

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE:
INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



TESIS

**“DESARROLLO DE BIOPELÍCULA FUNCIONAL A BASE DE CARRAGENINA,
CERA DE ABEJA, ACEITE DE CLAVO”**

POR

ELIGIA OSORIO DE LA CRUZ

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.

MAYO, 2018.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE:
INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“DESARROLLO DE BIOPELÍCULA FUNCIONAL A BASE DE CARRAGENINA,
CERA DE ABEJA, ACEITE DE CLAVO”**

Por:

ELIGIA OSORIO DE LA CRUZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:
INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

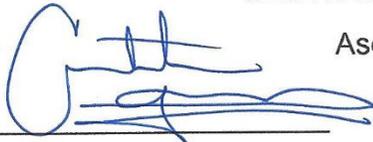
La cual fue revisada y aprobada por:

COMITÉ ASESOR



Dra. Xochitl Ruelas Chacón

Asesor principal



Dr. Antonio Francisco Aguilera Carbó

Coasesor



M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla



Dr. José Dueñez Alanís

Coordinador de la División de Ciencia Animal



Saltillo, Coahuila, México

Mayo del 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
PROGRAMA DOCENTE DE:
INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“DESARROLLO DE BIOPELÍCULA FUNCIONAL A BASE DE CARRAGENINA,
CERA DE ABEJA, ACEITE DE CLAVO”**

Por:

ELIGIA OSORIO DE LA CRUZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

JURADO CALIFICADOR



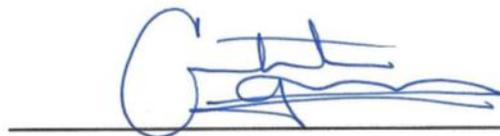
Dra. Xochitl Ruelas Chacón

Presidente



M.E. Laura Olivia Fuentes Lara

Vocal



Dr. Antonio Francisco Aguilera Carbó

Vocal



M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla

Vocal Suplente

Saltillo, Coahuila, México

Mayo del 2018

DEDICATORIAS

A mis padres:

Francisca De La Cruz Magdalena y Cándido Osorio De La Cruz.

Quienes me han heredado el tesoro más valioso que pueda dársele a un hijo: amor, quienes nunca podré pagar todos los desvelos ni con las riquezas más grandes del mundo, que sin escatimar esfuerzo alguno han sacrificado gran parte de su vida para mi preparación como profesionista y como ser humano.

A mi madre: Por su comprensión, amor y paciencia, por el apoyo incondicional en mi formación, por darme todo lo necesario sin importar las circunstancias, por ser un gran ejemplo para mí y enseñarme que todo es posible en la vida.

A mi padre: Por su cariño, apoyo y comprensión, por brindarme seguridad e impulsarme a crecer y conocer el ámbito laboral, por ser un hombre fuerte y admirable, que me enseñó a enfrentar la vida.

A mis hermanas:

Margarita Osorio, Flor Osorio y Fernanda Osorio, que son una base y unos pilares para mí, por todo el amor que me han brindado, por su sacrificio y apoyo incondicional.

A mis amigos:

Carmen Alejandra, Dary Zarate, Pilar Marín, Luis Garfias, Brenda Mosqueda, Mariana Salas, por brindarme su amistad y apoyo, por compartir muchos momentos de tristeza y felicidad.

A mi pareja:

Ángel Adviel Juanes, por su amor, cariño y comprensión, por apoyarme y estar conmigo en los momentos más difíciles de mi vida, por levantarme y animarme para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por recibirme y prestarme sus instalaciones, docentes y por permitirme cumplir uno de mis objetivos.

A la Dra. Xóchitl Ruelas Chacón por el asesoramiento a lo largo de la elaboración del presente documento, por su tiempo, paciencia, por su accesibilidad en todo momento, por sus consejos académicos y personales, y sobre todo por contribuir en mi preparación como profesionista.

A la M.C. Laura Oliva Fuentes Lara por aportar sus conocimientos en mi desarrollo profesional.

Al M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla, por compartir sus conocimientos y por su optimismo en el desarrollo académico.

Al Dr. Antonio Francisco Aguilera Carbó, por su tiempo y colaboración en este documento.

Al Dr. Efraín Castro Narro por sus tutorías y su amistad.

A los profesores del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, que contribuyeron a mi formación, por todas sus enseñanzas y su paciencia.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página (s)
DEDICATORIAS	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	xi
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Justificación.....	3
1.2. Objetivos	4
1.2.1. Objetivo general:.....	4
1.2.2. Objetivos específicos:	4
1.3. Hipótesis:	5
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1. Películas Comestibles.....	6
2.2. Definición de recubrimiento.....	7
2.3. Definición de película comestible	7
2.3.1. Composición de películas y recubrimientos comestibles	9
2.4. Propiedades físicas de los recubrimientos	11
2.4.1. Permeabilidad al vapor de agua	11
2.4.2. Color	11
2.4.3. Transparencia y opacidad.....	12
2.4.4. Solubilidad	12
2.5. Películas de carragenina.....	13
2.6. Los plastificantes y el glicerol.....	14
2.6.1. Estructura molecular del glicerol.....	15
2.7. Ceras	15
2.8. Aceites esenciales	16
2.8.1. Aceites esenciales de plantas aromáticas como novedosos agentes anticancerígenos y antioxidantes en líneas celulares de cáncer humano.	16
2.9. Generalidades del clavo de olor <i>Syzygium aromaticum</i>	17
2.9.1. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y extractos de clavo	19

2.9.2. Actividad antibacteriana	19
2.9.3. Actividad antifúngica	20
2.10. Formación de películas comestibles	21
CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1 Metodología	23
3.1.1 Etapa experimental	23
3.1.2. Preparación de la formulación	23
3.1.3. Formación de la película	25
3.2. Propiedades físicas de las formulaciones	25
3.2.1. Medición del grosor	25
3.2.2. Propiedades ópticas	26
3.2.3. Medición de color	27
3.2.4. Contenido de humedad	27
3.2.5. Solubilidad	28
3.2.6. Permeabilidad al vapor de agua	29
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1. Análisis estadístico	31
4.2. Parámetros evaluados	31
4.2.1 Grosor	32
4.2.2. Humedad	33
4.2.3. Solubilidad	34
4.2.4 Opacidad	35
4.3. Análisis de color	38
4.3.1. Luminosidad	38
4.3.2. Cromaticidad a* (+rojo-verde)	40
4.3.3. Cromaticidad b*(+amarillo-azul)	40
4.4. Permeabilidad	41
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	45
CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA	47

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Formulación y porcentaje de los componentes de la película comestible.....	24
Cuadro 2. Análisis de resultados de los parámetros evaluados (grosor, % humedad, % solubilidad, opacidad y transmitancia).....	31
Cuadro 3. Análisis de resultados del parámetro color (L (Luminosidad), a (cromaticidad +rojo-verde), b (cromaticidad +amarillo-azul)).....	38
Cuadro 4. Análisis de resultados de permeabilidad al vapor de agua a 100%, 85%, y 75% de humedad relativa.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Carragenina.....	13
Figura 2. Preparación de la formulación.....	23
Figura 3. Películas comestibles a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.....	25
Figura 4. Determinación de grosor.....	25
Figura 5. Determinación de porcentaje de opacidad.....	26
Figura 6. Filtrado.....	28
Figura 7. Secado de los conos.....	28
Figura 8. Determinación de permeabilidad al vapor de agua.....	30
Figura 9. Comportamiento del parámetro grosor.....	32
Figura 10. Gráfica de porcentaje de humedad de películas a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.....	33
Figura 11. Gráfica de solubilidad de películas a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.....	34
Figura 12. Comportamiento de las medias de la variable opacidad.....	36
Figura 13. Comportamiento de las medias de la variable transmitancia.....	37
Figura 14. Gráfica de luminosidad de películas a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.....	39
Figura 15. Comportamiento del eje "a" del parámetro color.....	40
Figura 16. Comportamiento del eje "b" del parámetro color.....	41
Figura 17. Gráfica de permeabilidad de la película desarrollada a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo a una humedad relativa al 100%....	43

Figura 18. Gráfica de permeabilidad de la película desarrollada a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo a una humedad relativa al 85%.....44

Figura 19. Gráfica de permeabilidad de la película desarrollada a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo a una humedad relativa al 75%.....45

RESUMEN

La conservación de los alimentos es de vital importancia, por ello es necesario implementar el desarrollo de nuevas metodologías de conservación, con el fin de alargar la vida de anaquel de los alimentos. Hoy en día los consumidores demandan productos naturales mínimamente procesados con el fin de consumir alimentos frescos. Entre los métodos para la preservación de alimentos surgen alternativas como el empleo de películas o recubrimientos comestibles.

El objeto de la presente investigación fue analizar el efecto de la concentración del biopolímero (carragenina: 1.0, 1.5 y 2.0%, w/v) y la concentración de cera de abeja, con aceite esencial de clavo, con el fin de desarrollar una biopelícula comestible.

Se determinaron propiedades físicas, ópticas y de barrera de las diferentes formulaciones (color, porcentaje de humedad, porcentaje de solubilidad, grosor y permeabilidad al agua a 75%, 85% y 100% de humedad relativa) de cada formulación.

Una vez obtenidas las biopelículas se determinaron las propiedades fisicoquímicas. Con los resultados obtenidos se identificó que la concentración de carragenina influye en el grosor de la biopelícula, a mayor cantidad de carragenina, mayor es el grosor. En la determinación del porcentaje de humedad existen diferencias significativas entre las formulaciones, la formulación B (1% de carragenina y 20% de aceite esencial de clavo) presentó mayor porcentaje de humedad y la formulación D (1.5% de carragenina y 10% de aceite esencial de clavo) presentó menor porcentaje de humedad.

En el análisis de solubilidad se encontró diferencia entre las formulaciones, la formulación B (1% de carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) obtuvo mayor porcentaje de solubilidad (100%), y la formulación G (2% de carragenina y 10% de aceite esencia de clavo) obtuvo menor porcentaje de solubilidad (51.47 %).

En la opacidad de la biopelícula existe una diferencia significativa en los resultados, las formulaciones A, B y C presentaron menor opacidad (A 0.01488, B 0.012370, C 0.01689), la formulación I (2% de carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) presentó mayor opacidad (0.04428).

En los datos analizados de transmitancia, las formulaciones A,B,I, son significativamente diferentes al resto, siendo la formulación A (1% de carragenina y 10% de aceite esencia de clavo) con 47.09 de transmitancia y B (1% de carragenina y 20% de aceite esencial de clavo) con 45.340 de transmitancia, fueron las que obtuvieron mayor porcentaje de transmitancia, la formulación I (2% de carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) fue la que presentó menor transmitancia (21.82).

En el análisis de color, las formulaciones presentaron magnitudes negativas, eso corresponde a un componente de color ligeramente verde, las películas presentaron un tono amarillento que se relaciona con la cantidad de aceite de clavo añadido, mientras se añada mayor cantidad de aceite, el tono amarillo se muestra más intenso. La formulación B presenta un tono más débil a diferencia de la formulación I que presenta un tono amarillo más intenso, las formulaciones restantes presentan un tono similar.

En la determinación de permeabilidad en los datos analizados no se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones. Aunque no hubo diferencias significativas, analizando los resultados, la formulación A es la menos permeable y la formulación E es la más permeable al 100% y 85% de HR. En cuanto al análisis de 75% de HR, la formulación B obtuvo menor permeabilidad a diferencia de la formulación F que es más permeable.

Palabras clave: biopelícula, carragenina, cera de abeja, aceite esencial de clavo, propiedades físicas, propiedades ópticas.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

La conservación de alimentos ha sido un tema de interés desde hace muchos años, por ello se han implementado diferentes técnicas desde enfriamiento, congelamiento, escaldado, cocción, etc. Hoy en día los consumidores demandan productos naturales mínimamente procesados con el fin de consumir alimentos frescos, por esta razón se han desarrollado nuevas metodologías de conservación con el fin de obtener alimentos inocuos, mejorando sus características físicas, nutricionales y organolépticas. Entre los métodos para la conservación de alimentos surgen alternativas como el empleo de películas (PC) o recubrimientos comestibles (RC).

La aplicación de recubrimientos comestibles en los alimentos disminuyen la tasa de respiración, retrasan la pérdida de peso por deshidratación y prolongan la vida de anaquel, esto se debe a que las biopelículas funcionan como una barrera semipermeable a los gases y al vapor de agua, también pueden actuar como portadores de ingredientes funcionales como agentes antimicrobianos y antioxidantes.

El uso de una PC o RC en aplicaciones alimentarias y en especial en productos altamente perecederos, como los pertenecientes a la cadena hortofrutícola, se basa en ciertas características tales como costo, disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas (tensión y flexibilidad), propiedades ópticas (brillo y opacidad), su efecto de barrera frente al flujo de gases, resistencia estructural al agua, a microorganismos y su aceptabilidad sensorial. Estas características son influenciadas por parámetros como el tipo de material implementado como matriz estructural (conformación, masa molecular, distribución de cargas), las condiciones bajo las cuales se preforman las películas (tipo de solvente, pH, concentración de componentes, temperatura, entre otras), y el tipo y concentración de los aditivos (plastificantes, agentes entrecruzantes, antimicrobianos, antioxidantes, emulsificantes, etc.) (Guilbert *et al.*, 1996).

