



**EFECTO DEL USO DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES  
ANTIMICROBIANOS EN NUEZ DE PECÁN Y MARAÑÓN, SOBRE LA  
ESTABILIDAD DE SUS ÁCIDOS GRASOS MÁS ABUNDANTES**

**Effect of the use of antimicrobial edible coatings on the stability  
of main fatty acids of cashew and pecan nuts**

**García-Almendárez  
Blanca E.,  
Hernández-Nieto  
Marco Antonio,  
Escamilla-García Monserrat,  
Amaro-Reyes Aldo y  
Regalado-González Carlos \***

*DIPA, Facultad de Química de la  
Universidad Autónoma de Querétaro*

*\*Correo para Correspondencia:  
regcarlos@gmail.com*

*Fecha de recepción: 31/08/2015  
Fecha de aceptación: 14/03/2016*

**Resumen:**

Entre las principales causas que ocasionan deterioro y pérdidas económicas durante el almacenamiento y comercialización de nueces pecanera y de marañón están el crecimiento de hongos y la oxidación de lípidos. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del uso de recubrimientos comestibles antimicrobianos en nuez de pecán y marañón, sobre la estabilidad de sus ácidos grasos más abundantes. Las nueces se recubrieron con una película comestible a base de maíz ceroso modificado al cual se le incorporó un agente plastificante y una nanoemulsión conteniendo un agente hidrofóbico, a base de cera de abeja ó ácido oleico. La estabilidad a la oxidación acelerada (35°C) se evaluó usando el coeficiente de extinción específica, cuantificación de ácidos grasos (oleico y linoleico), índice de peróxido y acidez. Se incorporó natamicina como agente antimicrobiano al re-

cubrimiento comestible (RC), y se evaluó su eficacia usando *Aspergillus niger*, por ser un deteriorador frecuente de las nueces. En nuez de pecán los recubrimientos retrasaron la oxidación de los ácidos grasos y el grado de acidez; la disminución en la concentración de ácidos oleico (AO) y linoleico (AL) fue significativamente ( $p < 0.05$ ) menor (<17%) que con las nueces sin recubrimiento a los 4 meses (>24%). El RC con cera de abeja aplicado en nuez de marañón produjo una retención >92% de AO y AL a los 4 meses, ya que el grado de acidez, índice de peróxidos y el coeficiente de extinción (especialmente para los dienos) indicaron un efecto protector del RC. Los RC antimicrobianos con natamicina (50 ppm) inhibieron el crecimiento de *A. niger*. Los RC mejoraron significativamente la estabilidad de las nueces de pecán y marañón en almacenamiento acelerado de 4 meses.



## Palabras clave:

Almidón ceroso, *A. niger*, nuez de marañón y pecán, recubrimientos activos comestibles.

## Abstract:

Among the main factors affecting the safety of pecan and cashew nuts are oxidation and fungal growth causing significant economic losses. The aim of this research was to evaluate the effect of antimicrobial edible coatings (EC) on oxidative stability of the most abundant fatty acids of pecan and cashew nuts. EC used on nuts were based on modified waxy corn, added with a plasticizer and a nanoemulsion containing a hydrophobic agent (beeswax or oleic acid). Natamycin was added to the EC to test inhibition of *Aspergillus niger*, because it is a frequent deteriorative microorganism of these nuts. The nuts were exposed to an accelerated process of oxidation (35°C), and their stability was evaluated by the specific extinction coefficient, quantification of main fatty acids [oleic acid (OA), and linoleic acid (LA)], peroxide value and acidity. EC applied on pecan nuts delayed oxidation of fatty acids and acidity. Concentrations of OA and LA were significantly ( $p < 0.05$ ) lower (<17%) than those of uncoated pecan nuts after 4 months (>24%). EC added with beeswax used on cashew nuts retained >92% of OA and LA after 4 months, and its protective effect was attributed to acidity, peroxide value and extinction coefficient (especially for dienes). Natamycin added at 50 ppm to EC inhibited the growth of *A. niger*. EC significantly improved the stability of pecan and cashew nuts after accelerated storage during 4 months

## Keywords:

Active edible coatings, *A. niger*, pecan and cashew nuts, waxy starch

## I.Introducción

Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento (Ramos-García y col., 2010). Por otra parte una película comestible (PC) es una matriz preformada, delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento o envoltura del alimento, o estará ubicada entre los componentes del mismo. Las PC y RC se han clasificado con base en el material estructural, de modo que se habla de películas y recubrimientos basados en proteínas, lípidos, carbohidratos, o capas de diferentes materiales (Galus y Kadzinska, 2015). Las tecnologías emergentes basadas en películas y recubrimientos comestibles aplicados a productos hortofrutícolas procesados, mínimamente procesados y comercializados en fresco, buscan extender la vida útil de los alimentos al mantener la calidad, generar valor agregado y direccionarlos de acuerdo a las necesidades y gustos del consumidor (Fakhouri y col., 2015).

La implementación de películas o recubrimientos antimicrobianos puede ser más eficiente que los aditivos que se utilizan en el producto alimenticio, ya que desde éstos se puede migrar selectiva y gradualmente compuestos desde el empaque a la superficie del alimento (Ouattara y col., 2000). La cera de abeja se ha utilizado para proporcionar una barrera al paso del vapor de agua en RC a base de almidón dada su relativamente alta permeabilidad (Pérez- Gallardo y col., 2012), se compone de ácidos grasos e hidrocarburos de entre 14 y 41 carbonos, esterificados con alcoholes de entre 28 y 54 carbonos (Was y col., 2014). La natamicina (pimaricina), es un antimicrobiano que se ha utilizado durante varios años para inhibir el crecimiento de hongos en una gran variedad de alimentos, sin afectar al aspecto, color, sabor y aroma de los productos, ya

