

## DESARROLLO DE UN ENVASE ACTIVO CON EFECTO ANTIFÚNGICO Y ANTIBACTERIAL CON ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO PARA CONSERVACIÓN DE PAPAYA 'MARADOL'

Pontigo-Suárez A. G., Trejo-Márquez M. A.\*, Lira-Vargas A. A.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Pos-cosecha de Productos Vegetales, Centro de Asimilación Tecnológica. Jiménez Cantú s/n San Juan Atlámica C.P 54729, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México. e-mail: \*andreatrejo@unam.mx

### RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo desarrollar un envase activo a base de carboximetilcelulosa, adicionado con aceite esencial de Orégano, con efecto antibacterial y antifúngico para contribuir a resolver problemas de inocuidad y calidad en papaya 'Maradol'. El efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano se determinó con concentraciones de 3000, 4000 y 5000 mg/L sobre *Colletotrichum gloeosporioides* y 1.9 y 2.5  $\mu\text{L/mL}$  sobre *Salmonella spp.* en pruebas *in-vitro*, posteriormente la concentración de 5000 ppm de aceite fue adicionada a una matriz de carboximetilcelulosa para elaborar el envase activo. El efecto de los recubrimientos sobre el crecimiento de *Salmonella spp.* fue la disminución de la población bacteriana hasta en 2.5 ciclos log UFC/ml. En cuanto a los síntomas de antracnosis los recubrimientos consiguieron disminuirlos de 27 a 53% con respecto a los controles. Se concluyó que el aceite esencial de Orégano resultó un compuesto antibacteriano y antifúngico que puede ser efectivo para la conservación de papaya.

### ABSTRACT

The present study aimed to develop a natural coating that worked like active packaging made from carboxymethyl cellulose whit added of Oregano essential oil, with antibacterial and antifungal function to solve safety issues in 'Maradol' papaya. The antibacterial effect of Oregano essential oil was determinated with concentrations of 3000, 4000, and 5000mg of Oregano essential oil/L about *Colletotrichum gloeosporioides* and 1.9 y 2.5  $\mu\text{L/mL}$  on *Salmonella spp* in *in vitro* tests, then the concentration of 5000 ppm of oil was added to matrix carboxymethylcellulose to making active packaging. The coating effect on *Salmonella spp* growth was decreases of bacterial population until 2.5 cycles log UFC/ml. About anthracnose sintoms, the coatings got loss it 27 to 53% with respect the controls. To conclude essential oregano oils resultedan antibacterial and antifungal element that it can be added to edible coatings for to elaborate bioactive packaging

**Palabras clave:** Antracnosis, recubrimientos comestibles, orégano.

**Área:** Frutos y hortalizas.

### INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya*) es un fruto altamente consumido, donde México es el segundo productor más importante de América Latina y el primer lugar en exportación de papaya a los Estados Unidos (USDA, 2013). La producción de papaya por estados según el SIAP durante el año 2012 mostró que Chiapas,

Veracruz y Oaxaca fueron las entidades con mayor producción (55% de la producción nacional).

Diversos factores contribuyen a las pérdidas poscosecha de la papaya, pudiendo ser factores biológicos, mecánicos, microbiológicos y fisiológicos. Sin embargo, la antracnosis en el cultivo de papaya es la enfermedad más importante en poscosecha y es causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Dickman y Álvarez, 1993). Además, las distintas etapas que un producto debe pasar desde la cosecha hasta el consumo tanto en fresco como procesado, proveen innumerables oportunidades para incrementar el nivel de contaminación que naturalmente trae del campo tales como las contaminaciones por patógenos como la *Salmonella sp.* (FAO, 2008).

