., Wang, D., Lee, R., Gao, K., Byrns, R., & Heber, D. (2009). California Hass Avocado: Profiling of Carotenoids, Tocopherol, Fatty Acid, and Fat Content during Maturation and from Different Growing Areas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 10408-10413.
- Mancini, M., Moresi, M., & Rancini, R. (1999). Mechanical properties of alginate gels: empirical characterisation. *Journal of Food Engineering*, 39, 369-378.
- Martínez, M.V., & Whitaker, J.R. (1995). The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends Food Science & Technology*, 6, 195-200.
- Montero-Lagunes, M., Juárez-Lagunes, F.I., & García-Galindo, H.S. (2009). Suero de leche fermentado con lactobacilos para la alimentación de becerros en el trópico. *Agrociencia*, 43, 585-593.
- Moon, K.M., Kwon, E.B., Lee, B., & Kim, C.Y. (2020). Recent trends in controlling the enzymatic browning of fruit and vegetable products. *Molecules*, 25, 2754.
- Nicolas, J., Billaud, C., Rouet-Mayer, M.A., & Philippon J. (Retired). (2003). BROWNING | Enzymatic - Technical Aspects and Assays. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, (ed. B. Caballero), Academic Press, 686-692.
- Nicoli, M.C., Anese, M., & Severini, C. (1994). Combined effects in preventing enzymatic browning reactions in minimally processed fruit. *Journal of Food Quality*, 17, 221-229.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- Özoglu, H., & Bayindirli, A. (2002). Inhibition of enzymatic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. *Food Control*, 13, 213-221.

Parra Huertas, R.A. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8, 93-105.

Parra, H.R.A. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 62, 4967-4982.

PCC Group. (2020). ¿Cómo describimos los colores? Modelos de color independientes. [Consultado en línea el: 22/10/2022]. Disponible en: <https://www.products.pcc.eu/es/blog/como-describimos-los-coloresmodelos-de-color-independientes/>

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

Poveda, E. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Revista Chilena de Nutrición*, 40, 397-403.

Prabath Pathirana, U.A., Sekozawa, Y., Sugaya, S., & Gemma, H. (2013). Changes in lipid oxidation stability and antioxidant properties of avocado in response to 1-MCP and low oxygen treatment under low-temperature storage. *International Food Research Journal*, 20, 1065-1075.

Queiroz, C., Mendes Lopes, M.L., Fialho, E., & Valente-Mesquita, V.L. (2008). Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. *Food Reviews International*, 24, 361-375.

Ramírez Ramírez, J.C., Rosas Ulloa, P., Velázquez González, M.Y., Ulloa, J.A., & Arce Romero, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 7, 1-15.

Rodríguez-Campos, S.V., Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa, R., Ruiz-López, I.I., & Ochoa-Velasco, C.E. (2020). 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., Kylli, P., & Estevez, 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.

Samaniego, F., Sosa del Castillo, R. (2006). *Lactobacillus spp.* Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora. Centro de Estudios Biotecnológicos. Facultad de Agronomía. Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos.

San Martín, A.A. (2021) Medición de Color de frutas (manzana verde, limón y mandarina) en distinto grado de Madurez. [Consultado en línea el: 22/10/2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/358982707_Medicion_de_Color_de_frutas_manzana_verde_limon_y_mandarina_en_distinto_grado_de_Madurez

Sánchez, L., & Tromps, J. (2014). Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. *Revista de Salud Animal*, 36, 124-129.

Sánchez-González, L., Pastor, C., Vargas, M., Chiralt, A., González-Martínez, C., & Cháfer M. (2011). Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 57-63.

Scora, R.W., & Bergh, B. (1990). The origins and taxonomy of avocado (*Persea americana*) Mill. *Lauraceae. Acta Horticulturae*, 275, 387-394.

Senanayake, S.P.J.N. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications - A review. *Journal of functional foods*, 5(4), 1529-1541.

Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*, 44, 158-163.

Sharma, S. & Rao, T.V.R. (2015). Xanthan gum based edible coating enriched with cinnamic acid prevents browning and extends the shelf-life of fresh-cut pears. *LWT-Food Science and Technology*, 62, 791-800.

SIAP. (2021). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. [Consultado en línea el: 12/07/2022]. Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Silveira, A.C. (2017). Uso de aditivos y métodos físicos para mantener la calidad de los productos de IV gama o mínimamente procesados. *Agrociencia (Uruguay)*, 21, 1-6.

Sinija, V.R., & Mishra, H.N. (2008). Green tea: Health benefits. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 17, 232-242.

Tinello, F., & Lante, A. (2018). Recent advances in controlling polyphenol oxidase activity of fruit and vegetable products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 50, 73-83.

Torres Rodelo, M.D.R. (2018) Evaluación tecnológica del proceso de obtención de biomasa de microorganismos probióticos en medio de cultivo formulado con suero lácteo suplementado (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia.

Valík, L., Medved'ová, A., & Liptáková, D. (2008). Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. *Journal of Food and Nutrition Research*, 47, 60-67.

van Reenen, C.A., & Dicks, L.M. (2011). Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities? A review. *Archives of microbiology*, 193, 157-168.

Vangnai, T., Wongs-Aree, C., Nimitkeatkai, H., & Kanlayanarat, S. (2006). Quality maintaining of 'Daw' longan using chitosan coating. *Acta Horticulturae*, 712, 599e604.

Villamil, L., Astier, M., Merlín, Y., Ayala-Barajas, R., Ramírez-García, E., Martínez-Cruz, J., Devoto, M., & Gavito, M.E. (2018). Management practices and diversity of flower visitors and herbaceous plants in conventional and organic avocado orchards in Michoacán, Mexico. *Agroecology and Sustainable Food Systems*, 42, 530-551.

Yar Narváez, D.M. (2021). Evaluación físico-química y determinación de capacidad antioxidante en dos variedades de aguacate (*Persea americana* Mill) por efecto del tipo de riego (Tesis de grado). Universidad Central del Ecuador.

Zafar, T., & Sidhu, J.S. (2010). Avocado: Production, quality, and major processed products. In *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*, (ed N.K. Sinha), 525-543.