

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA POR CONTACTO DE VAPOR DE  
ANTIMICROBIANOS DE ORIGEN NATURAL ADICIONADOS A PELÍCULAS  
COMESTIBLES DE ALMIDÓN EN *Rhizopus* SPP**

Camacho-Proo, J.E., Avila-Sosa, R.\*, Navarro-Cruz, A.R., Dávila-Márquez, R.M., Vera-López, O.

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas,  
Departamento de Bioquímica-Alimentos, Edificio 105H Ciudad Universitaria, San Manuel,  
C.P. 72530, Puebla, Puebla, México

\* [raul.avila@correo.buap.mx](mailto:raul.avila@correo.buap.mx)

## RESUMEN

Las películas comestibles tienen la capacidad de incorporar una gran variedad de aditivos, como los aceites esenciales, con la capacidad para extender la vida en anaquel de un alimento. La mayoría de los componentes activos de dichos aceites esenciales al ser volátiles tienen la capacidad de inhibir sin estar en contacto directo con el agente patógeno o deteriorador en un alimento, por lo que el objetivo general de este trabajo fue el de evaluar la actividad antifúngica por contacto de vapor de timol, eugenol y cinamaldehído adicionado a películas comestibles de almidón en *Rhizopus* spp. Se prepararon películas de almidón adicionadas con concentraciones de timol de 0 a 3200 ppm, dichas películas estuvieron en contacto de vapor por medio del método de placa invertida con *Rhizopus* spp. en donde se midió la concentración mínima inhibitoria (CMI) y el crecimiento radial. Se obtuvo una CMI de 1600 ppm los tres antimicrobianos, las curvas de crecimiento radial indican que a concentraciones menores a la CMI hay un efecto fungistático que afecta no sólo el crecimiento sino también la morfología y esporulación de *Rhizopus* spp.

## ABSTRACT

Edible films can incorporate antimicrobial agents, such as essential oils, to provide microbiological stability, since they can be used as carriers of a wide number of additives that can extend product shelf life and reduce the risk of microbial growth on food surfaces without direct contact. The aim of this study was to evaluate inhibition of *Rhizopus* spp. by vapor contact of selected concentrations of thymol, eugenol and cinamaldehyde added to starch edible films. Starch edible films were formulated with thymol concentration of 0.00, to 3200 ppm. The antifungal activity in the gas phase were evaluated by determining the colony diameter and minimum inhibitory concentrations (MIC) on mold growth on the agar inoculated with *Rhizopus* spp. after exposure to vapors arising from thymol, eugenol and cinamaldehyde added to starch films placed on the inverted lids of Petri dishes during incubation. MIC of natural antimicrobials value were at 1600 ppm, growth curves showed at values below MIC a fungistatic effect.

**Palabras clave:** Antimicrobianos de origen natural, películas comestibles, contacto fase de vapor.

**Área:** Microbiología y biotecnología

## INTRODUCCIÓN

Una película comestible se define como una capa delgada de un material el cual puede ser proteína o polisacárido como una solución hidrocoloide, o como una emulsión con lípidos, que posteriormente es colocado como un recubrimiento sobre el alimento. Estas películas comestibles han sido desarrolladas con el fin de extender la vida útil de los productos alimenticios o enriquecerlos. Pueden usarse como soporte de agentes antimicrobianos, antioxidantes o nutrientes tales como vitaminas y minerales, como portadoras de otros aditivos o para enlentecer la migración de humedad y lípidos o el transporte de gases y solutos (Carrasco *et al.*, 2002; Guilbert, 1996).