que no penetra en el interior (Türe y col., 2009). La nuez pecanera es rica en ácidos grasos mono y poli insaturados (omega 3 y omega 6), mismos que tienen funciones protectoras en la prevención de coágulos de sangre, reducen el riesgo de cardiopatía coronaria y contribuyen al desarrollo normal del sistema nervioso. Esta nuez es fuente de proteína rica en arginina, fitoesteroles y compuestos fitoquímicos, contiene vitaminas del complejo B, E y hierro (Amaral y col., 2003). México es el segundo productor mundial de nuez pecanera después de Estados Unidos (Arranz y col., 2008). La nuez de marañón tiene importancia nutricional, ya que contiene altos niveles de proteína, fibra, potasio, fósforo, magnesio, folatos, ácidos grasos saturados, mono y poli insaturados. (Osorio y col. 2004); su producción en México es escasa con 4,226 Tons (SIAP, 2014). La oxidación de lípidos es responsable del deterioro de ambas nueces produciendo sabores indeseables. Por otro lado, el deterioro puede también ser causado por el ataque de algunos hongos como *Aspergillus niger* (Pinto y col., 2015).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del uso de recubrimientos comestibles antimicrobianos en nuez de pecán y marañón, sobre la estabilidad de sus ácidos grasos más abundantes.

## II. Materiales y métodos

### Material

Se adquirieron de la central de abastos (Querétaro, Qro.) en un solo lote, 1 kg de cada una de las nueces de pecán y marañón verificando que estuvieran sin golpes y de buen aspecto. Todos los reactivos empleados fueron grado reactivo analítico de la marca Sigma (MO, EUA) a menos que se especifique lo contrario y para preparar soluciones se usó agua grado HPLC.

### Crecimiento de *Aspergillus niger* y cuantificación después de los tratamientos antimicrobianos

Se obtuvo *A. niger* de una conserva de esporas del laboratorio de Biotecnología del DIPA (UAQ), se sembró mediante extensión por superficie en agar papa-dextrosa (APD, Bioxon, México) y se incubó a 30° C hasta la aparición uniforme de esporas. Se recuperaron las esporas colocando las cajas sobre un agitador magnético y añadiendo un magneto y volumen conocido de Tween 80 al 0.2% (v/v). El conteo se realizó mediante una cámara de Neubauer, para obtener  $4 \times 10^6$  esporas/mL. Después de los tratamientos con el antimicrobiano natamicina se realizaron diluciones decimales y se sembraron por extensión en superficie en APD adicionado con 0.05 g/L de rosa de Bengala, se incubó por 72 h a 30°C y se efectuó el recuento expresándose como UFC/mL.

### Recubrimiento de las nueces

La preparación de la solución filmogénica se hizo a partir de tres tipos de almidón ceroso (nativo, oxidado y acetilado-entrecruzado), y se preparó mediante una dispersión acuosa al 4 % (p/v), con sorbitol no cristalizante como plastificante (0.8 g/g de almidón), bajo agitación magnética a temperatura ambiente por 10 min para lograr la hidratación del almidón. Posteriormente se calentó a 90 °C por 20 min., para completar la gelatinización del almidón. Para realizar una nanoemulsión estable y con buenas características es necesario partir de una micro emulsión o emulsión primaria, mezclando agua caliente (~60 °C) donde se disuelve el surfactante y se adicionó poco a poco el ácido oleico una vez iniciado el mezclado con un equipo Ultra-Turrax T25 (IKA) a una velocidad de 13,500 rpm durante 3 min. Una vez obtenida la micro emulsión, 50 mL de esta se sometieron a ultrasonido (Sonics & Materials, Vibra-Cell VCX500) durante 5 min continuos en un baño de hielo para controlar la elevación de temperatura de la muestra. La nanoemulsión (1%, v/v) y el agente antimicrobiano (natamicina, 50 ppm) se incorporaron a la dispersión filmogénica empleando un homogenizador de alta velocidad



Ultra-Turrax T25 (IKA, Wilmington, EUA) a una velocidad de 13,500 rpm durante 3 min (Pérez-Gallardo y col., 2014; Arredondo-Ochoa y col., 2015).

El recubrimiento de las nueces se realizó por inmersión directa en la suspensión filmogénica, para conformar el recubrimiento se somete a una desecación a  $40\pm 2^\circ\text{C}$  a 40% humedad relativa por 24h en una cámara climática (Binder, Mod. KBWF-240, Alemania).

### Extracción de aceite y proceso acelerado de oxidación

De cada lote de frutos control y con recubrimientos, se pesaron 50 g de pulpa, los cuales fueron previamente deshidratados en estufa ( $105^\circ\text{C}$ ) y se sometieron a extracción continua sólido-líquido en equipo Soxhlet, durante 4 h, utilizando como disolvente n-hexano (AOCS, 1998). El proceso de oxidación acelerada se realizó en una incubadora a  $35\pm 1^\circ\text{C}$  por 5 meses, monitoreando cada mes mediante los diferentes parámetros que se muestran a continuación.

### Composición de ácidos grasos

Se pesaron  $500\pm 3$  mg de aceite en un matraz de fondo redondo, se añadieron 8 mL de hidróxido de sodio 0.5 N en metanol y 2 perlas de vidrio. Se unió el matraz a un condensador y se esperó hasta la ebullición de la muestra y se dejó en reflujo por 15 min. Posteriormente se adicionaron 9 mL de  $\text{BF}_3$  (20 % en metanol) a través del condensador y se continuó la ebullición por dos minutos. Se agregaron 2 mL de hexano y se dejó en ebullición por 1 min. Se detuvo el calentamiento y se esperó 2 min para enfriamiento de la muestra, posteriormente se añadieron 15 mL de una solución saturada de NaCl, se tapó el matraz y se agitó por 15 s. Se repitió esta acción hasta que la muestra alcanzara el cuello del matraz, y luego se transfirió 1 mL de la fase orgánica a un vial para

su posterior análisis por cromatografía de gases.

El análisis se realizó usando un cromatógrafo de gases 7890A (Agilent Technologies, Wilmington, EUA), acoplado a un detector de espectrometría de masas cuadrupolar modelo 5975C (Agilent Technologies, California, EUA). La separación cromatográfica se realizó con una columna capilar DB-5 (60 m x 0.25 mm de diámetro, 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de fase (Agilent Technologies); con helio (pureza 99.999%) como gas acarreador a un flujo constante de 1 mL/min.