Para la formulación de las películas comestibles, pueden emplearse diferentes materiales tales como almidones, derivados de celulosa, quitosano, gomas, proteínas del suero láctico, concentrados de proteína de soja así como también grasas y aceites, se hace indispensable el uso de plastificantes como glicerol o sorbitol, a fin de proporcionar la flexibilidad deseada a dichas películas.

Se ha encontrado que la aplicación de aceites esenciales en las biopelículas pueden funcionar como agentes antimicrobianos ya que poseen un alto porcentaje de compuestos fenólicos como el carvacrol, el timol y el eugenol, que son capaces de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas *E.coli* y *Tiphimurium* (Ramadán *et al.*, 2015).

Hasta la fecha, la mayoría de los estudios realizados sobre las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales se han centrado en microorganismos patógenos para el hombre, así como en aquellos presentes en los alimentos, por su implicancia en intoxicaciones alimentarias o por su capacidad de alterar las propiedades organolépticas y de conservación de los alimentos. Diversos estudios determinan que los aceites procedentes de: clavo, canela, mostaza, orégano, romero y tomillo son los que poseen actividad antimicrobiana más acentuada (Burt, 2004).

A pesar de que la información literaria disponible para la elaboración de películas comestibles es amplia, no hay especificaciones estables para cada producto, lo que implica realizar varias investigaciones para desarrollar recubrimientos y películas para cada alimento.

1.1. Justificación

La preservación de los alimentos es de vital importancia, por ello es necesario implementar el desarrollo de nuevas metodologías de conservación con el fin de obtener alimentos inocuos, mejorando sus características físicas, nutricionales y organolépticas, que cumplan con las demandas del consumidor.

Entre los métodos para la conservación de alimentos surgen alternativas como el empleo de películas o recubrimientos comestibles, por ello es indispensable investigar el efecto de las concentraciones de los ingredientes para el desarrollo de la biopelícula, con el fin de desarrollar una película con mejores características para la conservación de los alimentos.

Por otro lado, las películas comestibles no contaminan ya que están compuestas por sustancias biodegradables naturales. Por lo tanto, contribuyen a la protección del medio ambiente.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general:

Investigar el efecto de la concentración del biopolímero (carragenina: 1.0, 1.5 y 2.0%, w/v) y la concentración de cera de abeja, con aceite esencial de clavo sobre algunas propiedades físicas y ópticas de la biopelícula elaborada a base de carragenina.

1.2.2. Objetivos específicos:

- Desarrollar las formulaciones de las películas utilizando 1.0, 1.5 y 2.0 %, w/v, del biopolímero, con plastificante (glicerol), utilizando la misma concentración de cera de abeja (10%, w/v), diferentes concentraciones de aceite de clavo como antimicrobiano y tween 80 (2%, v/v).
- Analizar las características ópticas y de barrera de las diferentes formulaciones (color, porcentaje de humedad, porcentaje de solubilidad, grosor y permeabilidad al agua a 75%, 85% y 100% de humedad relativa) de cada formulación.

1.3. Hipótesis:

La concentración de los componentes de la biopelícula influye en las propiedades físicas y ópticas de la biopelícula funcional a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.

Las películas desarrolladas presentan buenas características para la aplicación en alimentos.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Películas Comestibles

Los recubrimientos y las películas han sido usados por muchas décadas para proteger a los alimentos del ataque microbiológico y para prevenir la pérdida de agua durante el almacenamiento. El gran interés que han mostrado los consumidores de generación en generación por la calidad de los alimentos que están consumiendo ha intensificado la investigación en esta área. El desarrollo de envases sintéticos se justifica debido a su eficiencia para reducir la transferencia de masa entre el alimento y el medio donde se encuentra almacenado, para esto ha sido necesaria la determinación de la permeabilidad. El constante mejoramiento de los envases sintéticos, tales como la resina, celulosa y películas plásticas, han permitido el uso del copolímero y/o envases de películas multilaminados, los que son capaces de reducir en forma selectiva la transferencia tanto de gases como de solutos (Debeaufort *et al.*, 1998).

La combinación de envases sintéticos y películas comestibles fue propuesta para así incrementar la eficiencia en la preservación de la calidad de los alimentos en el envasado. Por otro lado, las películas comestibles no contaminan ya que están compuestas por sustancias biodegradables naturales. Por lo tanto, contribuyen a la protección del medio ambiente (Debeaufort *et al.*, 1998).

Muchas materias primas de origen biológico, incluyendo polisacáridos, proteínas, y lípidos, solos o en mezclas, han sido propuestas para la preparación de películas comestibles o recubrimientos (Viroben *et al.*, 2000).

Los polisacáridos (almidón, carragenatos, pectina, quitosano), son capaces de formar una matriz estructural, algunos de estos también funcionan como plastificantes y en cuanto a la permeabilidad, las películas elaboradas con polisacáridos generalmente presentan buenas barreras a la humedad y propiedades mecánicas moderadas. Las proteínas (colágeno, gelatina, gluten de trigo, aislados proteicos de soya, proteínas de la leche), presentan barreras más débiles que los polisacáridos al vapor de agua pero por otro lado desarrollan muy

buenas propiedades de barrera al oxígeno y propiedades mecánicas que son muy favorables para recubrir alimentos, los lípidos (acetoglicéridos, ceras, surfactantes) son de gran ayuda para proteger al alimento (Villamán Diéguez, 2007).

Algunos estudios recientes se han enfocado en optimizar las condiciones bajo las cuales se elaboran las películas, para así mejorar sus propiedades mecánicas (deformación, resistencia a la ruptura, adhesividad) y de barrera. Para las aplicaciones tanto de envasado como de recubrimiento, el control de la permeabilidad al agua y al gas (oxígeno y dióxido de carbono) ha sido una característica que tiene mucha influencia en la estabilidad de los alimentos durante el almacenamiento (Viroben, *et al.*, 2000).

Siendo las recién mencionadas unas de las principales propiedades con las que debe cumplir una película o recubrimiento, existen otras características funcionales de suma importancia con las que también debiera cumplir este tipo de envase tales como; características sensoriales aceptables, estabilidad microbiológica, bioquímica y fisicoquímica adecuadas, que sea inocua, que sea un buen medio para la adición de distintos aditivos (antioxidantes, saborizantes, colorantes) si fuese necesario. Y en lo técnico-económico, que las materias primas sean de bajo costo y que su tecnología de elaboración sea simple, entre otros.

2.2. Definición de recubrimiento

Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz transparente continua, comestible y delgada, que se estructura alrededor de un alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento con el fin de preservar su calidad y servir de empaque (Vasconez *et al.*, 2009).

2.3. Definición de película comestible

Una película comestible (PC) es una matriz preformada, obtenida por moldeo, cuyo espesor es siempre es mayor al de los RC (Del Valle *et al.*, 2005). Dichas soluciones formadoras de la película o recubrimiento pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de éstos. A pesar de sus diferencias, ambas proceden de igual manera

frente a diversas sustancias que actúan sobre el alimento como barrera frente al transporte de gases y vapor de agua durante su conservación (Vasconez *et al.*, 2009).

La PC es un material de envoltura (empaque) delgado empleado en la industria de alimentos y que puede ser consumido como parte del mismo, debido a que proviene de polímeros biodegradables, no tóxicos y que ayudan a incrementar la calidad de los alimentos durante su conservación (Sánchez González *et al.*, 2011). Según (Falguera *et al.*, 2011) las películas y recubrimientos deben presentar ciertas exigencias funcionales que permitan controlar o aminorar las causas de alteración de los alimentos a recubrir, algunas de estas ventajas y propiedades son:

- Ser libres de tóxicos y seguros para la salud.
- Deben requerir una tecnología simple para su elaboración.
- Ser protectores de la acción física, química y mecánica.
- Presentan propiedades sensoriales: deben ser transparentes y no ser detectados durante su consumo.
- Mejoran las propiedades mecánicas y preservan la textura.
- Prolongan la vida útil de alimentos a través del control sobre el desarrollo de microorganismos.
- Pueden regular distintas condiciones de interface o superficiales del alimento, a través del agregado de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos y nutrientes.
- Presentan propiedades de barrera como transferencia de distintas sustancias, adecuada permeabilidad al vapor de agua, solutos y una permeabilidad selectiva a gases y volátiles, desde el alimento hacia el exterior y viceversa.

Guilbert y Biquet (1986) mencionan algunas de las ventajas de utilizar (PC):

- Pueden ser ingeridas por el consumidor.
- Su costo es generalmente bajo.

- Su uso reduce los desechos y la contaminación ambiental.
- Pueden mejorar las propiedades organolépticas, mecánicas y nutricionales de los alimentos.
- Proporcionan protección individual a pequeñas porciones de alimento.
- Pueden ser usadas en alimentos heterogéneos como barrera entre los componentes.

Dichos recubrimientos al controlar transferencia de humedad, gases, y compuestos volátiles, han demostrado la capacidad de mejorar la integridad y la calidad de los alimentos, además de prolongar su vida de almacenamiento. Sin embargo; al recubrir un fruto u hortaliza para retardar la pérdida de humedad, es necesario que exista una cierta permeabilidad al oxígeno y dióxido de carbono para evitar una respiración anaeróbica que podría inducir desórdenes fisiológicos y una pérdida rápida de la calidad y vida de anaquel en los mismos. También, las PC y RC pueden admitir y transportar ingredientes funcionales tales como antioxidantes, antimicrobianos, nutrimentos, sabores y colorantes para destacar la calidad, funcionalidad y seguridad de los alimentos, siendo esta actualmente una de las características más importantes en el uso de cubiertas (Falguera *et al.*, 2011).

2.3.1. Composición de películas y recubrimientos comestibles

Las PC y RC pueden ser elaborados a partir de una gran variedad de polisacáridos, proteínas y lípidos, solos o en combinaciones que logren aprovechar las ventajas de cada grupo, dichas formulaciones pueden incluir, conjuntamente plastificantes y emulsificantes que se utilizan de diversa naturaleza química con la finalidad de ayudar a mejorar las propiedades finales de la película o recubrimiento. Las mismas presentan bondades como comestibilidad, dureza, transparencia, buenas propiedades de barreras contra el oxígeno y vapor de agua (Ribeiro *et al.*, 2007).

Los polisacáridos y las proteínas son polímeros que forman redes moleculares cohesionadas por una alta interacción entre sus moléculas, estas les confiere buenas propiedades mecánicas y de barrera a gases (O₂ y CO₂), por lo cual

retardan respiración y envejecimiento de muchas frutas y hortalizas. Los polisacáridos son los hidrocoloides más utilizados en la industria alimenticia, ya que forman parte de la mayoría de las formulaciones que actualmente existen en el mercado. Sin embargo; una desventaja que presentan es que son hidronímicos y por lo tanto, constituyen una pobre barrera a la pérdida de humedad. Los utilizados en la formación de recubrimientos comestibles son: las pectinas de alto y bajo metoxilo, la celulosa y sus derivados, el alginato, el quitosano, la dextrina, el carragenato, y las goma arábica, entre otros (Krochta y Mulder Johnston, 1997).

Los lípidos se caracterizan por ser hidrofóbicos y no poliméricos, presentando excelentes propiedades de barrera frente a la humedad, sin embargo, su falta de cohesividad e integridad estructural hace que presenten malas propiedades mecánicas formando recubrimientos quebradizos; sin embargo, reducen la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y pueden mejorar el brillo y la apariencia de muchos de los alimentos. Dentro del grupo de lípidos aplicados a recubrimientos y películas comestibles se pueden mencionar las ceras (abejas, candelilla y carnauba), resinas, monoglicéridos, diglicéridos y los ácidos grasos tales como el ácido esteárico, palmítico, láurico y oleico, entre otros (Kester y Fennema, 1986).

Otros componentes de gran importancia en la elaboración de PC y RC son los plastificantes y emulsificantes. En el caso particular de los plastificantes (moléculas pequeñas de bajo peso molecular), se adicionan con el objetivo de mejorar la flexibilidad y funcionabilidad de los recubrimientos, haciéndolos menos frágiles. Dentro de los agentes plastificantes más utilizados se encuentran: el glicerol, ácidos grasos, sorbitol, aceites, ceras y otros, mientras que, los emulsificantes favorecen la dispersión del lípido en la matriz hidrocoloide y reducen la actividad de agua superficial, además también se emplea la adición de antioxidantes a fin de mejorar las propiedades y la capacidad de las cubiertas, (Aguilar, 2005).

2.4. Propiedades físicas de los recubrimientos

2.4.1. Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se define como la velocidad de transmisión de vapor de agua por unidad de superficie de una área plana y por unidad de espesor, inducida por unidad de diferencia de presión de vapor entre dos superficies específicas a una temperatura y condiciones de humedad específicas (ASTM, 1995).

