

DESARROLLO DE UNA PELICULA DE CARBOXIMETILCELULOSA ADICIONADA CON SANGRE DE DRAGO PARA EL CONTROL DE *Penicillium expansum*.

Pérez Ángel E., Trejo Márquez M.*, Quezada Viay M. Y., Lira Vargas A.A., Pascual Bustamante, S.

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales, Centro de Asimilación Tecnológica, Jiménez Cantú s/n, San Juan Atlamica, C.P. 54729, Cuautitlán Izcalli, Edo. De México, México. *Correo electrónico: andreatrejo@unam.mx

RESUMEN:

El objetivo del presente estudio fue desarrollar películas comestibles de carboximetilcelulosa (CMC) adicionadas con extracto etanólico de sangre de drago (*Jatropha dioica*) para determinar el efecto sobre la inhibición de hongo *Penicillium expansum*. Con el extracto de sangre de drago se realizaron pruebas *in vitro* a diferentes concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm) evaluando el efecto sobre el crecimiento micelial del hongo *Penicillium expansum*. Las películas comestibles elaboradas a partir de CMC y adicionadas con el extracto de sangre de drago a la concentración de mayor inhibición, caracterizadas evaluando parámetros físicos y de barrera, para posteriormente realizar pruebas *in vitro* de las mismas. Con un efecto de 100% de inhibición en el crecimiento micelial del hongo *Penicillium expansum* a 2000 y 3000 ppm de extracto etanólico. En los parámetros físicos y de barrera se observó efecto por la concentración de extracto añadido y no así por la concentración de CMC, destacando en permeabilidad de vapor de agua que las películas con 2000 ppm de extracto etanólico presentaron mayor permeabilidad con 2.33×10^{-11} g/Pa*m*s y en las pruebas *in vitro* de las películas de CMC adicionadas con extracto de sangre de drago mostro efecto de 100% de inhibición del hongo también a 2000 y 3000 ppm. Por lo que el extracto etanólicos de sangre de drago en las películas comestibles es una opción viable para el control de *Penicillium expansum*.

ABSTRACT:

The aim of this study was to develop edible films of carboxymethylcellulose (CMC) added with ethanol extract of Drago's blood (*Jatropha dioica*) to determine the effect on the inhibition of fungus *Penicillium expansum*. Extract with dragon's blood *in vitro* tests were conducted at different concentrations (1000, 2000 and 3000 ppm) evaluating the effect on mycelial growth of the fungus *Penicillium expansum*. Edible films made from CMC and with drago's blood extract of the concentrations of greater inhibition, characterized by evaluating physical and barrier parameters to subsequently perform *in vitro* tests thereof. With an effect of inhibition in the mycelial growth of the fungus *Penicillium expansum* at 2000 and 3000 ppm of ethanol extract. In physical and barrier parameters the effect was observed in the concentration of extract added and not by the concentration of CMC, highlighting water vapor permeability of the films with 2000 ppm of ethanol extract showed higher permeability with 2.33×10^{-11} g / m*Pa*s and in testing *in vitro* of CMC films with extract of drago's blood showed an effect in inhibition of the fungus also to 2000 and 3000 ppm. So the ethanolic extract of drago's blood in edible films is a viable option for the control of *Penicillium expansum*.

Palabras claves:

Sangre de drago, crecimiento micelial, *Penicillium expansum*

Key words:

Drago's blood, mycelial growth, *Penicillium expansum*

Área: Microbiología y biotecnología

INTRODUCCIÓN

El hongo *Penicillium expansum* provoca una de las principales enfermedades postcosecha denominada “moho azul” ocasionada por lesiones en manzana, siendo la causa más grande de pérdidas postcosecha en este fruto (Viñas *et al.*, 2006). Además este hongo representa un gran riesgo a la salud ya que tienen la capacidad de formar micotoxinas como la patulina (Hernández, 2014)

Para el control de hongos y pudriciones en algunas frutas y hortalizas se emplea el uso de agentes químicos mediante aplicaciones de fungicidas, que ha sido una práctica común en el control de estos microorganismos pero existen actualmente alternativas diferentes al control químico como el uso de extractos vegetales (Guédez *et al.*, 2010). Es así que la aplicación del extracto de sangre de drago como agente antifúngico es una propuesta innovadora para el control del hongo causante de la enfermedad del moho azul (Ortega *et al.*, 2011).