Los envases activos pretenden la interacción del envase con el alimento para mejorar su calidad y proporcionar diversas funciones al envase, los cuales pueden ser atmósferas modificadas o films comestibles, éstos últimos se han convertido en uno de los métodos con potencial para conservar la vida poscosecha de frutas y hortalizas destinadas al consumo en fresco, además de funcionar como vehículos para un amplio rango de aditivos con la finalidad de proporcionar mayores atributos como es el control de microorganismos (López *et al.*, 2010). Entre los aditivos naturales están los aceites esenciales de plantas aromáticas y medicinales presentan bioactividades notables como son propiedades antifúngicas, antibacteriales y antioxidantes, tal es el caso de aceite esencial de Orégano y sus derivados que han sido estudiados por sus efectos antimicrobianos; en particular, esta efectividad se atribuye a dos compuestos presentes en su aceite esencial, carvacol y timol, los cuales inhiben a los microorganismos patógenos (Paredes-Aguilar *et al.*, 2007).

Por lo que, el objetivo del presente trabajo fue desarrollar un envase activo a base de carboximetilcelulosa, adicionado con aceite esencial de Orégano, con efecto antibacterial y antifúngico para contribuir a resolver problemas de inocuidad y calidad en papaya 'Maradol'.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Material biológico.**

La hoja seca de Orégano (*Oreganum Vulgare*) se obtuvo en estado deshidratado del Mercado del Carmen en Cuautitlán Izcalli, México. Las papayas 'Maradol' se obtuvieron en la Central de Abastos de la Ciudad de México.

### **Obtención del aceite esencial de orégano.**

El aceite esencial de las hojas de Orégano en estado seco se obtuvo por medio de una Destilación por Arrastre con Vapor (DAV) (Linares, 2002).

### **Pruebas *in vitro*.**

Para conocer la capacidad bactericida del aceite de Orégano se utilizó antibiograma (Dani Val, 2010); para determinar su actividad antifúngica se realizó la técnica de sembrado por difusión.

### **Pruebas *in vivo* para determinar la efectividad en *Salmonella spp.***

En papayas lavadas y desinfectadas con agua clorada (2ppm) se colocaron 100 $\mu$ L de inóculo con concentración conocida en pequeñas gotas y se recubrió la zona inoculada. Las papayas se almacenaron a temperatura ambiente durante 7 días en los cuales se realizó conteo en placa.

**Pruebas *in vivo* para determinar la efectividad en *Colletotrichum gloeosporioides*.** Las papayas lavadas y desinfectadas se inocularon con 3ml de esporas por frotación. El recubrimiento se aplicó mediante el método de inmersión y se almacenaron en la cámara de refrigeración a 13°C durante 16 días; se evaluó el índice de decaimiento en el que se realizó un análisis visual cada 4 días para detectar el nivel de daño adquirido mediante la escala subjetiva.

#### **Tratamiento de datos.**

Se hizo un análisis estadístico de varianza (ANOVA) completamente al azar y de pruebas de rango múltiple (Tukey y Duncan  $\alpha=0.05$ ) a través del software SPSS for Windows Student Version 19.0.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Efecto antibacterial (*Prueba in vitro*)**

El aceite esencial de orégano tuvo efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Salmonella spp.* El halo de inhibición utilizando aceite de orégano a 1.9 $\mu$ L/mL tuvo un radio promedio de 1.2cm, mientras que con la concentración de 2.5 $\mu$ L/mL, se consiguió un radio de 2cm. Por otra parte, el número de unidades formadoras de colonias se redujo 1.5 ciclos logarítmicos con 1.9  $\mu$ L/mL y hasta en 5 ciclos con 2.5  $\mu$ L/mL de aceite esencial de orégano, existiendo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) tanto en el halo de inhibición como en las unidades formadoras de colonias.

O'Bryan *et al.* (2008) reportaron la inhibición de crecimiento de *Salmonella sp* con aceites esenciales de naranja y canela a una concentración de 1250 mgL<sup>-1</sup>; esto se debe a los sitios de acción en la célula donde los compuestos aromáticos de los aceites tienen efectos tales como: degradación de la pared celular, daño a las proteínas, filtración del contenido celular, coagulación del citoplasma y disminución de la fuerza motriz.