2.4.2. Color

Muy a menudo, el primer juicio sobre la calidad de un alimento depende de sus diversas características organolépticas tales como el color, la estructura de superficie y la forma. El color, en particular, es un importante atributo sensorial. Se puede definir como una percepción visual que se genera en el cerebro al interpretar las señales nerviosas que le envían los fotorreceptores de la retina del ojo y que a su vez interpretan y distinguen las distintas longitudes de onda que captan de la parte visible del espectro electromagnético (MacDougall, 2001).

El espectrofotómetro de reflectancia trabaja midiendo la proporción de la luz reflejada de una muestra respecto a la de una referencia conocida. Se toman medidas, a través de una esfera de integración en muchos puntos en toda la gama visible del espectro electromagnético, es decir, entre 380nm y 700nm. La reflectancia es calculada por medio de la relación de proporción y viene expresada como porcentaje. Por lo tanto, lo que refleja un difusor perfecto tendrá una reflectancia del 100 %. Durante el análisis de medidas, sin embargo, la reflectancia generalmente se expresa como una fracción. Un mosaico blanco ideal, tiene un valor de 1. Por el contrario, una muestra negra, que absorbe toda la luz incidente, tendrá una reflectancia de 0 % (Brimelow y Joshi, 2001).

Las películas que contienen monosacáridos como fructosa, manosa y glucosa, son de color amarillo, con el grado de color dependiendo de la concentración de los azúcares usada (Zhang y Han, 2006).

2.4.3. Transparencia y opacidad

La transparencia u opacidad y el brillo, se encuentran entre las propiedades ópticas más importantes a la hora de evaluar el impacto directo sobre la apreciación del color y aspecto de un producto recubierto (Hutchings, 1999).

Un material presenta transparencia cuando deja pasar fácilmente la luz. La transparencia es una propiedad óptica de la materia, que tiene diversos grados. Se dice, en cambio, que un material es translúcido cuando deja pasar la luz de manera que las formas se hacen irreconocibles (no se observan nítidamente los objetos), y que es opaco cuando no deja pasar apreciablemente la luz.

Generalmente, se dice que un material es transparente cuando es transparente a la luz visible. Para aplicaciones técnicas, se estudia la transparencia u opacidad a la radiación infrarroja, a la luz ultravioleta, a los rayos X, a los rayos gamma u otros tipos de radiación.

Según la mecánica cuántica, un material será transparente a cierta longitud de onda cuando en su esquema de niveles de energía no haya ninguna diferencia de energía que corresponda con esa longitud de onda.

La transparencia se cuantifica como transmitancia, porcentaje de intensidad lumínica que atraviesa la muestra. Para esto se utiliza un colorímetro o un espectrofotómetro.

2.4.4. Solubilidad

La solubilidad es la medida o magnitud que indica la cantidad máxima de soluto que puede disolverse en una cantidad determinada de solvente, a una temperatura dada.

Esta propiedad es de gran importancia para determinar la funcionalidad de la película comestible.

La resistencia al agua de películas comestibles portadoras de antimicrobianos es deseable para mantener la integridad de la película si la misma debe utilizarse para la conservación de alimentos de humedad intermedia a alta (Ozdemir, M.,

Floros, 2007). Una película antimicrobiana con pobre resistencia al agua se disuelve rápidamente en contacto con altos contenidos de humedad, determinando que la película libere el agente antimicrobiano (Ozdemir, M., Floros, 2007). Sin embargo, estas coberturas podrían utilizarse en alimento listos para consumir donde es deseable un alto porcentaje de solubilidad en la boca.

Famá *et al.*, (2007), estudiaron la influencia del agregado de polvo de ajo en recubrimientos biodegradables a base de almidón de mandioca, observando que el agregado de ajo modifica las propiedades fisicoquímicas de las películas, conduciendo a aumentos en la permeabilidad al vapor de agua y solubilidad en agua, sin que se obtengan diferencias significativas en el contenido de humedad.

Baruk (2008) estudió la solubilidad en agua de películas elaboradas con almidón modificado de plátano y con quitosano a temperaturas de 25°C y 80°C. A 25°C se obtuvieron valores menores en comparación con los obtenidos a 80°C, evidenciando así el efecto de la temperatura en la solubilidad.

2.5. Películas de carragenina

Las carrageninas son polímeros obtenidos de varias algas marinas; son solubles en agua y tienen una cadena lineal de galactanos parcialmente sulfatados. Las carrageninas se clasifican en tres grupos, kappa (K), iota (ι) y lambda (λ), dependiendo de la posición y el número de grupos sulfatados. Las carrageninas K, ι y λ tienen grupos sulfatados de 20%, 33% y 41% (p/p), respectivamente.

La carragenina ι (Fig. 1) tiene la capacidad de producir geles termorreversibles al ser enfriada por debajo de cierta temperatura. Por tal efecto, dicha carragenina es usada ampliamente para la formación de películas en el área de alimentos (Karbowski *et al.*, 2006).



Figura 1. Carragenina

La superficie que se obtiene al formar películas de carragenina es porosa, lo que puede provocar puntos débiles que disminuyen la fuerza tensil. En un estudio realizado por Briones *et al.*, (2004), se observó que las películas de carragenina al 5% sin plastificante presentaron menor elongación (106%) y mayor dureza (fuerza tensil 3.87 kg mm^{-2}) en comparación con las películas adicionadas con glicerol al 5% que presentaron menor dureza (1.3 kg mm^{-2}) y mayor flexibilidad (156.8%).

Las películas producidas con carragenina y glicerol muestran ventajas interesantes, tales como reducción de transferencia de oxígeno y buenas propiedades mecánicas. La adición de lípidos a la formulación de películas de dicho polisacárido disminuye la permeabilidad al vapor de agua de la película resultante. Las películas formadas con la combinación de carragenina y lípidos son una opción interesante para la encapsulación de sustancias activas, como por ejemplo agentes antimicrobianos (Hambleton *et al.*, 2008; Campos *et al.*, 2011).

2.6. Los plastificantes y el glicerol

Además del componente de naturaleza polimérica y de alto peso molecular (matriz), otro componente importante de las películas comestibles son los plastificantes. Estos son moléculas pequeñas de bajo peso molecular, de baja volatilidad y con una naturaleza química similar a la del polímero formador de recubrimiento. Se usan para mejorar la flexibilidad y la funcionalidad de los recubrimientos.

Generalmente se requieren plastificantes como el glicerol en las formulaciones a base de polisacáridos y de proteínas, para aumentar la flexibilidad de los recubrimientos al aumentar el volumen libre o la movilidad molecular de los polímeros ya que reducen los enlaces hidrógeno internos entre las cadenas de polímeros. Los plastificantes afectan la capacidad de atracción de agua del sistema y generalmente suelen aumentar la permeabilidad al oxígeno de los recubrimientos comestibles (McHugh y Krochta, 1994).

Dentro de los agentes plastificantes utilizados más frecuentemente se encuentran:

Glicerol, polietilenglicol, sorbitol, aceites, ácidos grasos, ceras, etc., siendo el glicerol uno de los más utilizados.

El glicerol es un compuesto químico, también llamado glicerina. Es un líquido viscoso, sin olor ni color y ampliamente usado en la industria farmacéutica. El glicerol posee tres grupos hidroxilos que son responsables de su solubilidad en agua y su naturaleza higroscópica. Es el componente central de algunos lípidos. El glicerol es ligeramente dulce y de baja toxicidad.

2.6.1. Estructura molecular del glicerol

Gracias a la presencia de grupos –OH en su estructura, el glicerol es capaz de vincularse a través de puentes de hidrógeno con las cadenas de almidón, impidiendo el completo ordenamiento de las mismas debido a que se interpone entre éstas. El efecto global del reemplazo de interacciones polímero-polímero por interacciones plastificante polímero es la reducción de la rigidez de las películas. El tamaño molecular, la configuración y el número total de grupos hidroxilo funcionales del plastificante, como así también su compatibilidad con el polímero, afectan el tipo y cantidad de interacciones entre el plastificante y las cadenas poliméricas (Yang y Paulson, 2000).

2.7. Ceras

Las ceras comestibles son significativamente más resistentes al transporte de humedad que la mayoría de películas de otros lípidos o no lípidos. Las ceras son más efectivas en el bloqueo de la migración de humedad, siendo la parafina la más resistente, seguida por la cera de abejas.

Las coberturas de cera se pueden usar para el mantenimiento de altas concentraciones de conservantes en la superficie de los productos alimenticios (Romero López., 2014).

Las coberturas de cera tradicionalmente se han aplicado a frutos y vegetales frescos para prolongar períodos de almacenaje en la postcosecha.

La aplicación de una capa de lípidos como suplemento en la superficie de frutas reemplaza las ceras naturales de la cutícula, las cuales pueden haber sido

parcialmente removidas durante el lavado. Las ceras que se aplican a productos perecederos frescos para retardar la desecación son: cera de abejas, cera carnauba, cera candelilla y cera de salvado de arroz.

Es importante que las coberturas de ceras en frutos frescos o perecederos no sean totalmente impermeables, lo cual ocasiona la anaerobiosis favoreciendo los desórdenes fisiológicos que acortan la vida media (Romero López, 2014).

2.8. Aceites esenciales

La aplicación de aceites esenciales de plantas y especias en distintos campos tales como gastronomía, medicina y en la industria de los alimentos es numerosa. El clavo de olor *Syzygium aromaticum*, es una especia ampliamente usada y conocida. Su aceite esencial y extractos han sido analizados y caracterizados debido a que han demostrado tener amplio espectro de acción contra una gran variedad de microorganismos causantes de distintos padecimientos que afectan a humanos, animales y plantas (Aguilar Gonzáles et al, 2013).

2.8.1. Aceites esenciales de plantas aromáticas como novedosos agentes anticancerígenos y antioxidantes en líneas celulares de cáncer humano.

Ramadán *et al* (2015) estudiaron la citotoxicidad y la acción anticancerígena in vitro de aceites esenciales de tomillo, enebro y clavo, fueron evaluadas en cinco líneas celulares de cáncer humano (hígado HepG2, mama MCF-7, próstata PC3, colon HCT116 y pulmón A549). Los análisis de GC/MS mostraron que α -pineno, timol y eugenol son los principales componentes de los aceites de enebro, tomillo y clavo, con concentraciones de 31,19%, 79,15% y 82,71%, respectivamente. Se demuestra, mediante ensayos in vitro de blanqueo de DPPH y β -caroteno, el enérgico perfil antioxidante de todos los aceites. Los resultados mostraron que el aceite de clavo fue similar de potente al fármaco de referencia, doxorubicina en las líneas celulares de próstata, colon y pulmón. El aceite de tomillo fue más efectivo que la doxorubicina en las líneas celulares de mama y de pulmón, mientras que el aceite de enebro fue más eficaz que la doxorubicina en todas las líneas celulares de cánceres ensayados, excepto en la de cáncer de próstata.

Los aceites esenciales de plantas aromáticas se pueden utilizar como buenos candidatos para nuevas estrategias terapéuticas para el cáncer al poseer una significativa actividad anticancerígena (Ramadán *et al*, 2015).

2.9. Generalidades del clavo de olor *Syzygium aromaticum*

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllata*) es una especie perteneciente a la familia *Myrtaceae*, la cual se caracteriza por habitar en ambientes principalmente tropicales (Singh *et al*, 2012; Moura *et al.*, 2012). Es originaria de Indonesia, y actualmente se cultiva en Brasil, Haití, India, Kenia, Madagascar, Malasia, Mauricio, México, Seychelles, Sri Lanka, Tanzania, entre muchos otros países. Crece en suelos ricos en humus arcillosos, así como en suelos lateríticos (propios de las regiones cálidas, pobres en sílice y altos en hierro y alúmina), profundos y sueltos (Orwa *et al.*, 2009).

Se obtiene de un árbol perenne que florece dos veces al año. Los botones florales tienen inicialmente un color pálido que poco a poco se convierte en verde para después tornar a un color rojo o marrón oscuro (Singh *et al.*, 2012). Los clavos, son los capullos sin abrir y se cosechan cuando las hojas verdes externas (cáliz) han cambiado de color verde a un amarillo-rosa (Pandey y Singh, 2011). Los tallos, las hojas y los botones sin abrir son las partes de esta especie que se utilizan principalmente para la extracción de aceite esencial (Srivastava *et al.*, 2005).

El aceite de clavo de olor ha sido ampliamente investigado debido a su popularidad, vasta disponibilidad y alto rendimiento. De hecho, el aceite de esta especie, ha sido considerado por sus propiedades medicinales, como estimulante contra trastornos digestivos y diarrea, según la información proporcionada por Machado *et al.*, (2011). Además, con base en lo que citan Moura *et al.*, (2012), posee variados efectos dentro de las que destacan el antiséptico, analgésico, antibacteriano, antifúngico, anestésico y antimutagénico. De acuerdo a Pandey y Singh (2011), se ha reportado que los brotes o botones de *S. aromaticum* también se utilizan en la medicina popular como diurético, en odontología como antiséptico,

como cardiotónico y como condimento con actividad carminativa. Se ha utilizado para el tratamiento de asma y diversos trastornos alérgicos en Corea (Park *et al.*, 2007). De igual manera, Ahmed (2011), al saber que los antibióticos se pueden utilizar como promotores del crecimiento en animales, desarrolló un estudio en pollos empleando aceite esencial de *S. aromaticum* como alternativa natural para estimular el crecimiento en estos animales. De este estudio se reportó que los pollos tratados con aceite de clavo tuvieron un aumento en peso corporal con respecto a los controles y a los tratados con antibióticos, al adicionar a la dieta una dosis de hasta 600 mg /kg por día.