Asimismo el crecimiento de la demanda de alimentos más sanos, seguros y obtenidos de forma respetuosa con el medio ambiente, ha llevado a potenciar investigaciones en el ámbito de la industria alimentaria, en este sentido, la tecnología de las películas comestibles surge como una alternativa prometedora para la mejora de la calidad y conservación de alimentos durante su procesado y/o almacenamiento (Sánchez *et al.*, 2008).

Debido a esto el presente trabajo tiene el objetivo de desarrollar películas comestibles de carboximetilcelulosa (CMC) adicionadas con extracto etanólico de sangre de drago (*Jatropha dioica*) para determinar el efecto sobre la inhibición de hongo *Penicillium expansum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Biológico. Plantas de sangre de drago (*Jatropha dioica*) procedentes de Saltillo, Coahuila fueron utilizadas para la obtención de los extractos. Las plantas fueron identificadas botánicamente por el herbario de la FES Iztacala, UNAM y se pulverizaron en un molino (marca Hamilton Beach CM05) hasta obtener un polvo que paso por el tamiz (ISICAS) del número 20.

Obtención de los extractos. El método empleado para extraer los componentes bioactivos fue extracción asistida por ultrasonido en un baño ultrasónico (marca Cole-Parmer), empleando una relación 1:10 de planta con etanol al 70% como disolvente, por un tiempo de 90 minutos.

Pruebas *in vitro* de los extractos etanólicos de sangre de drago y películas comestibles. El método empleado para las pruebas *in vitro* fue de acuerdo al descrito por Fuentes *et al.* (2012) conocido como “envenenamiento del medio”. El cual consistió en la disolución de agar PDA con el extracto etanólico de sangre de drago a 1000, 2000 y 3000 ppm, para evaluar el crecimiento micelial del hongo *Penicillium expansum* durante 10 días. En el caso de las películas se realizaron de la misma forma, solo adicionando al agar PDA la disolución de las películas comestibles con el extracto etanólico.

Elaboración y caracterización de películas modelo. Las películas fueron elaboradas con CMC a tres concentraciones (0.5, 0.75 y 1%) adicionado con 0.5% de Tween 80, 1% de glicerol y extracto etanólico de sangre de drago a 2000 y 3000 ppm, una vez homogeneizada la mezcla,

se vertieron 30 mL de la solución en platos de 15 cm de diámetro y se dejaron secar por 2 días a 25°C en una superficie plana. Para la caracterización se evaluaron los parámetros físicos (color y transparencia) y de barrera (permeabilidad de vapor de agua); el color con un colorímetro (marca Minolta CR400), por el sistema hunter (L*a*b*) para determinar luminosidad, tonalidad del ángulo Hue y croma; la transparencia empleando un espectrofotómetro (marca thermo spectronic Genesys 10 UV) a una longitud de onda de 600 nm y la permeabilidad de vapor de agua utilizando una variación del método gravimétrico de la ASTM E 96-80.

Tratamiento estadístico. Se aplicó un análisis de diseño simple completamente al azar y comparación de rango múltiple aplicando un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar el efecto del extracto de sangre de drago sobre el crecimiento del hongo *Penicillium expansum* se realizaron pruebas *in vitro*, obteniendo que a 2000 y 3000 ppm presentó mayor efecto inhibitor sobre el crecimiento micelial del hongo. El efecto se debe a que los compuestos bioactivos del extracto etanólico de sangre de drago actúan de manera inhibitora a mayores concentraciones sobre el hongo.

Una vez determinadas las concentraciones en las cuales fue efectivo el extracto de sangre de drago sobre el crecimiento del hongo, se procedió a realizar las películas comestibles y su caracterización. En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos en la permeabilidad de vapor de agua.