El programa de temperatura del horno fue:  $80^\circ\text{C}$ ,  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  hasta  $230^\circ\text{C}$  (5 min),  $30^\circ\text{C}/\text{min}$  hasta  $280^\circ\text{C}$  (8 min). El espectrómetro de masas, fue operado en el modo de impacto electrónico (70 eV). El rango de masa utilizado fue 30 a 800 uma, con un factor de 1, las temperaturas de la línea de transferencia, fuente de ionización y cuadrupolo fueron de 230, 230 y  $150^\circ\text{C}$  respectivamente.

El puerto de inyección se operó en el modo Split 5 a  $250^\circ\text{C}$  durante 1 min. La identificación de los compuestos volátiles se realizó a partir de su espectro de masas, tomando como identificación positiva un 80 % de similitud al encontrado en la base de datos NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library, versión 1.7, EUA. Se comprobaron los picos de retención y su espectro de masas con estándares de referencia grado analítico.

### Grado de acidez del aceite extraído

Se pesaron  $5.00\pm 0.01$  g de aceite, y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. El aceite se disolvió en una mezcla de 10 mL de etanol desnaturalizado, 10 mL de éter etílico y 0.3 mL de solución de fenolftaleína (1 % p/v). El grado de acidez (GA) del aceite se obtuvo al titular esta mezcla con una solución etanólica de KOH (0.02 N) y se expresa como porcentaje (p/p) de ácido oleico.

$$GA = (V \times PM \times N) / (10 \times \text{g de aceite})$$

Donde: V = mL de solución etanólica de KOH utilizados para la titulación.

PM = peso molecular del ácido oleico.

N = normalidad de la solución de KOH.

### Índice de peróxidos

Se pesaron  $5.00 \pm 0.01$  g de aceite y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Se agregaron 30 mL de solución de ácido acético:cloroformo (3:2, v/v) y se agitó vigorosamente hasta disolución. Se adicionaron 0.5 mL de solución saturada de ioduro de potasio, se agitó y luego se dejó en reposo en oscuridad durante 1 min. Posteriormente, se agregaron 30 mL de agua destilada y se tituló, agitando continuamente, con solución 0.1 N de tiosulfato de sodio hasta desaparición del color amarillo. Se adicionaron 0.5 mL de solución de almidón (1 %, p/v) y se continuó titulando hasta desaparición del color azul (Torres y Maestri, 2006). El índice de peróxidos (expresado como miliequivalentes de oxígeno/kg de aceite) se calcula en base a la siguiente ecuación:

$$IP = (S \times N^* \times 1000) / (\text{g de aceite})$$

Dónde: S = mL de solución de tiosulfato de sodio consumidos.

N\* = normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

### Coefficiente de extinción específica

La prueba espectrofotométrica en el ultravioleta, puede proporcionar indicaciones sobre la calidad del aceite de las nueces en estudio, su estado de conservación y las modificaciones inducidas por los procesos tecnológicos. Se pesan 0.15 g ( $k_{232}$ ) y 0.90 g ( $k_{270}$ ) de aceite con una aproximación de 0.01 g y se colocan separadamente en matraces aforados de 25 mL. El volumen final se completó con ciclohexano. Las soluciones resultantes se homogenizan y una alícuota de cada una de las mismas se utilizó para medir la absorbancia a 232 nm ( $k_{232}$ ) y 270 nm ( $k_{270}$ ), utilizando el disolvente puro como referencia (AOCS, 1998).

### Índice de yodo.

Se determina el índice de yodo teórico (IY) en base a los valores porcentuales de los ácidos grasos insaturados (Torres y Maestri, 2006) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$IY = (\% \text{ Oleico} \times 0.899) + (\% \text{ Linoleico} \times 1.814) + (\% \text{ Linolénico} \times 2.737)$$

### Análisis estadístico

Se utilizó el software SPSS versión 22.0 (IL, EUA) para el análisis de los datos. Todos los análisis se realizaron usando tres replicados. Se usó análisis de varianza de una vía para evaluar diferencias significativas entre las muestras, y la prueba de Tukey se realizó para comparar los tratamientos con significancia de  $p < 0.05$ . Cada ensayo se reportó como el promedio  $\pm$  desviación estándar.

## III .Resultados

### Inhibición de crecimiento de *Aspergillus niger* GS2 mediante el agente antimicrobiano

Para establecer las condiciones de mayor eficacia del antimicrobiano, se determinó la solubilidad de la natamicina. En el Cuadro 1 se presentan las soluciones empleadas como medios dispersantes para el antimicrobiano, en donde se puede observar que las soluciones con glicerol resultaron muy viscosas y pocos solubles, mientras que para la de etanol, el antimicrobiano sólo era soluble a concentraciones muy altas de solvente, siendo la elaborada con una concentración de 25% (p/v) de ácido acético glacial la de mayor solubilidad. La solución elaborada con 25% de ácido acético fue utilizada para identificar la concentración efectiva de antimicrobiano, para ello tuvo un incremento paulatino en el crecimiento del microorganismo con el que se efectuó el reto (*Aspergillus niger* GS2).



**Cuadro 1. Solubilidad de natamicina (diferentes solventes y concentraciones).**

Solución (Solvente:Agua)	Proporción				Solubilidad
Etanol	1:1	1:2	NA	NA	Poco soluble en 50 % (v/v)
Ácido acético glacial	1:1	1:2	1:4	1:20	Buena solubilidad en 25 % (v/v),; suspensión a 5 % (v/v).
Glicerol	1:1	1:2	NA	NA	Ambas soluciones muy viscosas

En el Cuadro 2 se muestra el efecto del antimicrobiano natamicina empleado, siendo identificada como la más efectiva a 50 ppm de antimicrobiano, ya que a partir de esta concentración, no se presentó crecimiento microbiano. Cada tratamiento se realizó usando un control con la concentración especificada de ácido acético sin antimicrobiano para eliminar el efecto de dicho ácido.