Cabe mencionar que el aceite de *S. aromaticum* también ha demostrado poseer actividad antioxidante, tal como lo destacan Silvestri *et al.*, (2010), quienes se basaron en la medida de la desaparición de la absorción del radical 2,2-difenil-1-picrilo hidracilo (dpph). Los resultados muestran que el porcentaje antioxidante del aceite esencial de clavo aumentó proporcionalmente a la concentración de aceite añadido, alcanzando un máximo con una concentración de 10,000 µg/mL, por lo que concluyen que este aceite puede ser considerado como una alternativa de antioxidante para la formulación de nuevos productos alimenticios.

Por último, se ha encontrado que el aceite de clavo también posee efecto repelente contra especies de insectos como el mosquito de la fiebre amarilla (*Aedes aegypti*), el mosquito vector de filariasis (*Culex quinquefasciatus*) y el mosquito vector de malaria (*Anopheles dirus*). Esta actividad fue confirmada en el trabajo realizado por Phasomkusolsil y Soonwera (2011) donde se prepararon soluciones de extracto de diferentes especias con aceite de soya en concentraciones de 1%, 5% y 10%, para después exponer a los insectos y así evaluar el efecto de dichas soluciones. En este caso, *C. quinquefasciatus* y *A. dirus* resultaron ser consideradas sensibles a la solución al 10% de *S. aromaticum*. Por otro lado, *A. aegypti* mostró resistencia a todas las concentraciones probadas, (Nerio, Olivero Verbel *et al.*, 2010).

Acorde a los estudios señalados, existe un particular interés en evaluar la actividad antimicrobiana de extractos y aceite esencial de clavo de olor, de tal

manera que pudieran ser empleados en la industria de alimentos como alternativas a agentes antimicrobianos tradicionales.

2.9.1. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y extractos de clavo

Los componentes activos de las especias que tienen actividad antimicrobiana son en su mayoría metabolitos secundarios como alcaloides, glucósidos, entre otros (Pandey y Singh, 2011).

Se atribuye que la actividad antimicrobiana del aceite esencial de clavo se debe a los compuestos fenólicos que contiene, así a mayor cantidad de compuestos fenólicos en el aceite esencial la actividad antimicrobiana será mayor (Rahnama *et al.*, 2012). Dicho efecto es explicado por Nonsee *et al.*, (2011). Afirmando que estos compuestos pueden desnaturalizar a las proteínas y al mismo tiempo reaccionan con los fosfolípidos de la membrana celular, cambiando así su permeabilidad y produciendo la muerte microbiana (Nonsee *et al.*, 2011).

2.9.2. Actividad antibacteriana

Gupta, *et al.*, (2009) condujeron un estudio para analizar comparativamente las actividades antimicrobianas tanto del aceite, como del extracto etanólico de *S. aromaticum*. En esta investigación, los microorganismos estudiados fueron *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* Y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados obtenidos mostraron que el extracto etanólico fue efectivo contra casi la totalidad de los microorganismos estudiados, siendo *S. aureus* el más sensible, al mostrar el menor valor de concentración mínima inhibitoria (CMI). Otras bacterias sensibles a esta prueba fueron *B. cereus*, *B. subtilis* y *Bacillus spp.* Para el caso del aceite esencial, destacan que tuvo efecto contra casi todas las bacterias, además, el menor valor de CMI, en este caso, se obtuvo contra *S. epidermidis*. En ambos casos, no hubo efecto contra *P. aeruginosa*. Por último, apuntaron que los valores de CMI del aceite esencial obtenidos fueron mucho mayores que los del extracto.

Leonard, *et al.*, (2010) probaron otros dos aceites esenciales además de *S. aromaticum*, incluyeron el de limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y de hierbabuena (*Mentha spicata*), en este caso se evaluó la actividad antimicrobiana de los aceites contra *L. monocytogenes*, los tres aceites tuvieron efecto estimulante en el crecimiento de la biocapa de *Listeria*, contrario al efecto inhibidor encontrado cuando se evaluó la combinación de éstos, por lo que los autores explicaron que este efecto probablemente se debió a la sinergia entre los componentes de cada aceite esencial.

Otros microorganismos afectados por extractos de *S. aromaticum* incluyen a *E. coli*, *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus* y *Proteus vulgaris*, tal como se comprobó en el trabajo realizado por Sethiet *al.*, (2013), en donde se utilizó el extracto metanólico de esta especie, el cual inhibió el crecimiento de las bacterias mencionadas. Esta actividad inhibitoria fue mejor en comparación con el resto de extractos metanólicos de las 7 especies incluidas en la investigación: jengibre (*Zingiber officinale*), ajo (*Allium sativum*), comino (*Cuminum cyminum*), mostaza (*Brassica juncea*), grosella espinosa india (*Emblica officinalis*), sábila (*Aloe vera L.*) y azafrán (*Crocus sativus*).

2.9.3. Actividad antifúngica

La actividad antifúngica del aceite esencial de *S. aromaticum* abarca diversas especies de hongos y levaduras, por ejemplo: especies de *Candida* (principalmente *Candida albicans*), *Cryptococcus neoformans*, especies de *Aspergillus*, hongos aislados de *Onychomycosis* (infección de uñas), *Saccharomyces cerevisiae* y varios dermatofitos, esta actividad se debe principalmente al eugenol que contiene este aceite (Rana *et al.*, 2011).

Omidbeygiet *al.*, (2007) probaron la actividad antifúngica de tres aceites esenciales: de tomillo (*Thymus vulgaris*), de ajedrea (*Satureja hortensis*) y clavo, contra *Aspergillus flavus*. Los resultados *in vitro* mostraron que el aceite esencial de tomillo tuvo la mayor actividad antifúngica, seguido de ajedrea y aceite esencial de clavo de olor. La inhibición completa del crecimiento del moho se observó con

350 y 500 ppm de tomillo y ajedrea, respectivamente; mientras que el porcentaje de inhibición con el aceite de clavo fue de 87.5% con 500 ppm.

Esta actividad antifúngica del aceite esencial de clavo, no sólo se ha probado in vitro, también ha sido estudiada en alimentos, con el fin de probar su eficacia como conservador o antimicrobiano, por ejemplo, Omidbeygi *et al.*, (2007) emplearon los aceites de tomillo, ajedrea o clavo en pasta de tomate; los resultados de inhibición después de la adición de 500 ppm de cada aceite fueron 87%, 59% y 48% para tomillo, ajedrea y clavo, respectivamente. Seetha y Naidu, (2010) inocularon tomates y frutos de grosella con esporas de cepas de *Aspergillus*, *Mucor* y *Rhizopus* por el método de punción, tanto antes como después del tratamiento con aceite esencial de clavo, eucalipto o limón. De los tres aceites esenciales probados, el aceite de clavo mostró considerablemente más actividad frente a las cepas de mohos.

Hassani *et al.*, (2011) condujeron experimentaciones con diversos aceites esenciales (además de *S. aromaticum*) aplicados por atomización para controlar el crecimiento de mohos en chabacano (*Prunus armeniaca*) inoculado con *Monilinia frutícola* y *Botrytis cinérea*, durante el almacenamiento postcosecha. En este caso, se redujeron tanto la incidencia como la severidad de la infección de las frutas tratadas al adicionar los aceites esenciales en comparación con los controles, además la máxima actividad antifúngica se obtuvo a concentraciones de 600 µL/L en todos los aceites; sin embargo, la eficacia del aceite de clavo en la reducción de la incidencia en los chabacanos inoculados con *B. cinérea*, fue mayor que la de los otros aceites.

2.10. Formación de películas comestibles

La primera entapa en la elaboración de películas comestibles es la disolución de material (biopolímero) correctamente en algún disolvente como agua, alcohol, soluciones de ácidos diluidos, o mezclas de disolventes; el material debe quedar dispersado. En algunos casos, es necesario calentar o ajustar el pH de la suspensión que contiene el biopolímero con el fin de disolver la macromolécula.

La segunda etapa consiste en adicionar una sustancia con propiedades plastificantes. Ésta proporcionará al recubrimiento un buen comportamiento mecánico en términos de flexibilidad y resistencia a la rotura, reduciendo la fragilidad. El plastificante más utilizado es el glicerol debido a su mayor estabilidad con las cadenas biopoliméricas hidrófilas en comparación con el sorbitol, polietilenglicol y azúcares. El plastificante se asocia fisicoquímicamente con la estructura del biopolímero reduciéndola cohesión e interfiriendo con la asociación de las cadenas poliméricas facilitando se deslizamiento por lo que aumenta la flexibilidad del recubrimiento. Una vez dispersados los biopolímeros, adicionado el plastificante, es posible añadir otras sustancias como antimicrobianos, antioxidantes a la solución formadora de película, con el fin de conseguir alguna propiedad funcional deseada (Abdollahi *et al*, 2012).

La tercera etapa consiste en la eliminación del disolvente en exceso, por lo cual se debe realizar un proceso de secado controlado. La velocidad de secado y las condiciones ambientales determinarán el espesor final y las características estructurales del recubrimiento (Campos *et al.*, 2001).

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Metodología

La parte experimental del presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Alimentos I del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coahuila.

3.1.1 Etapa experimental

Elaboración de biopelícula funcional a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.

3.1.2. Preparación de la formulación

Se realizó la formulación de la biopelícula colocando 100 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 250 mL con un magneto sobre la placa de calentamiento a una temperatura de 50°C a 60°C, se agregaron los porcentajes necesarios para cada formulación, glicerol (20%), tween 80 (2%), aceite esencial de clavo (10%,20%, 30%), cera de abeja (1%), carragenina (1%, 1.5%, 2%), se dejó mezclar, cuando la mezcla fue homogénea se detuvo la agitación y el calentamiento (Fig. 2), se vaciaron 20 mL en cada molde.



Figura 2. Preparación de la formulación.

Cuadro 1. Formulaciones de la biopelícula comestible.

Formulación	Carragenina %	Glicerol %	Tween - 80 %	Clavo %	Cera de abeja %
A	1	20	2	10	10
B	1	20	2	20	10
C	1	20	2	30	10
D	1.5	20	2	10	10
E	1.5	20	2	20	10
F	1.5	20	2	30	10
G	2	20	2	10	10
H	2	20	2	20	10
I	2	20	2	30	10

3.1.3. Formación de la película

Se colocaron 20 mL de la solución en cajas Petri de plástico de 10 cm de diámetro (Fig. 3), las películas fueron secadas en una estufa de secado a 60°C de 9 a 10 horas aproximadamente. Una vez secas fueron almacenadas en una caja de permeabilidad para su posterior caracterización.



Figura 3. Películas comestibles a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.

3.2. Propiedades físicas de las formulaciones

3.2.1. Medición del grosor

El grosor de las películas se determinó utilizando un micrómetro digital (Mitutoyo Manufacturing Co. Ltd., Tokyo, Japan) (Fig. 4) al azar en cuatro posiciones de la película y se calculó el promedio. Las muestras con burbujas de aire o fracturas fueron excluidas del análisis.



Figura 4. Determinación de grosor.

3.2.2. Propiedades ópticas

Cada película fue cortada en rectángulos (1 cm X 3 cm) y colocada en una celda para espectrofotómetro, las mediciones se realizaron utilizando aire como referencia. La transmitancia de las películas fue escaneada de la longitud de onda a 600 nm utilizando un espectrofotómetro Génesis 10 UV spectrophotometer (Thermo Electron Corporation, Madison, Wisconsin, USA) (Fig. 5). Las determinaciones se realizaron por duplicado y se calculó el promedio de las dos lecturas. La transparencia a 600 nm (T600) se obtuvo de la ecuación siguiente (1) (Han & Flores, 1997):

$$T_{600} = \log \%T/b \quad (\text{Ec.1})$$

Donde %T es el porcentaje de transmitancia y b es el grosor de la película (mm).

La opacidad de las películas fue calculada siguiendo la fórmula siguiente (Ec. 2) de acuerdo al método descrito por Gontard & Guilbert (1994):

$$\text{Opacidad} = \text{absorbancia a 500 nm (AU)} * \text{grosor de las películas (mm)} \quad (\text{Ec. 2})$$



Figura 5. Determinación de porcentaje de opacidad.

3.2.3. Medición de color

El color de las películas se evaluó utilizando un colorímetro (Minolta CR-400, Tokyo, Japan). Se utilizó una placa de color blanco (L=97.75, a=0.49, b=1.96, supplied by Minolta Co.) para calibrar el aparato. El sistema proporciona los valores de tres componentes de color; L* (componente negro-blanco, luminosidad) y coordenadas de cromaticidad, a* (componente +rojo a -verde) y b* (componente +amarillo a -azul). Las muestras se analizaron en 3 posiciones tomadas al azar.