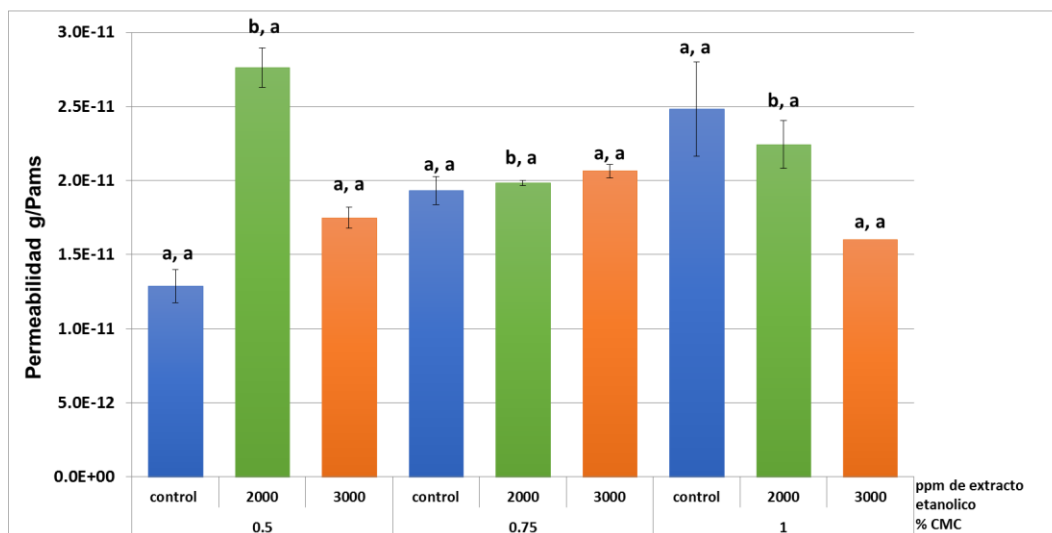


Figura 1. Permeabilidad de vapor de agua de las películas comestibles de CMC a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%) adicionadas con extracto etanólico de sangre de drago a 2000, 3000 ppm. Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$). La primera letra representa el efecto por la concentración del extracto etanólico y la segunda por la concentración de CMC.

En cuanto a la permeabilidad de vapor de agua en películas modelo en estudio reportados por Pastor (2010) se muestra que el factor principal que afecta este parámetro es la concentración del polisacárido, sin embargo, en los resultados obtenidos en este estudio se observó que la concentración de CMC de las películas no presentó diferencia significativa ($P \geq 0.05$) en la permeabilidad de vapor de agua, mostrando efecto por la concentración de extracto etanólico de sangre de drago adicionado a las películas.

Las películas adicionadas con 2000 ppm de extracto etanólico fueron las que presentaron mayor permeabilidad de vapor de agua con 2.33×10^{-11} g/Pa*m*s y la que presentó un 22.55 menor valor fue la de 3000 ppm de extracto etanólico, esto pudo deberse a que la transferencia de vapor de agua en una película disminuye al incrementar la hidrofobicidad, ya que el paso de vapor de agua ocurre preferentemente a través de la matriz hidrofílica (Martínez, 2000), por ende a mayor concentración de extracto etanólico aumenta la hidrofobicidad de la película.

De igual forma se evaluó la transparencia de las películas comestibles con extracto etanólicos de sangre de drago, parámetro relacionado con la transmisión de luz con importancia en los recubrimientos de frutos, puesto que permite mantener la apariencia de los productos, mostrando los resultados obtenidos en la Figura 2.