**Cuadro 2. Efecto de natamicina sobre el crecimiento en caldo PDA de *A. niger* ( $4 \times 10^6$  esporas/mL)**

Tratamiento	Concentración natamicina en ácido acético glacial al 25% en peso (ppm)	Población UFC/mL
1	30	18
2	40	8
3	50	<1
4	60	<1
5	70	<1

## Recubrimiento de nueces

### *Ganancia de peso*

Una de las ventajas de los recubrimientos comestibles es servir como vehículo para la adición de algunos aditivos, los cuales pueden brindar alguna propiedad adicional mediante la cual se tenga un valor agregado, dotando de alguna mejora a su estructura, sabor, durabilidad, estabilidad, aceptación al consumidor, entre otras.

Los recubrimientos comestibles al ser aplicados sobre algún producto ocasionan un incremento en el peso del mismo, lo cual representa una ganancia en el costo beneficio de este proceso; el monitoreo de la ganancia en peso debido al recubrimiento de las nueces mediante inmersión en la suspensión filmogé-

nica, se calculó como sigue: Ganancia de peso (18 nueces)= 20.3321 g; peso de las nueces con recubrimiento = 20.7878 g. Por lo tanto, esto equivale a 0.4557 g recubrimiento por cada 20.3321 g de nuez ó 0.0224 g película por g de nuez (22.42 mg recubrimiento/g nuez). Por lo que ganancia equivalente a 22.42 mg de recubrimiento por cada gramo de nuez representa un 2.25% de ganancia.

### Suspensión filmogénica

La concentración efectiva de natamicina encontrada contra *A. niger* en el recubrimiento es de 50 ppm, en base a este resultado, se realizaron los cálculos para saber la concentración de antimicrobiano con respecto a la masa total de producto (nuez).

Considerando que se tiene un peso promedio por nuez de 1.13 g, se requieren 25.32 mg recubrimiento, el cual contiene 1 µg de natamicina. Con respecto al peso total de la nuez se tiene 1 µg de natamicina por cada 1.13 g de nuez lo cual representa una concentración de 0.885 ppm de antimicrobiano en la masa neta de la nuez y de acuerdo a lo reportado en el *Codex Alimentarius*

la dosis máxima de consumo es de 40 ppm, por lo cual la concentración utilizada en el presente trabajo, se encuentra muy por debajo de lo recomendado.

### Caracterización fisicoquímica de los aceites

La siguiente serie de pruebas se refieren al estudio de las características principales de la estabilidad con respecto al tiempo que duró el estudio de las muestras de aceite obtenidas.

### Grado de acidez

En el Cuadro 3 se muestran los resultados de acidez de las diferentes muestras a diferente tiempo de almacenamiento. Para la nuez pecán se obtuvo en promedio, un comportamiento ascendente en cuestión al aumento de acidez en los tres tratamientos analizados, mostrando un comportamiento que no mostró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los dos tipos de recubrimiento y la muestra control. Por otro lado, la acidez del control de nuez de marañón se mantiene esencialmente sin diferencia significativa en los primeros cinco meses de almacenamiento.

**Cuadro 3. Acidez de las nueces de pecán y marañón; se presentan valores promedio ± desviación estándar.**

Meses	Nuez Pecán (% p/p)			Nuez Marañón (% p/p)		
	Control	RC Cera	RC Ac Oleico	Control	RC Cera	RC Ac Oleico
2	0.065±0.007 <sup>a</sup>	0.067±0.008 <sup>a</sup>	0.064±0.005 <sup>a</sup>	0.071±0.001 <sup>b</sup>	0.065±0.001 <sup>b</sup>	0.062±0.005 <sup>b</sup>
3	0.067±0.003 <sup>a</sup>	0.067±0.008 <sup>a</sup>	0.064±0.001 <sup>a</sup>	0.070±0.004 <sup>b</sup>	0.067±0.006 <sup>b</sup>	0.068±0.001 <sup>b</sup>
4	0.068±0.005 <sup>a</sup>	0.070±0.005 <sup>a</sup>	0.069±0.001 <sup>a</sup>	0.073±0.006 <sup>b</sup>	0.067±0.002 <sup>b</sup>	0.071±0.003 <sup>b</sup>
5	0.071±0.001 <sup>a</sup>	0.070±0.008 <sup>a</sup>	0.070±0.002 <sup>a</sup>	0.063±0.002 <sup>b</sup>	0.073±0.002 <sup>b</sup>	0.062±0.007 <sup>b</sup>

RC=recubrimiento comestible. Letras iguales en los superíndices representan diferencias que no son significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos, que fueron analizados en bloques diferentes, para cada tipo de nuez.

Para las dos nueces (pecán y marañón) el recubrimiento elaborado con ácido oleico presenta un buen control para el grado de acidez, ya que este siempre se mantiene por debajo del tratamiento sin recubrimiento aunque sin diferencias significativas, por lo cual presenta una regular capacidad para evitar el aumento en el grado de acidez durante el tiempo de almacenamiento.

### Índice de peróxidos

En el cuadro 4 se presentan los resultados de la determinación del índice de peróxidos de las muestras de nuez a diferente tiempo de almacenamiento. El comportamiento del índice de peróxidos de los dos recubrimientos y el control fue similar, ya que no presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ); sin embargo, para ambas muestras las nueces con recubrimiento presentan un retardo en el aumento de la generación de peróxidos, mostrando un aumento al cabo del cuarto mes.

Para la nuez pecán, con y sin recubrimiento se mantiene un comportamiento similar en los tres tratamientos teniendo valores de índice de peróxido entre 4 - 4.1 meq  $O_2$ /kg aceite, sin embargo, el recubrimiento con ácido oleico presenta una mayor estabilidad promedio de ácidos grasos, aunque los valores no son significativamente diferentes respecto al control o al recubrimiento con cera de abeja.