3.2.4. Contenido de humedad

El contenido de humedad (CH) de cada película se determinó de acuerdo al método reportado por Mei & Zhao (2003). Las películas se cortaron en cuadros de 2 cm x 2 cm. Las piezas se colocaron en recipientes de aluminio que previamente estaban a peso constante. Las películas y los recipientes de aluminio se ubicaron en un horno de laboratorio (Qunicy Lab Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.) a 100 °C durante 24 h. Los pesos de las muestras se registraron antes y después del secado utilizando una balanza analítica (Adventurer Ohaus Corp., Pine Brook, New Jersey, U.S.A.) con una exactitud de 0.0001 g. La CH se determinó como porcentaje considerando el peso inicial de la película antes de la deshidratación y el peso de las películas después de la deshidratación (Ecuación 3). Se evaluaron tres repeticiones de cada película para obtener los valores de CH.

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = \frac{(\text{peso seco inicial} - \text{peso seco final}) * 100}{(\text{peso seco inicial})} \quad (\text{Ec.3})$$

3.2.5. Solubilidad

Siguiendo la metodología propuesta por Romero-Bastida et al. (2005) y utilizando las muestras de determinación de humedad, éstas muestras secas se colocaron en vasos de precipitados de 250 mL con 80 mL de agua destilada con agitación constante a 25 °C y 300 rpm durante 15 minutos. Después de este tiempo, las muestras se secaron durante 24 h a 60 °C hasta peso constante utilizando una balanza digital (Adventurer Ohaus Corp., Pine Brook, New Jersey, U.S.A.) (Fig. 7) con una exactitud de 0.0001 g. Para calcular los porcentajes de solubilidad se utilizó la ecuación (4).

Las muestras se analizaron por duplicado.

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{(\text{peso seco inicial} - \text{peso seco final}) * 100}{(\text{peso seco inicial})} \quad (\text{Ec.4})$$



Figura 6. Filtrado.



Figura 7. Secado de los conos.

3.2.6. Permeabilidad al vapor de agua

Se utilizó cloruro de calcio anhidro (CaCl_2 , aproximadamente 3.0 g) como desecante dentro de las celdas de permeabilidad donde se colocaron las películas (Fig. 7). La distancia entre la superficie del desecante y la película fue menos de 6 mm tal y como lo sugiere la ASTM E 96 (ASTM, 2001). El grosor de cada película se determinó con un micrómetro (Mitutoyo, Japan con una exactitud de 0.01 mm) en cinco puntos tomados al azar. Las celdas se ubicaron en desecadores a humedades relativas de 75 %, 85 % y 100% a 25 ± 1.5 °C (Labuza *et al.*, 1985). El proceso de permeabilidad al vapor de agua se evaluó por peso durante 3 h. Cuando la relación entre el peso ganado (Δw) y el tiempo (Δt) es lineal, la pendiente se utiliza para calcular la velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) y la permeabilidad al vapor de agua (WVP) (Arevalo *et al.*, 2010). La pendiente se obtiene de una regresión lineal de los pesos de las celdas con las películas. La velocidad de transmisión de vapor de agua (WVTR) se calculó de la pendiente ($\Delta w/\Delta t$) dividido por el área de prueba (A) ($\text{g (m}^2\text{)}^{-1} \text{ d}^{-1}$), con la Ecuación (5):

$$\text{WVTR} = (\Delta w/\Delta t)/A \quad (\text{Ec.5})$$

Donde $\Delta w/\Delta t$ = velocidad de transferencia, cantidad de pérdida de humedad por unidad de tiempo (g d^{-1}); A = área expuesto a la transferencia de humedad (m^2).

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se calcula con la Ecuación 6:

$$\text{WVP} = [\text{WVTR} \cdot L / \Delta p] \quad (\text{Ec.6})$$

Donde WVP es la permeabilidad al vapor de agua ($\text{g mm m}^{-2} \text{d}^{-1} \text{kPa}^{-1}$), WVTR es la velocidad de transmisión al vapor de agua ($\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$), L es el grosor de la película (mm) y Δp es la diferencia entre las presiones de vapor de agua en ambos

lados de la película (kPa) (Arévalo et al., 2010). Todas las formulaciones se evaluaron por duplicado.



Figura 8. Determinación de permeabilidad al vapor de agua.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados fue realizado por etapas, se usó un diseño completamente al azar y determinando un ANOVA para cada parámetro, se consideró que un valor $p \leq 0.05$ era estadísticamente significativo, y en caso de obtener diferencias significativas se realizó una prueba de Tukey para realizar una comparación de medias, el paquete utilizado fue el Minitab en su versión 2017.

4.2. Parámetros evaluados

En el cuadro 2, se presentan los valores promedio obtenidos de los parámetros evaluados, se puede observar que hubo diferencias significativas entre las formulaciones debido a las diferentes concentraciones del biopolímero y del aceite esencial de clavo.

Cuadro 2. Análisis de resultados de los parámetros evaluados (grosor, % humedad, % solubilidad, opacidad y transmitancia).

TRATAMIENTO	PARÁMETROS EVALUADOS				
	Grosor	% Humedad	% Solubilidad	Opacidad	Transmitancia
A	0.03483 ^c	8.514 ^b	81.67 ^{bc}	0.01488 ^b	47.09 ^a
B	0.037333 ^c	19.375 ^a	100.0 ^a	0.012370 ^b	45.340 ^a
C	0.04183 ^{bc}	5.719 ^f	97.06 ^a	0.01689 ^b	38.74 ^{ab}
D	0.06450 ^a	4.0833 ^f	95.24 ^{ab}	0.02839 ^{ab}	26.18 ^{bc}
E	0.06092 ^a	5.6205 ^f	60.00 ^{de}	0.02479 ^b	28.08 ^{bc}
F	0.05842 ^{ab}	13.068 ^c	68.586 ^{cd}	0.02608 ^{ab}	28.05 ^{bc}
G	0.06092 ^a	12.772 ^{cd}	51.47 ^e	0.026760 ^{ab}	26.431 ^{bc}
H	0.06433 ^a	10.961 ^d	67.117 ^d	0.02651 ^{ab}	26.41 ^{bc}
I	0.06450 ^a	16.333 ^b	67.82 ^{cd}	0.04428 ^a	21.82 ^c

4.2.1 Grosor

El aumento de la carragenina en el producto ocasiona que el grosor se incremente y que se tenga una diferencia significativa ($p>0.005$). Las formulaciones A, B y C presentan menor grosor a diferencia de las formulaciones restantes que tienen grosores similares entre sí (fig. 9), con esto se puede corroborar que el aumento de carragenina influye en el grosor de la película, cabe mencionar que es una película delgada a diferencia a las películas formuladas con gomas.

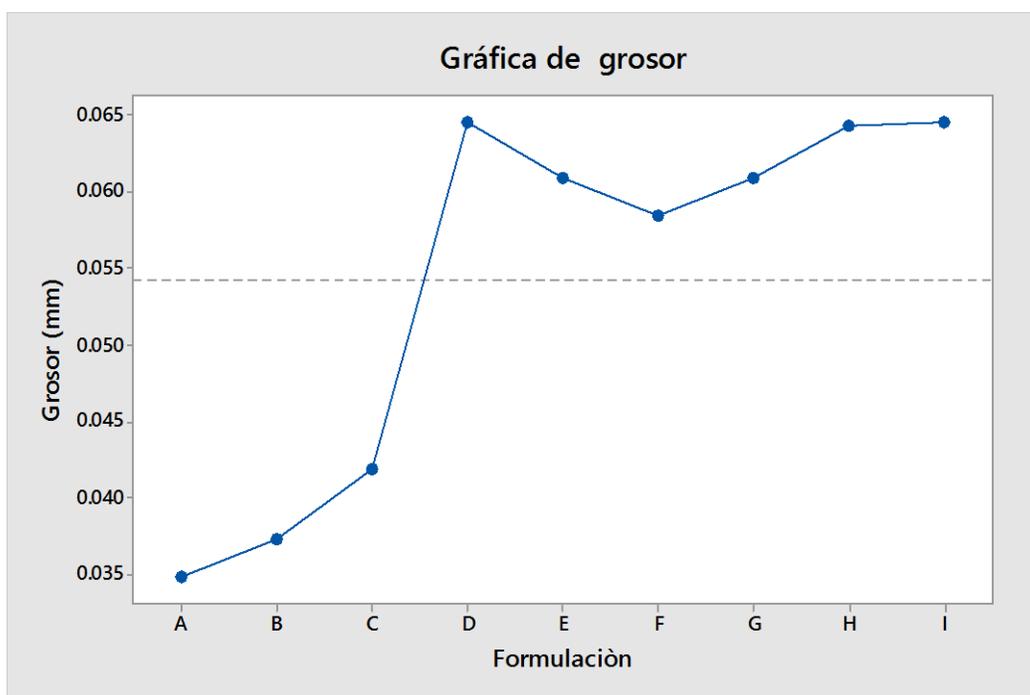


Figura 9. Comportamiento del parámetro grosor

El espesor de los recubrimientos comestibles es un parámetro importante, ya que afecta directamente las propiedades biológicas y a vida útil de la fruta cubierta. La eficacia del recubrimiento depende principalmente del control de la difusión de los componentes del revestimiento, la cual se ve afectada por el espesor de la película (Kroachta *et al.*, 1994). La mayoría de los recubrimientos comestibles son de naturaleza hidrofílica, encontrándose una relación con la permeabilidad al

vapor de agua y el espesor de las películas (Gennadios *et al.*, 1994). A medida que el espesor del recubrimiento aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través de ella, en consecuencia, la presión parcial de vapor de agua de equilibrio en la superficie inferior de la película se incrementa (McHugh, Avena Bustillos y Krochta, 1994).

4.2.2. Humedad

En la figura 10, puede observarse el resultado de la determinación de porcentaje de humedad. Existen diferencias significativas entre las formulaciones ($p > 0.000$), teniendo como resultado que la formulación B (1% de carragenina y 20% de aceite esencial de clavo) contiene mayor porcentaje de humedad a diferencia de las demás formulaciones, y la formulación D (1.5% de carragenina y 10% de aceite esencial de clavo) contiene menor porcentaje de humedad.

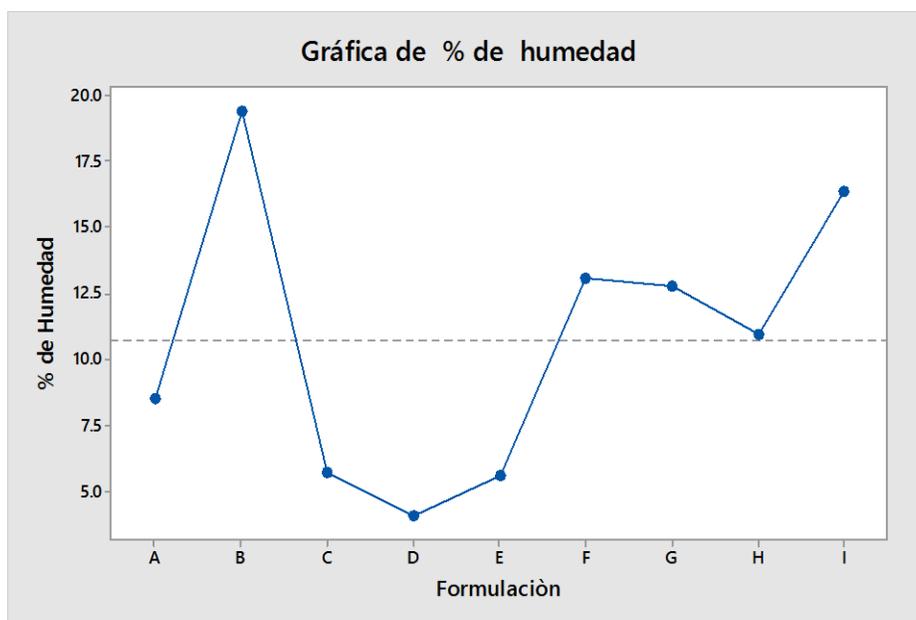


Figura 10. Gráfica de porcentaje de humedad de películas a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.

Se recomienda que las películas contengan del 5 al 10% de humedad debido a que mayores humedades aumentan la permeabilidad al vapor de agua (Coupland *et al.*, 2000).

4.2.3. Solubilidad

En este análisis existe diferencia significativa entre las formulaciones ($p > 0.000$), siendo B (1% de carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) la formulación que contiene mayor porcentaje de solubilidad (100%), y la formulación G (2% de carragenina y 10% de aceite esencia de clavo) que presenta menor porcentaje de solubilidad (51.47 %) (Fig. 11).