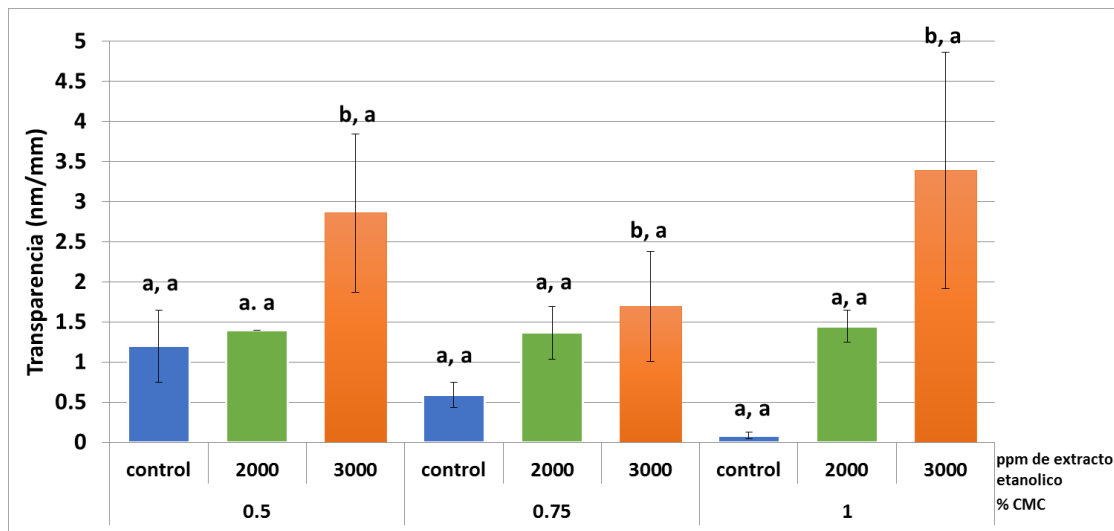


Figura 2. Transparencia de las películas comestibles de CMC a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%) adicionadas con extracto etanólico de sangre de drago a 2000, 3000 ppm. Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$). La primera letra representa el efecto por la concentración de extracto etanólico y la segunda por la concentración de CMC.

La concentración de extracto etanólico en las películas comestibles presentó diferencia significativa ($P \leq 0.05$) en la transparencia, pero no hubo diferencia significativa ($P \geq 0.05$) por la concentración de CMC en este parámetro. Donde destacan las películas adicionadas con 3000 ppm de extracto mostrando mayor transparencia comparadas con las películas control, lo cual no concuerda según lo reportado por Arce (2011) donde observó que la transparencia de películas se redujo a medida que se les incorporaron aceites esenciales, lo cual puede deberse

a la naturaleza lipídica del aceite esencial, lo cual no sucede con los extractos etanólicos, pues estos se pueden incorporar de mejor manera en las películas comestibles.

En la Figura 3 se muestran los resultados obtenidos de luminosidad de las películas comestibles adicionados con extractos etanólicos.

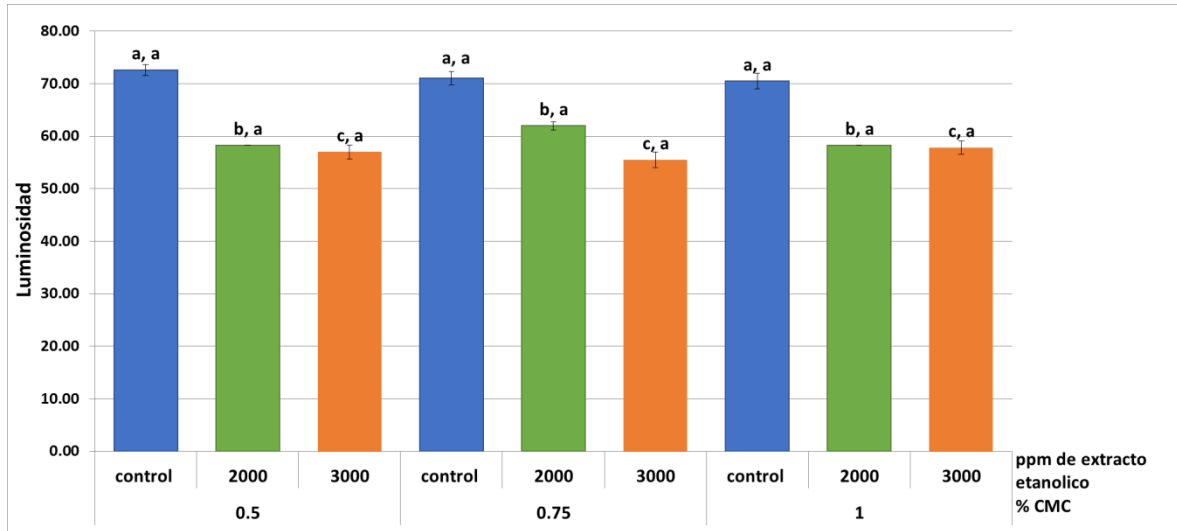


Figura 3. Luminosidad de las películas comestibles de CMC a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%) adicionadas con extracto etanólico de sangre de drago a 2000 y 3000 ppm. Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$). La primera letra representa el efecto por la concentración del extracto etanólico y la segunda por la concentración de CMC.