**Cuadro 4. Índice de peróxidos (meq  $O_2$ /kg aceite) de las nueces de pecán y marañón, con o sin recubrimiento. Se presentan valores promedio  $\pm$  desviación estándar**

Meses	Nuez pecán			Nuez marañón		
	Control	RC Cera	RC Ac Oleico	Control	RC Cera	RC Ac Oleico
0	4.058 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>	4.058 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	4.058 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	4.191 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	4.191 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	4.191 $\pm$ 0.97 <sup>a</sup>
1	4.092 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.129 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>	4.154 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup>	4.602 $\pm$ 0.74 <sup>a</sup>	4.413 $\pm$ 1.22 <sup>a</sup>	4.231 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
2	4.197 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.089 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	4.149 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	4.591 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.391 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	4.182 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>
3	4.341 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.090 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.151 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	4.533 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.511 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	4.409 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
4	4.390 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.305 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	4.448 $\pm$ 1.61 <sup>a</sup>	4.685 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	4.513 $\pm$ 1.14 <sup>a</sup>	4.564 $\pm$ 1.88 <sup>a</sup>
5	4.546 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	4.270 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	4.497 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	4.087 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>	4.680 $\pm$ 2.8 <sup>a</sup>	3.991 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>

*Letras iguales en los superíndices representan diferencias que no son significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), que fueron analizados en bloques diferentes para cada tipo de nuez.*

Estos valores son similares a los obtenidos por Ozkan y Koyunco (2005), en donde se encontraron valores promedio de 4.5 meq  $O_2$ /kg aceite. De los resultados obtenidos se puede observar en la nuez de marañón, aunque no se observan diferencias significativas, los promedios de la muestra control y del recubrimiento con ácido oleico son similares a los 4 y 5 meses de almacenamiento. Se observó ligeramente mejor estabilidad de las nueces de pecán recubiertas con almidón incorporado con cera de abeja y las de marañón con ácido oleico, los cuales sugieren un efecto retardante en la generación de peróxidos.

### Coefficiente de extinción específica

Se determinó la estabilidad en el tiempo de almacenamiento de los dienos y trienos de las diferentes muestras mediante absorción en el ultravioleta ( $\lambda_{\text{dienes}}$ :

232 nm y  $\lambda_{\text{trienos}}$ : 270 nm). La presencia de dienos (dobles enlaces conjugados) en las muestras, se relacionan con la presencia de ácido linoleico, mientras que la presencia de trienos (triples enlaces conjugados) hacen referencia a la presencia del ácido linolénico (AOCS, 1998). En la Figura 1 se muestra el comportamiento del coeficiente de extinción de la nuez pecán, en el que se puede observar que las nueces con el recubrimiento de ácido oleico es el más eficaz, ya que se presenta una menor disminución en la concentración de dienos (menor  $A_{232}$  nm), lo cual indica una mayor estabilidad de los ácidos grasos esenciales, mientras que en el recubrimiento en base cera de abeja presenta la menor estabilización, por lo cual no se considera una buena opción para aumentar la estabilidad de los ácidos grasos en la nuez de pecán.

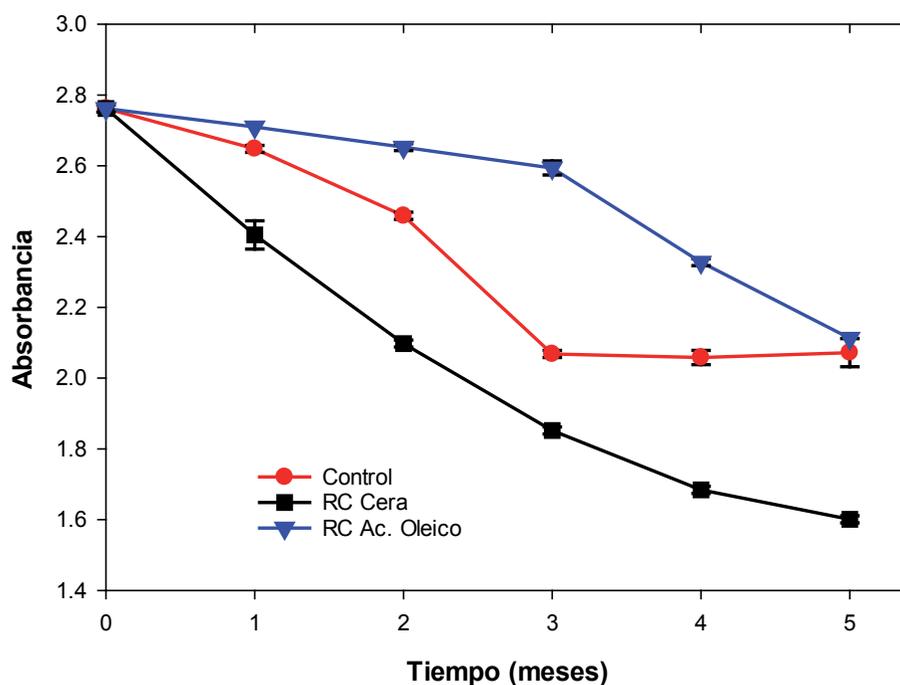
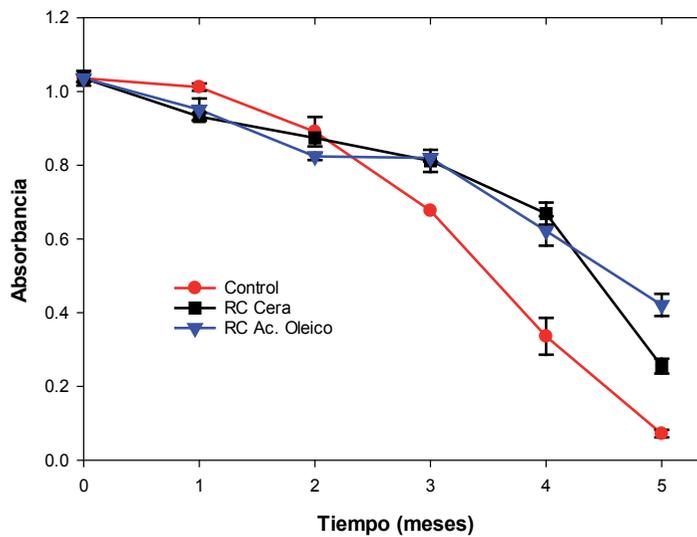


Figura 1. Coeficiente de extinción ( $\lambda_{232}$  nm) para dienos del aceite de nuez de pecán.