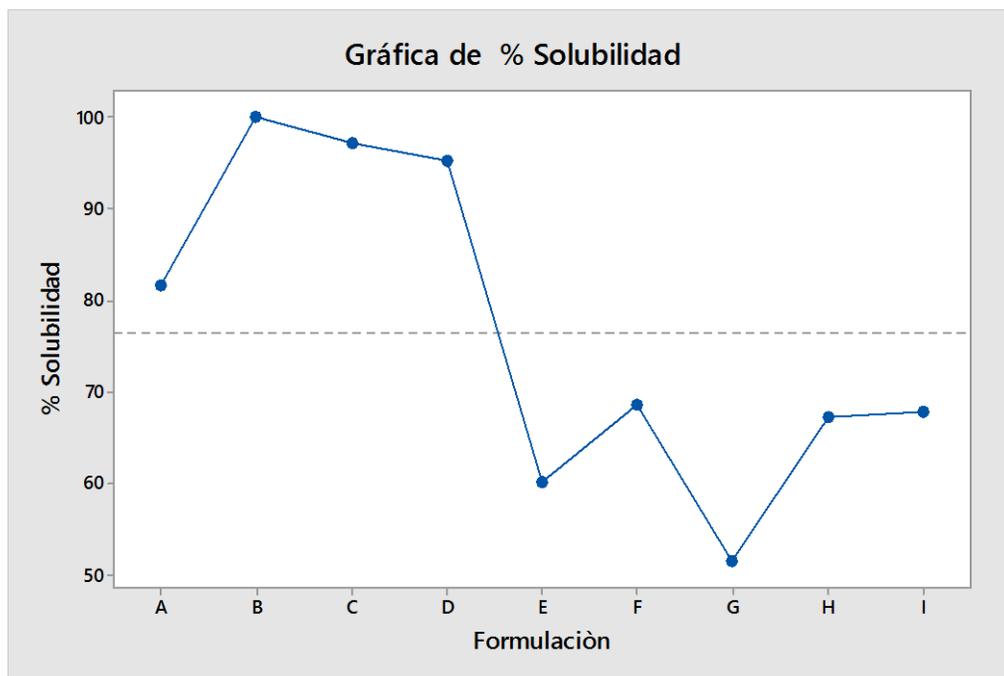


Figura 11. Gráfica de solubilidad de películas a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo.

La solubilidad es una propiedad importante que se relaciona con el uso que podrá tener la película comestible, si se desea que proporcione resistencia a la humedad

e integridad al alimento se preferirá que la película comestible sea insoluble, mientras que una película soluble se requiere sobre todo si contiene algún ingrediente específico (Pérez Gago *et al.*, 1999).

En ocasiones, la alta solubilidad en agua de los materiales es deseada, como en el caso en el que la película o el recubrimiento serán consumida simultáneamente con el alimento, es decir, cuando el material es aplicado como un matriz comestible (Sánchez Aldana *et al.*, 2015).

4.2.4 Opacidad

En el análisis de opacidad existe una diferencia significativa en los resultados ($p > 0.001$) las formulaciones A,B,C, no presentan diferencia significativa entre ellas, a diferencia con las formulaciones D,F,G,H,I que son similares entre sí. Las formulaciones A, B y C presentaron menor opacidad (A 0.01488, B 0.012370, C 0.01689), la formulación I (2% de carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) presentó mayor opacidad (0.04428), (fig. 12).

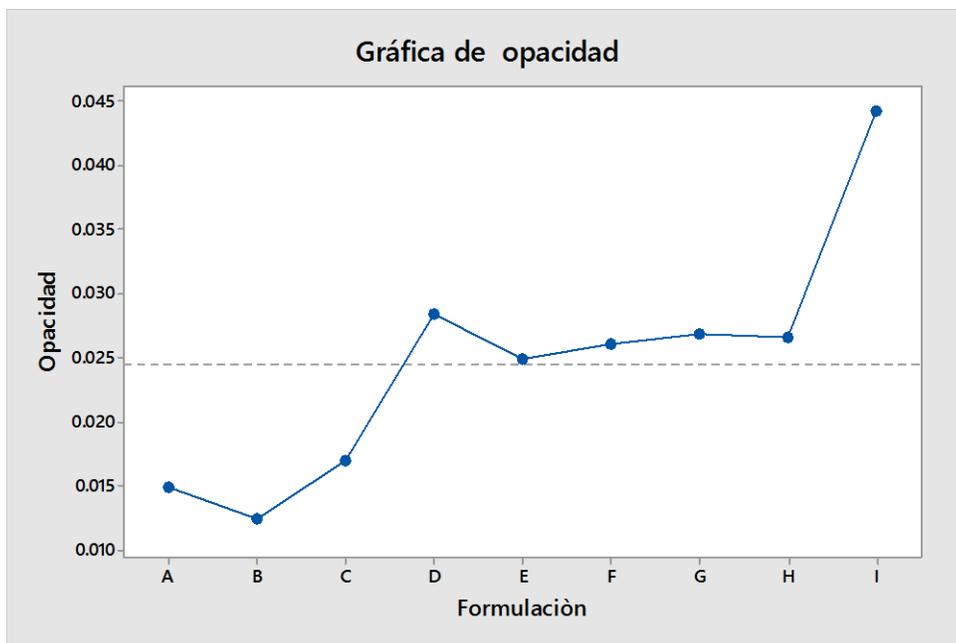


Figura 12. Comportamiento de las medias de la variable opacidad

El trabajo realizado por Santacruz *et al.*, (2015) en películas comestibles a base de almidón y quitosano mostró que las películas con 1% (p/p) de almidón mostraban menores valores de opacidad (5.38 mm^{-1}) en comparación con películas 0.5% de almidón cuyo valor de opacidad fue mayor (6.75 mm^{-1}). Asimismo, en un estudio realizado por Muñoz, (2014) en películas comestibles a base de almidón de yuca y maíz mostró que los tratamientos que tenían la menor opacidad (valores de 2.97 mm^{-1} y 3.37 mm^{-1}) eran los que contenían el mayor porcentaje de almidón (75%).

4.2.5 Transmitancia

De acuerdo a los resultados estadísticos analizados se encuentran diferencias entre las formulaciones ($p > 0.000$), las formulaciones A, B, I, son significativamente diferentes al resto, siendo la formulación A (1% de carragenina y 10% de aceite esencia de clavo) con 47.09 de transmitancia y B (1% de carragenina y 20% de aceite esencial de clavo) con 45.34 de transmitancia, las que contiene mayor

porcentaje de transmitancia, la formulación I (2% de carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) fue la que presentó menor transmitancia (21.82), (fig.13).

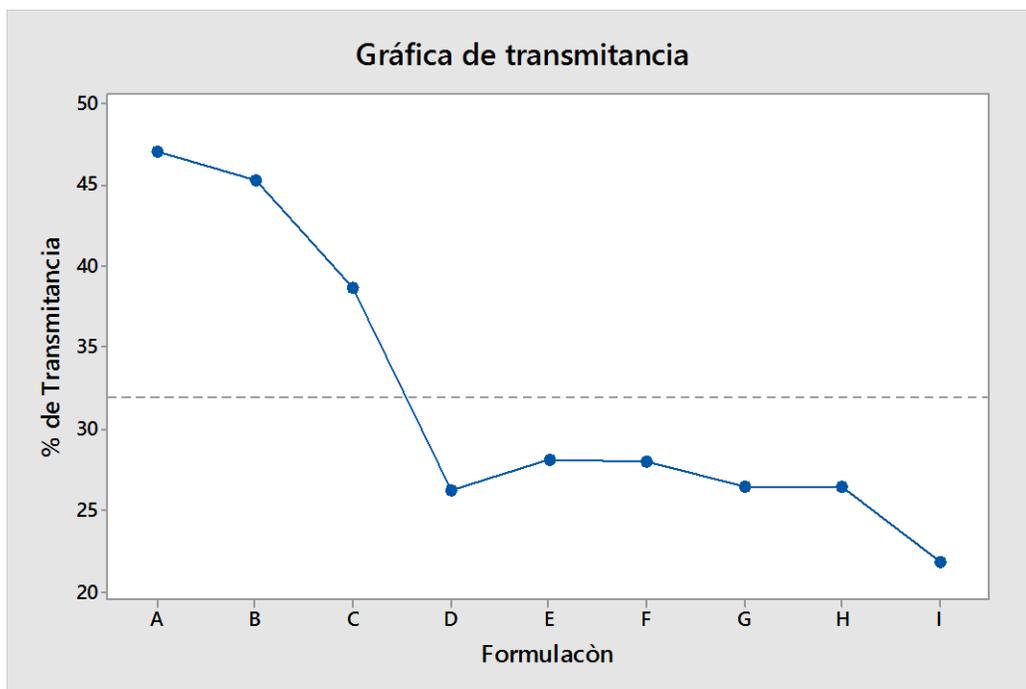


Figura 13. Comportamiento de las medias de la variable transmitancia.

La apariencia de las películas comestibles depende del hidrocoloide utilizado y de los aditivos añadidos. Las películas de almidón puro, sin aditivos, son generalmente incoloras y transparentes.

En películas realizadas a partir de quitosano con el agregado de aceites esenciales (tomillo y romero), Arce (2011) observó que su transparencia se redujo a medida que se les incorporaron aceites esenciales.

De acuerdo a los datos analizados el porcentaje de aceite esencial de clavo añadido influye en la transmitancia, las formulaciones que contienen mayor porcentaje de aceite de clavo son más opacos.

4.3. Análisis de color

Los parámetros medidos correspondieron de acuerdo al análisis, las variables que se midieron fueron tres: L (luminosidad), a (cromaticidad +rojo-verde), b (cromaticidad +amarillo-azul), en el cual L* indica luminosidad (0 corresponde a negro y 100 corresponde a blanco), los valores positivos de a* indican rojo y los negativos, verde y valores positivos de b* indican amarillo mientras que los negativos indican azul.

En el cuadro 3, puede observarse el efecto de la concentración de carragenina y aceite de clavo sobre el parámetro de diferencia de color.

Cuadro 3. Análisis de resultados del parámetro color (L (Luminosidad), a (cromaticidad +rojo-verde), b (cromaticidad +amarillo-azul)).

TRATAMIENTO	PARAMETROS EVALUADOS		
	L (Luminosidad)	a (cromaticidad +rojo-verde)	b (cromaticidad +amarillo-azul)
A	84.12 ^a	-0.498 ^a	9.59 ^{ab}
B	85.99 ^a	-0.629 ^a	8.437 ^b
C	84.124 ^a	-1.247 ^a	16.00 ^{ab}
D	85.155 ^a	-0.507 ^a	11.28 ^{ab}
E	83.79 ^a	-0.821 ^a	13.87 ^{ab}
F	84.634 ^a	-1.784 ^a	19.14 ^{ab}
G	84.447 ^a	-0.954 ^a	14.944 ^{ab}
H	82.17 ^a	-0.949 ^a	16.56 ^{ab}
I	81.884 ^a	-0.964 ^a	20.59 ^a

4.3.1. Luminosidad

Este parámetro determina el brillo que tienen las muestras, a mayor valor numérico obtenido se determina que la muestra tiene mayor luminosidad (brillo) a menor valor numérico menor luminosidad, la muestra es más opaca, (Barrera,2017).

De acuerdo a los resultados obtenidos (Cuadro.3) no hay diferencia significativa en las formulaciones ya que todas presentan una luminosidad óptima, teniendo un valor de $p < 0.756$, con una media general de 84.036, (Fig. 14).

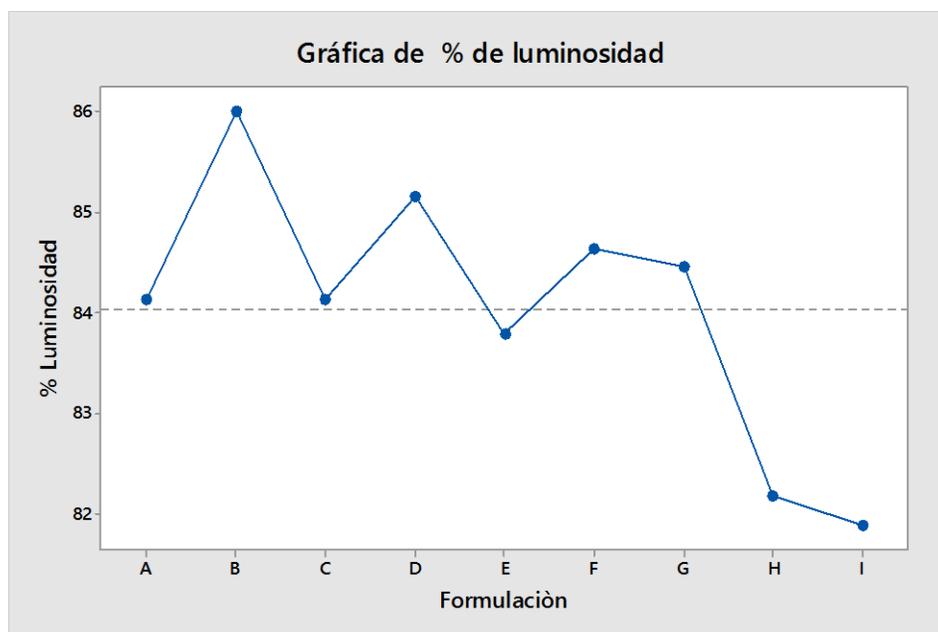


Figura 14. Gráfica de luminosidad de películas a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo

Investigaciones reportadas por Ruiz (2009), indican que los valores promedio de la luminosidad en distintas películas aparentemente presentan una tendencia similar, es decir, al aumentar el espesor, disminuye la luminosidad. Sin embargo, análisis de varianza demuestran que esto solo es cierto en la películas MPA (mucílago de nopal seco, polietilenglicol y glicerol). En estas películas a menor espesor mayor luminosidad.