En cuanto a la luminosidad presentó diferencia significativa ($P \leq 0.05$) por la concentración del extracto, pero no existió diferencia significativa ($P \geq 0.05$) por la concentración de CMC en este parámetro. Presentando mayor luminosidad las películas control con 71.33 de luminosidad, mientras que la de menor luminosidad fueron las películas adicionadas con 3000 ppm de extracto etanólico con 20.44% menor que el mayor, esto debido a que las películas adicionadas con el extracto etanólico fueron más oscuras, por lo tanto la luminosidad es más débil. Otro de los parámetros determinados de color, fue Croma y el Tono (no se muestra figura) que se refiere a la pureza del color e indica la intensidad a saturación del color presente en la muestra. Al igual que en los parámetros anteriores el tanto en Tono como en Croma presentaron diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre las películas con diferente concentración extractos etanólicos de sangre de drago, sin embargo, no mostró efecto por la concentración de CMC de las películas comestibles. La película que presentó mayores valores de Tono y Croma fue la de 3000 ppm de extracto con 68 de Tono y 15.30 de croma, mientras que la de menor fue el control con un -66 de tono y un 2.77% menor en croma que la de mayor, ya que el extracto etanólico de sangre de drago le proporciona a la película comestible tanto mayor tonalidad como mayor saturación del color respectivo del propio extracto. En cuanto a las prueba *in vitro* de películas adicionados con extractos etanólicos de sangre de drago, mostraron una inhibición del 100% en el crecimiento micelial del hongo *Penicillium expansum* con las concentraciones de 2000 y 3000

ppm esto indica que la prototipo de película presentó un efecto antifúngico contra el crecimiento del hongo *Penicillium expansum*.

CONCLUSIONES

El extracto de sangre de drago inhibió el 100% del crecimiento micelial del hongo *Penicillium expansum* a 2000 y 3000 ppm, por lo que el uso de esta planta es efectivo para el control del microorganismo. Para las películas modelos la concentración de Carboximetilcelulosa (0.5, 0.75 y 1%) no presentó efecto en cuanto a sus parámetros físicos y de barrera, por lo que para la aplicación en recubrimientos comestibles en frutos se puede emplear la de menor concentración y así tener un menor gasto en materia prima; mientras que en las pruebas *in vitro* de las películas comestibles adicionadas con extracto etanólico de sangre de drago se observó inhibición total en el crecimiento micelial del hongo *Penicillium expansum* a 2000 y 3000 ppm por lo que lo que indica que podría ser efectivo la aplicación de los recubrimientos en los frutos para el control de este microorganismo.

AGRADECIMIENTOS. El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT (IT201513): Desarrollo de envases activos para frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas.

REFERENCIAS

- Arce. C. 2011. Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales. Trabajo para optar al título de Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Bogotá.
- Fuentes O., Cerna E., Landeros J., Hernández S. y Delgado J. 2012. Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metabólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. Revista Internacional de Botánica experimental, 81: 69-73.
- Hernández O. 2014. Caracterización morfológica y molecular de aislamientos de *Penicillium* sp. obtenidos de frutos de manzanas (*Malus x domestica* Borkh) en México y pruebas de agresividad. Tesis de Postgrado. Colegio de Postgraduados, Edo. de México.
- Guédez C., Cañizalez L., Castillo C., Olivar R. y Maffei M. 2010. Alternativas para el control de hongos postcosecha en naranjas valencia (*Citrus sinensis*). Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 30 (1):43-47.
- Martínez, L. 2000. Influencia del grado de hidratación sobre los mecanismos de transferencia de vapor de agua en películas hidrofílicas formuladas con biopolímeros. Trabajo práctico científico. Facultad de Química Farmacéutica Biológica. Universidad Veracruzana. México.
- Ortega R., Domínguez V., Guevara V., Bulás M. y Ramón F. 2011. Evaluación de la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos de sangre de drago (*Crotón draco schltl & cham*). Congreso Internacional de QFB, Xalapa Veracruz.
- Pastor N. 2010. Desarrollo recubrimientos comestibles a base de Hidroxipropil metilcelulosa: Caracterización y aplicación. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Sánchez L., Vargas M., Gonzales C., y Chafer M. 2008. Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimentos. VIII Congreso SEAE Bullas,

Valencia, España.

Viñas M., Usall J., Echeverría G., Graell J., Ayala I., Recasens D. 2006. Poscosecha de pera, manzana y melocotón. Madrid: Mundi-Prensa.