En cuanto a los resultados obtenidos para la presencia de trienos (ácido linolénico) se observa un comportamiento similar para los dos recubrimientos, a partir del cuarto mes se tiene una disminución en el valor obtenido ( $A_{270}$  nm) mientras que del tiempo cero al tercer mes se obtienen valores semejantes con una disminución paulatina; por otro lado, la muestra control presenta una mayor disminución que con los recubrimientos a partir del segundo y hasta el quinto mes (Figura 2). De los resultados obtenidos, se puede observar que el recubrimiento con mejor comportamiento en el análisis de dienos es el de

ácido oleico con una  $A_{232} = 2.1$ , correspondiente al mes cinco en la nuez de pecán, y aunque al final del almacenamiento mostró un valor igual que el control, éste siempre mostró valores mayores en los meses anteriores. En cuanto a los trienos se observó un comportamiento muy semejante ( $A_{270} = 0.6$ ) en los dos recubrimientos al cabo de cuatro meses de almacenamiento (siendo significativamente mayores que el control), por lo cual no se puede determinar cuál presenta mayor beneficio, dichos valores son similares a los obtenidos por Crowe y col., (2002), los cuales reportaron valores entre  $A_{232} = 1-4$  para dienos y  $A_{270} = 0.06-0.20$  para trienos.



**Figura 2. Coeficiente de extinción ( $\lambda_{270}$  nm) de los trienos de aceite de nuez de pecán.**

Los extractos oleosos de la nuez de marañón muestran un comportamiento similar en las nueces con y sin recubrimiento en los dos primeros meses, mostrando una diferencia significativa entre los tipos de recubrimientos y el control al tercer mes de almacenamiento. Por lo tanto, el recubrimiento elaborado con cera de abeja resultó ser el más efectivo para la conservación de los ácidos grasos ( $A_{232} = 2.166$  al quinto mes) (Figura 3). Los valores obtenidos en esta prueba muestran que el recubrimiento a base cera de abeja evita con mayor eficiencia la desaparición de dienos en la nuez de marañón.

En lo referente a los trienos conjugados el recubrimiento base ácido oleico fue el que mantuvo mejor las características del extracto (Figura 4), cuando se incorporó cera de abeja se observa una disminución marcada en el primer mes,

mientras que en el control se observa una disminución lineal desde el primero hasta el quinto mes llegando a un valor inferior a  $A_{270} = 0.6$  al quinto mes.

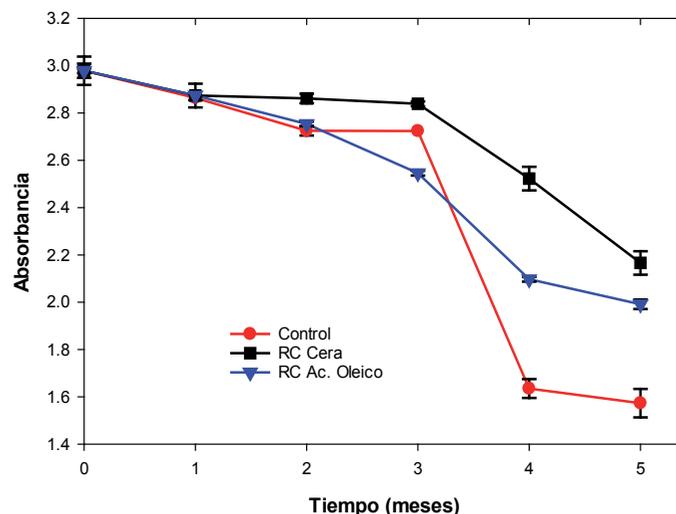
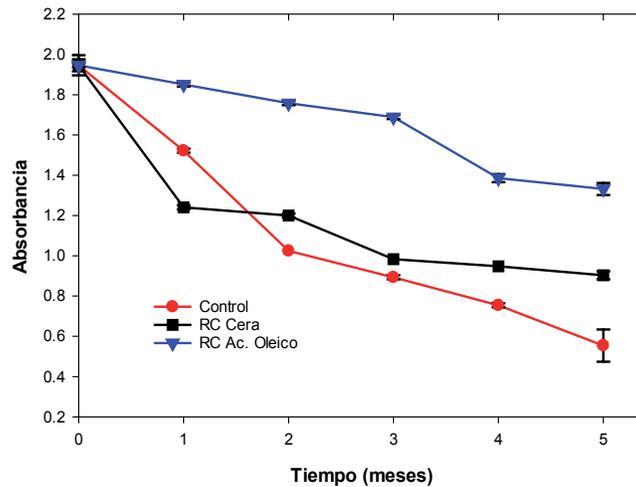


Figura 3. Coeficiente de extinción dienos ( $\lambda_{232}$  nm) para dienos del aceite de nuez de marañón.

El recubrimiento base ácido oleico presenta mejores resultados, obteniendo un valor de  $A_{270} = 1.332$  al cabo de cinco meses de tratamiento, significativamente mayor que el control que obtuvo una  $A_{270} = 0.554$  y que el recubrimiento base cera con  $A_{270} = 0.903$ , los valores son similares a los reportados para nuez de marañón por Economou y col. (1991), los cuales reportaron valores entre  $A = 1-4$  para 232nm y  $A = 0.2-0.3$  para trienos (270 nm).



**Figura 4. Coeficiente de extinción ( $\lambda_{270}$  nm) de los trienos de aceite de nuez de marañón.**

Finalmente, se realizó la cuantificación de los ácidos grasos (ácido oleico, ácido linoleico y ácido linolénico) presentes en los extractos obtenidos al segundo y cuarto mes de almacenamiento (Cuadro 5).