4.3.2. Cromaticidad a* (+rojo-verde)

En el análisis de cromaticidad en el parámetro a*, se encontró que todas las formulaciones presentaron magnitudes negativas, eso corresponde a un componente de color ligeramente verde. Conforme al estadístico se obtuvo una $p < 0.316$, con este dato se comprueba que no se encuentran diferencias significativas en las formulaciones, este resultado puede deberse a que el aceite esencial de clavo mezclado con carragenina muestra una solución con un tono que va de verde a amarillo.

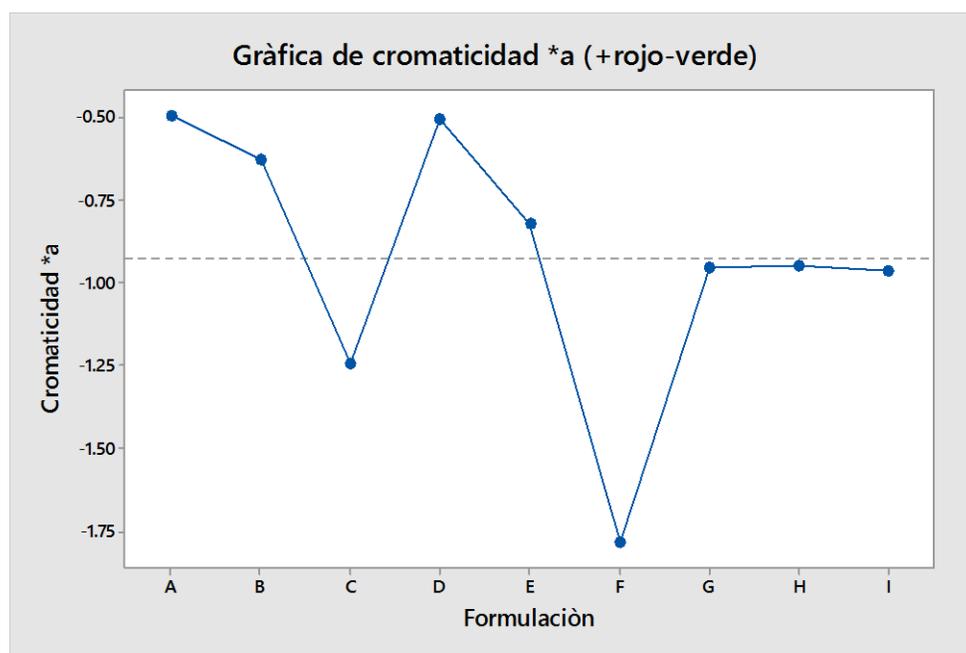


Figura 15. Comportamiento del eje "a" del parámetro color.

4.3.3. Cromaticidad b*(+amarillo-azul)

En el análisis del eje "b" se muestra que existe diferencia significativa ($p > 0.015$) entre las diferentes formulaciones, el tono amarillento se relaciona con la cantidad

de aceite de clavo añadido, mientras se añada mayor cantidad de aceite, el tono amarillo se muestra más intenso, la formulación B y la formulación I presentan diferencias significativas ya que la formulación B presenta un tono más débil a diferencia de la formulación I que presenta un tono amarillo más intenso, las formulaciones restantes presentan un tono similar (Fig.16).

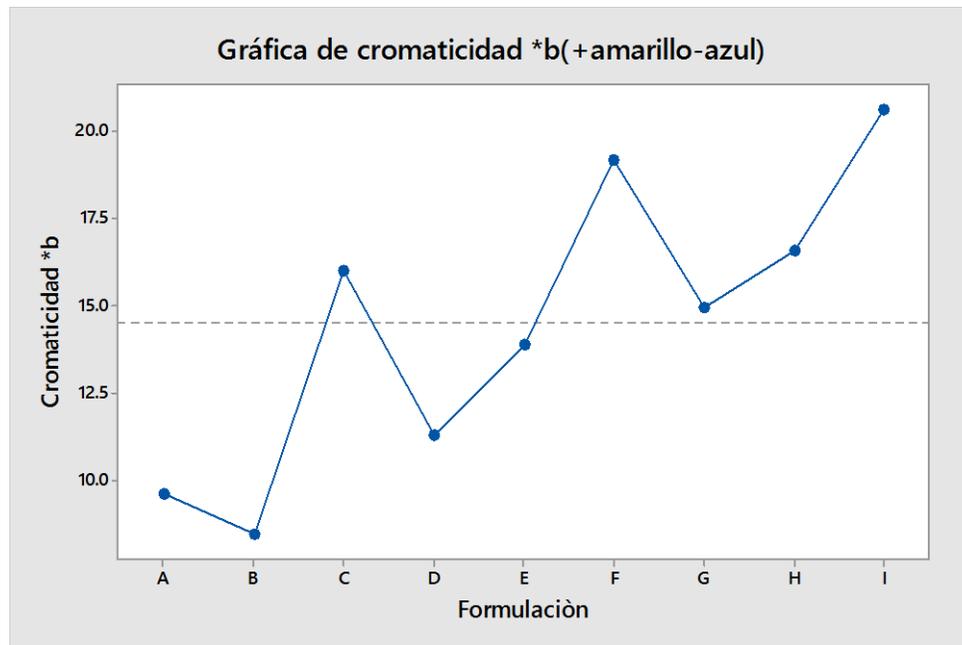


Figura 16. Comportamiento del eje "b" del parámetro color.

4.4. Permeabilidad

En el cuadro 4, se muestran los valores obtenidos en la determinación de la permeabilidad al vapor de agua a diferentes porcentajes de humedad relativa, se puede observar que no se encontraron diferencias significativas.

La permeabilidad al vapor de agua es una propiedad ampliamente estudiada debido al papel que juega el agua en las reacciones de deterioro de los alimentos.

La permeabilidad del agua está relacionada a la difusividad y a la solubilidad del material en el agua; si el material es altamente soluble en agua, la permeabilidad será menor (Rojas Graü *et al.*, 2007).

Cuadro 4. Análisis de resultados de permeabilidad al vapor de agua a 100%, 85%, y 75% de humedad relativa.

FORMULACIÓN	PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA (WVP)		
	100 % HR	85 % HR	75 % HR
A	0.3940 ^a	0.4504 ^a	0.5554 ^a
B	0.8220 ^a	0.4890 ^a	0.2780 ^a
C	0.6334 ^a	0.5870 ^a	0.3360 ^a
D	0.6650 ^a	0.4970 ^a	0.4770 ^a
E	0.9400 ^a	0.9830 ^a	0.4720 ^a
F	0.7885 ^a	0.7346 ^a	0.6750 ^a
G	0.6730 ^a	0.6439 ^a	0.4891 ^a
H	0.8387 ^a	0.6266 ^a	0.4251 ^a
I	0.9910 ^a	0.5403 ^a	0.5610 ^a

Se analizaron tres porcentajes diferentes de humedad relativa para cuantificar la permeabilidad al vapor de agua (WVP), en los datos analizados no se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones (cuadro. 4), 100 % HR ($p < 0.433$), 85 % HR ($p < 0.356$) y 75 % HR ($p < 0.682$) respectivamente. Aunque no hubo diferencias significativas podemos observar en las figuras 17 y 18. La formulación A es la menos permeable y la formulación E es la más permeable al 100% y 85% de HR. En cuanto al análisis de 75% de HR, la formulación B obtuvo menor permeabilidad a diferencia de la formulación F que es más permeable (Fig.19).

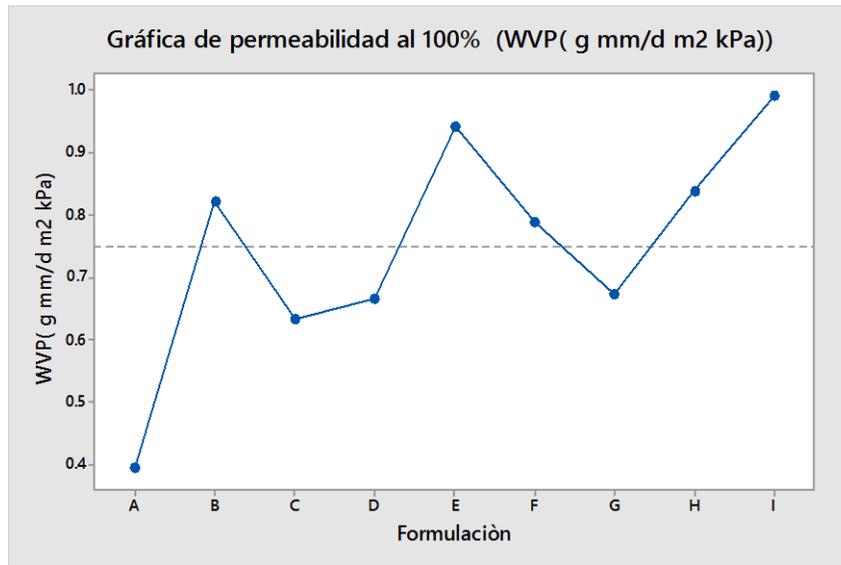


Figura 17. Gráfica de permeabilidad de la película desarrollada a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo a una humedad relativa al 100%.

En la siguiente figura se muestra el análisis estadístico de la permeabilidad al 85%, en donde se puede observar que la formulación E presenta mayor permeabilidad al agua (Fig.18).

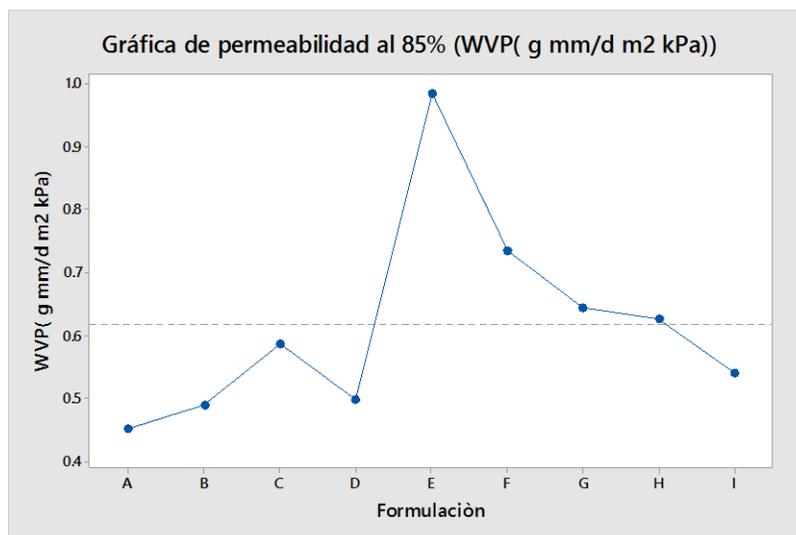


Figura 18. Gráfica de permeabilidad de la película desarrollada a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo a una humedad relativa al 100%.

La figura muestra el resultado de la determinación de permeabilidad en las películas desarrolladas al 75%, se puede observar que la formulación F es la más permeable (Fig. 19).

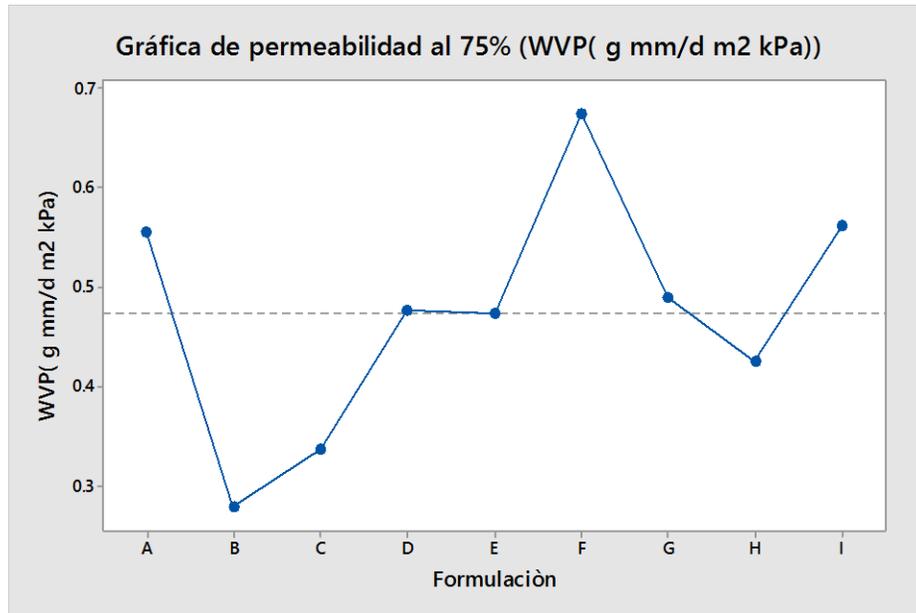


Figura 19. Gráfica de permeabilidad de la película desarrollada a base de carragenina, cera de abeja y aceite de clavo a una humedad relativa al 100%.