### **Efecto antibacterial (*Prueba in vivo*)**

El efecto antibacterial del envase activo sobre papaya 'Maradol', mostró que a la hora 0 el lote infectado presentó una población de 3 log UFC/ml sin existir diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el número de células viables en el lote con recubrimiento; en la hora 168 hubo una recuperación de células debido a la adaptación de la bacteria a las condiciones nutrimentales que dispuso (Figura 1). Para las papayas infectadas y recubiertas con aceite de orégano, se observó una ligera disminución de carga microbiana (de 2.53 a 2.17 ciclos log) para la hora 12, para la hora 168, punto en el cual hubo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con los resultados de I+F2 y 28% UFC menos que en este lote; y con 43.85% de UFC menos que en el lote I.

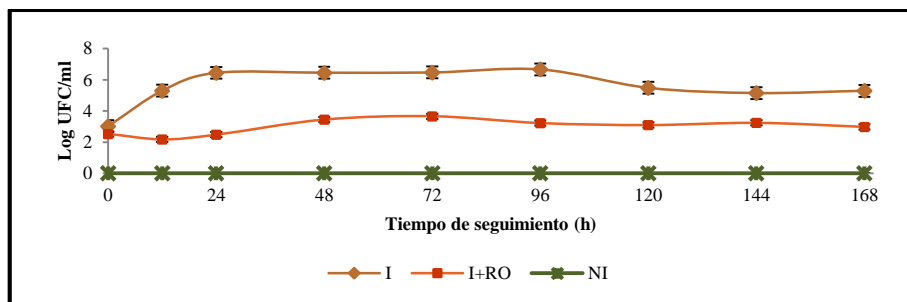


Figura 1. Cambios en el crecimiento de *Salmonella* sobre papaya ‘Maradol’ donde I es lote Infectado; I+RO es el lote Infectado y recubierto con Aceite de Orégano; y NI es el lote No Infectado.

Aunque con el recubrimiento no se logró erradicar la bacteria sí existió una disminución en la carga microbiana y retardar su crecimiento exponencial. La tendencia muestra que el recubrimiento mantuvo un promedio de 2.6 ciclos log UFC/ml por debajo del lote infectado. Por lo tanto, la aplicación de recubrimientos bioactivos es una opción viable para el control de patógenos en papaya fresca (Borboa-Flores *et al.*, 2010).

### Efecto antifúngico (Prueba *in vitro*)

El efecto antifúngico del aceite esencial de orégano sobre el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*, fue del 100% de inhibición a lo largo de los 10 días de incubación del hongo, mientras que el diámetro de micelio del moho control al día 5 fue de 5.2 cm, y al día 10 ya había cubierto toda la superficie de la caja (8cm) (Figura 2). La incorporación de diferentes concentraciones de aceite esencial de orégano inhibió la producción de biomasa durante el tiempo de incubación, por lo que este aceite crea un ambiente inapropiado para el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* en medio PDA. De esta manera se optó por añadirlo al recubrimiento para determinar su efectividad sobre este hongo en la papaya fresca.

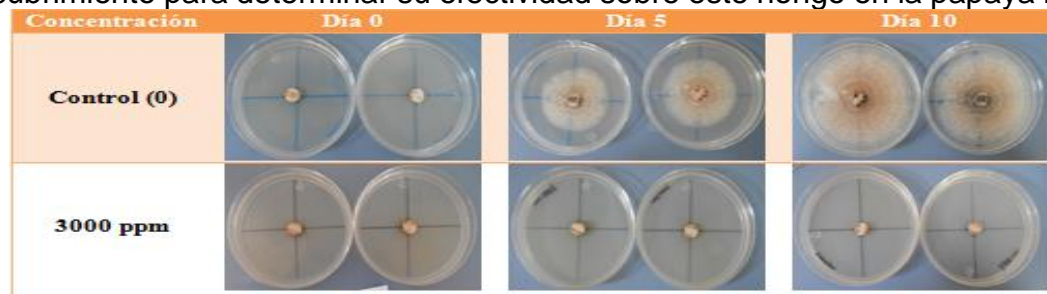


Figura 2. Efecto antifúngico del aceite esencial de orégano sobre *Colletotrichum gloeosporioides in vitro* con la concentración más pequeña de aceite esencial (300ppm).