Entre los recientes agentes antimicrobianos incorporados en películas comestibles se encuentran los aceites esenciales (derivados de hierbas y especias) esta actividad se debe a la presencia de ciertos compuestos presentes como timol, cinamaldeído, eugenol entre otros (Kim *et al.*, 1995; Skandamis y Nychas 2000), los cuales han demostrado inhibir a microorganismos deterioradores de alimentos, tales como, *Aspergillus niger*, *Penicillium* spp. (Ávila-Sosa *et al.*, 2010), también se ha demostrado que los aceites esenciales incorporados a películas comestibles tienen la capacidad de migrar en fase de vapor e inhibir el crecimiento de ciertos hongos (Ávila-Sosa *et al.* 2012), por lo que el objetivo de este trabajo es el valorar la efectividad timol, eugenol y cinamaldeído incorporado a películas comestibles de almidón en fase de vapor para inhibir a *Rhizopus* spp.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó almidón para elaborar las películas comestibles con sorbitol como plastificante (2% p/V) de la formulación y se adicionó timol, eugenol y cinamaldeído a concentraciones de 0, 200, 400, 800, 1600 y 3200 ppm. Una vez obtenidas las diferentes soluciones se vertieron en las tapas de placas Petri de plástico estériles y se secaron en una estufa de vacío a 35°C.

Para la evaluación del efecto antifúngico se utilizó la metodología de placa invertida (Du *et al.*, 2009) en donde se colocó en el centro de una placa con agar papa dextrosa esporas de *Rhizopus* spp., posteriormente la tapa que contenía la película comestible correspondiente y se midió el crecimiento radial cada 12 horas por 8 días a una temperatura de incubación de 25°C. La CMI se determinó en aquella concentración donde hubo inhibición completa del crecimiento radial. Cada experimento se hizo por triplicado y para asegurar la viabilidad de la cepa se realizó un crecimiento de control el cual no tenía película.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del contacto por fase de vapor resultó efectivo para los tres tipos de antimicrobianos naturales probados siendo su CMI de 1600 ppm. A concentraciones menores (400 y 800 ppm) aunque no hubo inhibición se pudo observar una morfología colonial diferente, lo que indica que los vapores generados por los diferentes antimicrobianos utilizados afectaron la esporulación de *Rhizopus* spp.

Como se puede observar en la Figura 1, el cinamaldehído a 800 ppm tiene un efecto fungistático impidiendo el desarrollo radial en su totalidad del hongo. El cinamaldehído es uno de los compuestos que se encuentran abundantemente en la canela.

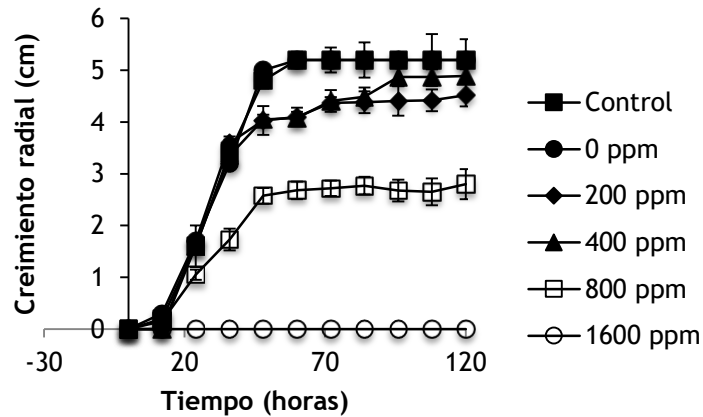


Figura 1. Efecto del contacto en fase de vapor en el crecimiento radial de *Rhizopus* spp. en presencia y ausencia de diferentes concentraciones de cinamaldehído (0, 200, 400, 800 y 1600 ppm) adicionado a películas comestibles de almidón.