Para la nuez de pecán, la concentración del ácido linoleico a los 4 meses de almacenamiento presenta una disminución significativa en el control respecto a cualquiera de los recubrimientos ( $p < 0.05$ ), los cuales permiten mejorar la estabilidad del ácido linoleico, siendo ligeramente mejor en el recubrimiento con ácido oleico. En la misma muestra después de 4 meses, la concentración del ácido oleico en el control presenta una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en relación a las muestras con recubrimiento. La aplicación de los recubrimientos en la nuez de pecán permite la disminución de ácido linoleico en un 17% en promedio a los 4 meses de almacenamiento, mientras que en la muestra control éste ácido graso disminuyó en un 24%, estos valores concuerdan con los encontrados por Crews y col., (2005) quienes encontraron una disminución del 15-25% de ácido linoleico.

**Cuadro 5. Ácidos grasos en nuez (% en peso respecto al total de aceite), se presentan valores promedio  $\pm$  desviación estándar.**

Nuez de marañón			
	Ácido (%)	2 Meses	4 Meses
Control	linoleico C18:2 (inicial: 15.3 $\pm$ 0.30)	10.5 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	10.9 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
	oleico C18:1 (inicial: 79.5 $\pm$ 0.25)	75.1 $\pm$ 0.86 <sup>d</sup>	73.8 $\pm$ 0.30 <sup>f</sup>
RC Ácido oléico	linoleico C18:2	11.5 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	11.5 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>
	oleico C18:1	70.9 $\pm$ 0.88 <sup>e</sup>	64.1 $\pm$ 0.58 <sup>g</sup>
RC Cera de abeja	linoleico C18:2	14.1 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	14.2 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>
	oleico C18:1	75.2 $\pm$ 0.22 <sup>d</sup>	74.9 $\pm$ 0.48 <sup>d</sup>
Nuez de pecán			
	Ácido (%)	2 Meses	4 Meses
Control	linoleico C18:2 (inicial: 23.3 $\pm$ 0.11)	20.0 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	17.8 $\pm$ 0.82 <sup>c</sup>
	oleico C18:1 (inicial: 78.6 $\pm$ 0.10)	74.8 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	71.5 $\pm$ 0.87 <sup>d</sup>
RC Ácido oléico	linoleico C18:2	19.7 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	19.6 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
	oleico C18:1	74.6 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	74.2 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
RC Cera de abeja	linoleico C18:2	19.0 $\pm$ 1.26 <sup>a</sup>	19.3 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
	oleico C18:1	74.5 $\pm$ 1.39 <sup>b</sup>	74.1 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>

Letras diferentes para cada ácido graso representan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Para la nuez de marañón, la concentración de ácido linoleico fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en cualquiera de los recubrimientos respecto al control tanto al segundo como al cuarto mes de almacenamiento, siendo significativamente mayor cuando se usó el recubrimiento incorporando cera de abeja (Cuadro 5). Para el ácido oleico la muestra con recubrimiento base cera de abeja no presentó diferencia significativa respecto al control ( $p < 0.05$ ) a los dos meses de almacenamiento, mientras que el recubrimiento base ácido oleico no representa una buena opción para evitar el deterioro del mismo, ya que este recubrimiento presentó una disminución en su concentración de 11% a los dos meses hasta 20% a los 4 meses de almacenamiento, estos valores son semejantes a los reportados por Li y col., (2006; 2007), con un valor promedio de 25%. Por otro lado, el recubrimiento incorporando cera de abeja presentó significativamente ( $p < 0.05$ ) mayores concentraciones de ácidos oleico y linoleico que cualquiera de las otras muestras a los 4 meses de almacenamiento (Cuadro 5).

Respecto a la incorporación de natamicina como agente antimicrobiano; las nueces control presentaron evidentes signos de deterioro por hongos al cuarto



GARCÍA, B. Y COL.

EFECTO DEL USO DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES ANTIMICROBIANOS EN NUEZ DE PECÁN Y MARAÑÓN, SOBRE LA ESTABILIDAD DE SUS ÁCIDOS GRASOS MAS ABUNDANTES

mes de almacenamiento, mientras que las muestras con recubrimiento a base de cera de abeja y ácido oleico no sufrieron deterioro al ser evaluadas mediante observación visual.

#### IV .Conclusiones

El uso de un recubrimiento a base de almidón ceroso con ácido oleico como agente hidrofóbico en nuez de pecán logró retardar la oxidación de los ácidos grasos y el grado de acidez, además de que la concentración de los dos ácidos grasos más abundantes mostró una disminución menor al 17% en el tiempo que duró el estudio. El recubrimiento que presentó los mejores resultados para la nuez de marañón fue el elaborado con cera de abeja como agente hidrofóbico, debido a que los ácidos grasos oleico y linoleico presentaron cambios en concentración menores al 8% a los 4 meses de almacenamiento. El grado de acidez, índice de peróxidos y el coeficiente de extinción (especialmente para los dienos) indican un efecto protector del recubrimiento con cera de abeja.

El recubrimiento de almidón ceroso adicional con ácido oleico aplicado en la nuez de pecán y el mismo pero con base cera de abeja para la nuez de marañón, proporcionan una mejora significativa en la estabilidad de sus ácidos grasos.

La incorporación de natamicina en los recubrimientos, fue efectiva al retardar el crecimiento de hongos durante los 4 meses de almacenamiento.

#### Resúmenes curriculares

**Aldo Amaro Reyes.** Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro. 5 artículos en revistas indexadas, 5 presentaciones en congresos, 2 tesis dirigidas de Licenciatura, SNI: candidato.

**Montserrat Escamilla García.** Doctora en Ciencias en Alimentos, Escuela Nacional De Ciencias Biológicas, IPN. 2 artículos en revistas indexadas, 1 capítulo de libro, 7 publicaciones en congresos,

2 Tesis dirigidas de Lic, SNI: Candidato. Posdoctorante en el Lab. de Biotecnología, Facultad de Química, UAQ.

**Blanca E. García Almendárez.** Doctora en Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Miembro del CA Biotecnología, 38 publicaciones indexadas, 15 capítulos de libro, 2 libros editados, 1 patente en trámite, SNI nivel 1, índice h=13, 1 tesis dirigida de Doctorado.