### Efecto antifúngico (Prueba *in vivo*)

En la Figura 3 se observa que la aplicación de los recubrimientos sobre papayas inoculadas con *Colletotrichum gloeosporioides* mostró un efecto positivo en cuanto a la presencia de los síntomas de la enfermedad con respecto a los lotes control.



Figura 3. Efecto de los recubrimientos sobre Antracnosis en papaya fresca.

Los síntomas de antracnosis en las papayas recubiertas tuvieron menos presencia que en las papayas control. El porcentaje de índice de decaimiento de las papayas recubiertas con RO para el día 8 de almacenamiento fue de 40% menor que los controles (0.25) y al final del almacenamiento se observó que el lote control tuvo un IDC 32% (1.1) mayor que RO (0.75). La reducción en el IDC de las papayas recubiertas se debe a que las propiedades protectoras de los recubrimientos funcionan disminuyendo el deterioro producido por *Colletotrichum gloeosporioides* sobre la epidermis de la fruta (Bosquez-Molina *et al.*, 2010).

## CONCLUSIONES

El aceite esencial de Orégano resultó un compuesto antibacteriano y antifúngico que puede ser efectivo para la conservación de papaya.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPITT (IT201513): Desarrollo de envases activos para la conservación de frutos frescos y mínimamente procesados de la Dirección General de Asuntos del personal Académico de la UNAM.

## BIBLIOGRAFÍA

- Borboa-Flores, J.; Rueda-Puente, E. O.; Acedo-Félix, E.; Ponce, J. F.; Cruz-Villegas, M.; García-Hernández, J. L.; Ortega-Nieblas, M. M. (2010). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis* Tropical and Subtropical Agroecosystems, 12(3): 539-547
- Bosquez-Molina, E., Ronquillo-de Jesús, E., Bautista-Baños, S. Verde-Calvo, J.R., and Morales-López, J. (2010). Evaluation of the inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* stored papaya fruit and their possible application in coatings. Postharvest Biology and Technology 57:132-137.
- Dani-Val, J. (2010). El antibiograma. Microbiología e Inmunología. Consultado en Septiembre 2013. Disponible en: <  
<http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioAntibioticos.htm>>
- Dickman, M. B., y A. M. Alvarez (1993). Latent infection of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease* 67:748-750.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations- (2008). Manejo poscosecha de frutos tropicales. Consultado en agosto 2013. Disponible en: [http://www.fao.org/inpho\\_archive/content/documents/vlibrary/ac304s/ac304s01.htm](http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ac304s/ac304s01.htm)
- O'Bryan, C.; Crandall, P.; Chalova, V.; and Ricke, S. (2008). Orange essential oils antimicrobial activities against *Salmonella* spp. *Journal of Food Science* 73:264-267.

Paredes-Aguilar, M. C.; M. G. Cástelum; R. Silva; G. Narvaez (2007). Efecto antimicrobiano del orégano mexicano (*lippia berlandieri Schauer*) y de su aceite esencial sobre cinco especies del género *Vibrio*. Fitotecnia Mexicana. Vol. 30 (3): 261 – 267

USDA- United States Department of Agriculture, 2013. Plants Profile Carica Papaya. Consultado en Febrero 2014. Disponible en: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=capa23>

López-Cervantes, J.; Sánchez-Machado, D. J. y Buen-Solano, C. (2010). Envases activos e inteligentes con bioproductos de los residuos de camarón. Ide@s CONCYTEG 5(60). México.