Para el caso de eugenol y timol (Figuras 2 y 3) las curvas de crecimiento radial tienen un efecto similar a concentraciones de 0 a 400 ppm, la única diferencia es que a 800 ppm timol empieza a ejercer un efecto fungistático leve sobre el crecimiento del hongo. El grado de actividad antimicrobiana en fase de vapor de los diferentes aceites esenciales depende directamente del tipo de polímero utilizado ya que tiene la capacidad de retener o liberar de manera gradual los componentes activos, las películas comestibles de almidón tienen una estabilidad y una capacidad para liberar estos compuestos activos y tener un efecto fungistático o fungicida, dependiendo de las concentraciones que se tengan que suelen ser menores que cuando se utilizan para inhibir de manera directa

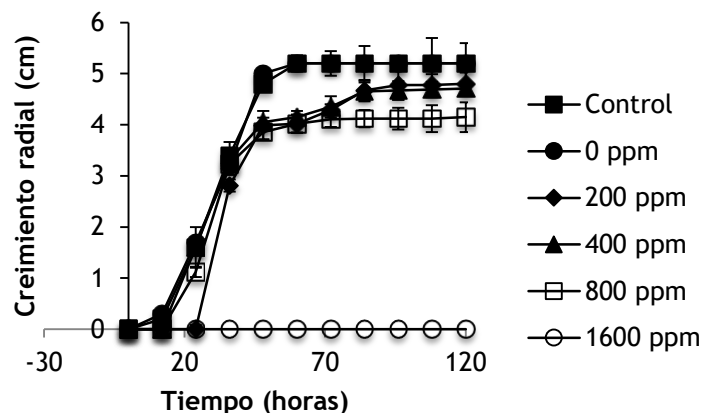


Figura 2. Efecto del contacto en fase de vapor en el crecimiento radial de *Rhizopus* spp. en presencia y ausencia de diferentes concentraciones de eugenol (0, 200, 400, 800 y 1600 ppm) adicionado a películas comestibles de almidón.

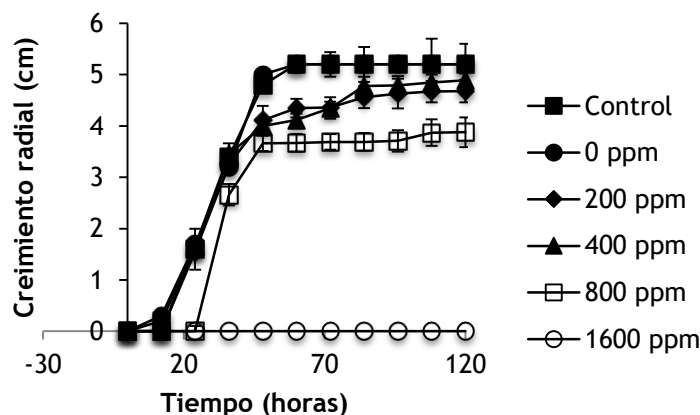


Figura 3. Efecto del contacto en fase de vapor en el crecimiento radial de *Rhizopus* spp. en presencia y ausencia de diferentes concentraciones de timol (0, 200, 400, 800 y 1600 ppm) adicionado a películas comestibles de almidón.

## BIBLIOGRAFÍA

- Avila-Sosa R, Hernández-Zamorán E, López-Mendoza I, Palou E, Jiménez-Munguía MT, Nevaréz-Moorillón GV, López-Malo A. 2010. Fungal inactivation by Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *Journal of Food Science* 75:127-133.
- Avila-Sosa R, Palou E, Jiménez-Munguía MT, Nevaréz-Moorillón GV, Navarro-Cruz AR, López-Malo A. 2012. Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth, chitosan, or starch edible films. *International Journal of Food Microbiology* 153:66-72.

- Carrasco EU, Villarroel M, Cevallos LC. 2002. Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial de pimentones verdes (*Capsicum annuum* L.) durante el almacenamiento. Archivos latinoamericanos de Nutrición 52:84-90.
- Guilbert S. 1996. Technology and application of edible protective films. In: Food Preservation by moisture control, Fundamentals and applications, Barbosa-Cánovas G and Welti-Chanes JS. (eds). Isopow Practicum II: New York, pp. 371-394.
- Kim JM, Marshall MR, Cornell JA, Preston III JF, Wei CI. 1995. Antibacterial activity of carvacrol, citral and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. Journal of Food Science 60:1364–1368.
- Skandamis PN, Nychas G. 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. Applied and Environmental Microbiology 66:1646–1653.