**Marco Antonio Hernández Nieto.** Ingeniero Químico en Alimentos, Ingeniero de procesos en NUCITEC.

**Carlos Regalado González** Doctor en Biotecnología, Universidad de Reading, Inglaterra. Líder del CA Biotecnología. Vice-presidente de la SMBB. Coordinador del Parque Biotecnológico de la UAQ. Miembro del Jurado del PNCTA. 48 publicaciones indexadas, 23 capítulos de libro, 535 citas, índice h= 14. 29 Tesis dirigidas de Lic, 30 de MSc, 8 de Doctorado.

#### Referencias bibliográficas:

- Amaral, J.S., Casal, S., Pereira, J.A., Seabra, R.M., Oliveira, B.P.P. (2003). Determination of sterol and fatty acid compositions, oxidative stability, and nutritional value of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars grown in Portugal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 3, 16-26.
- AOCS. (1998). American Oil Chemists' Society. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. Ed. AOCS Press, Champaign, EUA.
- Arranz, S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. (2008). Antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.): Contribution of oil and defatted matter. *European Food Research and Technology*, 227, 425-431
- Arredondo-Ochoa, T. y cols. (2015). Active edible films based on modified corn starch for food applications. En G. Gutiérrez-López y cols. (Ed). *Water stress in biological, chemical, pharmaceutical and food systems* (pp. 451-460). New York, EUA: Springer.

- Crews, C., Hough, P., Godward, P., Brereton, P., Lees, M., Guet, S., Winkelmann, W. (2005). Study of the main constituents of some authentic walnut oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 4853-4860.
- Crowe, T.D., Crowe, T.W., Johnson, L.A., White, P.J. (2002). Impact of extraction method on yield of lipid oxidation products from oxidized and unoxidized walnuts. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 79, 453-456.
- Economou, K.D., Oreopoulou, V., Thomopoulos, C.D. (1991). Antioxidant activity of some plant extracts of the family *Labiatae*. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 68, 109-113.
- Fakhouri, F.M., Martelli, S.M., Caon, T., Velasco, J.I., Mei, L.H.I. (2015). Edible films and coatings based on starch/gelatin: film properties and effect of coatings and quality of refrigerated red crimson grapes. *Postharvest Biology and Technology*. 109, 57-64.
- Galus, S. y Kadzinska, J. (2015). Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science and Technology*. 45, 273-283
- Li, L., Tsao, R., Yang, R., Liu, C., Zhu, H., Young, J.C. (2006). Polyphenolic profiles and antioxidant activities of heartnut (*Juglans ailanthifolia* var. *cordiformis*) and Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 8033-8040.
- Li, L., Tsao, R., Yang, R., Kramer, J.K.G., Hernández, M. (2007). Fatty acid profiles, tocopherol contents, and antioxidant activities of heartnut (*Juglans ailanthifolia* var. *cordiformis*) and Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 1164-1169.
- Osorio C., Ramos, F.A., Duque, C., Cordero, C., Aristizábal, F., Garzón, C., Fujimoto, Y. (2004). Estudio químico de la nuez del marañón gigante (*Anacardium Giganteum*). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*. 28, 565-575.
- Ozkan, G., Koyuncu, M.A. (2005). Physical and chemical composition of some walnut (*Juglans regia* L.) genotypes grown in Turkey. *Grasas y Aceites*. 56, 141-146.
- Perez-Gallardo, A., Mattinson, S.D., Lazcano-Peralta, A., Fellman, J.K, Barbosa-Cánovas, G., García-Almendárez, B., Regalado, C. (2012). Effect of native and acetylated-crosslinked waxy corn starch-beeswax coatings on quality attributes of raspberries during storage. *Starch-Starke*. 64, 665-673.
- Pérez-Gallardo, A., García-Almendárez, B.E., Barbosa-Cánovas, G., Pimentel-González, D., Reyes-González, L.R., Regalado, C. (2014). Effect of starch-beeswax coatings on quality parameters of blackberries (*Rubus* spp.). *Journal of Food Science and Technology*. DOI: 10.1007/s13197-014-1665-3. Publicado en línea 04/12/2014.
- Pinto A.M.B., Sanots, T.M., Caceres, C.A., Lima, J.R., Ito, E.N., Azeredo, H.M.C. (2015). Starch-cashew tree gum nanocomposite films and their application for coating cashew nuts. *LWT- Food Science and Technology*. 62, 549-554.
- Ouattara, B., Simard, R., Piette, G., Bégin, A., Holley, R.A. (2000). Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology*. 62, 139-148.
- Ramos-García, M. L., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2010; 28:44-57.
- SIAP. (2014). Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Cierre de la producción agrícola por cultivo. SAGARPA. Extraído el 5 de Julio de 2015 desde: <http://www.siap.gob.mx/agricultura-produccion-anual>
- Torres, M.M., Maestri, D.M. (2006). The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from Traslasierra Valley (Córdoba, Argentina). *Food Chemistry*. 96, 507-511.



**EFEECTO DEL USO DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES ANTIMICROBIANOS EN  
NUEZ DE PECÁN Y MARAÑÓN, SOBRE LA ESTABILIDAD DE SUS ÁCIDOS GRASOS MAS  
ABUNDANTES**

**GARCÍA, B. Y COL.**

Türe, H., Eroglu, E., Soyer, F., Ozen, B. Antifungal activity of biopolymers containing natamycin and rosemary extract against *Aspergillus niger* and *Penicillium roqueforti*. International Journal of Food Science in Technology. 43, 2026–2032.

Was, E., Szczęsna, T., Rybak-Chmielewska, H. (2014). Determination of beeswax hydrocarbons by gas chromatography with a mass detector (GC-MS) technique. Journal of Apicultural Science 58, 145-157.