En un estudio realizado por Bozdemir y Tutas (2003) se identificó que al aumentar la concentración de plastificante aumentó la permeabilidad al vapor de agua. Las películas con 0.4% de glicerol mostraron valores de $4 * 10^{-11} g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1}$ de permeabilidad a vapor de agua, mientras que con las que contenían 1.6% de glicerol se obtuvieron valores de $6 * 10^{-11} g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1}$.

Cabe mencionar que las películas caracterizadas en este estudio tuvieron un porcentaje de glicerol constante para todas las formulaciones, este pudo ser un factor por el cual no se encontraron diferencias significativas en el análisis de las formulaciones.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

Se desarrollaron las formulaciones de las películas utilizando diferentes concentraciones del biopolímero, y de aceite de clavo como antimicrobiano (10%,20% y 30%), utilizando la misma concentración de plastificante (glicerol 20%), tween 80 (2%, v/v) y de cera de abeja (10%).

Se analizaron las características ópticas y de barrera de las diferentes formulaciones (color, porcentaje de humedad, porcentaje de solubilidad, grosor y permeabilidad al agua a 75, 85 y 100% de humedad relativa) de cada formulación.

Con los resultados obtenidos se puede identificar que la concentración de carragenina influye en el grosor de la biopelícula.

En la determinación del porcentaje de humedad existen diferencias significativas entre las formulaciones, la formulación B (1% de carragenina y 20% de aceite esencial de clavo) presento mayor porcentaje de humedad y la formulación D (1.5% de carragenina y 10% de aceite esencial de clavo) presentó menor porcentaje de humedad.

En el análisis de solubilidad existe diferencia entre las formulaciones, la formulación B (1% de carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) obtuvo mayor porcentaje de solubilidad (100%), y la formulación G (2% de carragenina y 10% de aceite esencia de clavo) obtuvo menor porcentaje de solubilidad (51.47 %).

En la opacidad de la biopelícula existe una diferencia significativa en los resultados, las formulaciones A,B,C,E, no presentan diferencia significativa entre ellas, a diferencia con las formulaciones D,F,G,H,I que son similares entre sí pero diferentes a las formulaciones A,B,C y E. Las formulaciones A, B y C presentaron menor opacidad (A 0.01488, B 0.012370, C 0.01689), la formulación I (2% de

carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) presento mayor opacidad (0.04428).

En los datos analizados de transmitancia, las formulaciones A,B,I, son significativamente diferentes al resto, siendo la formulación A (1% de carragenina y 10% de aceite esencia de clavo) con 47.09 de transmitancia y B (1% de carragenina y 20% de aceite esencial de clavo) con 45.340 de transmitancia, las que contiene mayor porcentaje de transmitancia, la formulación I (2% de carragenina y 30% de aceite esencial de clavo) fue la que presento menor transmitancia (21.82).

En el análisis de color, no se encontraron diferencias significativas en la luminosidad presentando una media general de 84.036. En el análisis de cromaticidad en el parámetro a^* , encontramos que todas las formulaciones presentaron magnitudes negativas, eso corresponde a un componente de color ligeramente verde.

En el análisis del eje “b” se muestra que existe diferencia significativa entre las diferentes formulaciones, el tono amarillento se relaciona con la cantidad de aceite de clavo añadido, mientras se añada mayor cantidad de aceite, el tono amarillo se muestra más intenso, la formulación B presenta un tono más débil a diferencia de la formulación I que presenta un tono amarillo más intenso, las formulaciones restantes presentan un tono similar.

En la determinación de permeabilidad en los datos analizados no se encontraron diferencias significativas entre las formulaciones. Aunque no hubo diferencias significativas analizando los resultados, la formulación A es la menos permeable y la formulación E es la más permeable al 100% y 85% de HR. En cuanto al análisis de 75% de HR, la formulación B obtuvo menor permeabilidad a diferencia de la formulación F que es más permeable.

CAPÍTULO VI. BIBLIOGRAFÍA

- ✓ Abdollahi, M., Rezaei, M. y Farzi, G. (2012). Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, pág. 847-853.
- ✓ Aguilar Méndez Miguel Á. (2005). "Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate." Tesis de posgrado. Centro de investigación en ciencia aplicada y tecnología avanzada. Instituto Politécnico Nacional.
- ✓ Ahmed, M. (2011). The effect of dietary clove oil on broiler performance. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. Pág. 49-51.
- ✓ Arce, C. (2011). Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales. Trabajo de grado presentado para optar al título de Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Bogotá.
- ✓ ATSM international. (2005). Standard Test Methods for Water Vapor Permeability of Caseinate Based Edible Films as Affected by pH, Calcium Crosslinking and lipid Standard Designations: E96-95. *Annal Book of ATSM*, Philadelphia, pág. 406-441.
- ✓ Barrera Ramírez F.J. (2017). Efecto del pH sobre las características y de adhesividad de látex de poli (Acetato de vinilo-alcohol vinílico) para fisicoquímicas recubrir tomate cherry (*Lycopersicon esculentum*. Var. *Cerasiforme*). Trabajo de grado presentado para optar al título de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos, UAAAN.
- ✓ Baruk, P. (2008). Caracterización estructural de películas elaboradas con almidón modificado de plátano y con quitosano. Tesis para obtener el grado de Doctorado en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos.
- ✓ Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int J. Food Microbiol.*, 94, pág. 223-253.

- ✓ Briones, A. V., Ambal W. O., Estrella, R. R., Pangilinan, R., De Vera, C. J., Pacis, R. L., Rodríguez, N. y Villanueva M. (2004). Tensile and tear strength of carrageenan film from Philippine eucheuma species. *Marine Biotechnology*. pág. 148-151.
- ✓ Brimelow, C. J. B., Joshi, P. (2001). Instrumentation and sensors for food industry. Colour measurement of foods by colour Reflectance. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- ✓ Bozdemir, O. y Tutas, M. 2003. Plasticizer effect on water vapour permeability properties of locust bean gum based edible films. *Turkish Journal of Chemistry*. 27: pág. 773-782.
- ✓ Campos, C., Gerschenson, L. y Flores, S. (2011). Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 4, pág. 899-875.
- ✓ Coupland, J. N., Shaw, N. B., Monahan, F. J., Dolores O’Riordan, E., & O’Sullivan, M. (2000). Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. *Journal of Food Engineering*, 43, pág. 25–30.
- ✓ Debeaufort, F.; Quezada-Gallo, J. Y Voilley, A. (1998). Edible films and coatings: tomorrow’s packings: A Review. *Critical Reviews*. In *Food Science*. 38, pág. 299-313.
- ✓ Del Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., Galotto, M. (2005). "Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf life". *Food Chemistry*.
- ✓ Falguera, V.; Quintero, P.; Jiménez, A.; Muñoz, J.A.; Ibarz, A. (2011). "Edible films and coatings: Structures, active function and trends in their use", *Trends in Food Science & Technology*.
- ✓ Famá, L., Goyanes, S., Gerschenson, L. (2007). Influencia del ajo en recubrimientos biodegradables a base de almidón de mandioca. Congreso SAM/CONAMET.

- ✓ Guilbert, S., Gontard, N., & Gorris, L. (1996). Prolongation of the shelf life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensmittel Wissenschaft und Technology*. 29, pág. 10-17.
- ✓ Guilbert, S. y Biquet, B. (1986). Technology and application of edible protective films. En "Food packaging and preservation". Editado por Mathlouthi, M. Ed. Elsevier. Londres.
- ✓ Gupta, C., Garg, A.P., Uniyal, R.C. y Gupta, S. (2009). Comparison of antimicrobial activities of clove oil its extract on some food borne microbes. *The Internet Journal of Microbiology*.
- ✓ Gennadios, A., Weller, C. L. y Gooding, C. H. (1994). Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films. *Journal of Food Engineering*, 21, pág. 395-409.
- ✓ Hambleton, A., Debeaufort, F., Beney, L., Karbonwiak, T., Voilley, A. (2008). Protection of active aroma compound against moisture and oxygen by encapsulation in biopolymeric emulsion based edible films. *Biomacromolecules*. Pág. 1058-1063.
- ✓ Hassani, A., Fathi, Z., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Meshkatsadat, M. H. y Marandi, R.J. (2011). Evaluation of plant essential oils for control of postharvest brown and gray mold rots on apricot. *Journal of Food Safety*, 32, pág. 94–101.
- ✓ Hutchings, J. B. (1999). *Food and Colour Appearance*, Second Edition. Gaithersburg, Maryland: Chapman and Hall Food Science Book, Aspen Publication.
- ✓ Karbonwiak, T., Hervet, H., Lenger, L., Champion, D., Debeaufort, F. y Voilley, A. (2006). Effect of plasticizers (water and glycerol) on the diffusion of a small molecule in iota carrageenan biopolymer films for edible coating application. *Biomacromolecules*. pág. 2011-2019.
- ✓ Kester, J.J. y Fennema, O.R. (1986). Edible Films and Coatings. A Review. *Food Technol.* Pág. 47-59.
- ✓ Krochta, J. M., Baldwin, A. E. y Nisperos Carriedo, M. (1994). Edible coatings and films to improve food quality. Chapter. *Edible films coating:*

Characteristics, formation, definitions, and testing methods. Technomic Publishing Co., Lancaster, PA, E.U.A. pàg.1-21.

- ✓ Krochta, J.M. y De Mulder-Johnston C. (1997). Edible and Biodegradable Polymer Films: Challenges and Opportunities. Food Technol., pàg. 61-74.
- ✓ Leonard, C., Virijevic, S., Regnier, T. y Combrinck, S. (2010). Bioactivity of selected essential oils and some components on *Listeria monocytogenes* biofilms. South African Journal of Botany, 76, pàg. 676–680.
- ✓ Machado, M., Dinis, A.M., Salgueiro, L., Custódio J. B. A., Cavaleiro, C. y Sousa, M.C. (2011). Anti-Giardia activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol: Effects on growth, viability, adherence and ultrastructure. Experimental Parasitology, 127, pàg. 732–739.
- ✓ MacDougall, D. B. (2001). Instrumentation and sensors for food industry. Principles of colour measurement for food. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- ✓ McHugh, T. H., Avena Bustillos, y Krochta J.M. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. Journal of Food Science, 58, pàg. 899-903.
- ✓ Moura, J., Sarmiento, F.Q., de Oliveira, F., Pereira, J., Nogueira, V. y de Oliveira E. (2012). Actividad antifúngica del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* sobre cepas de *Candida tropicalis* de aislados clínicos. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Especies Medicinales y Aromática, pàg. 208-217.
- ✓ Muñoz J. (2014). Evaluation, characterization and optimization of a bioplastic from the combination of corn starch, cassava and glycerol in their physical properties and barrier. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, pàg. 22.
- ✓ Nerio, L., Olivero-Verbel, J., y Stashenko, E. (2010). Repellent activity of essential oils: A review. Bioresource Technology, pàg. 372–378.
- ✓ Nonsee, K., Supitchaya, C. y Thawien, W. (2011). Antimicrobial activity and the properties of edible hydroxypropyl methylcellulose based films

- incorporated with encapsulated clove (*Eugenia caryophyllata Thunb*) oil. International Food Research Journal, pàg. 1531-1541.
- ✓ Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. y Anthony, S. (2009). World Agroforestry Center.
 - ✓ Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. y Naghdibadi, H. (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control, 18, pàg. 1518–1523.
 - ✓ Ozdemir, M., Floros, J. D. (2007). Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics. Journal of Food Engineering, pàg. 215–224.
 - ✓ Pandey, A., y Singh, P. (2011). Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) with metal ion effect against food borne pathogens. Asian Journal of Plant Science and Research, pàg. 69-80.
 - ✓ Park, M., Gwak, K., Choi, W., Jo H., Chang, J., Jeung, E., y Choi, I. (2007). Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. The Journal of Microbiology, 45, pàg. 460-465.
 - ✓ Pérez Gago, M. B., Nadaud, P. y Krochta, J. M. (1999). Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat denatured versus native whey protein films. Journal of food Science. 64, pàg. 1034-1037.
 - ✓ Phasomkusolsil, S., y Soonwera, M. (2011). Efficacy of herbal essential oils as insecticide against *Aedes aegypti* (Linn.), *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison). The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, pàg. 1083-1092.
 - ✓ Rahnama, M., Najimi, M. y Ali, S. (2012). Antibacterial effects of *Myristica fragrans*, *Zataria multiflora* Boiss, *Syzygium aromaticum*, and *Zingiber officinale* Rosci essential oils, alone and in combination with nisin on *Listeria monocytogenes*. Comparative Clinical Pathology, pàg. 1313–1316.
 - ✓ Ramadán M.M., Ali M.M, Ghanem K.Z., El Ghorabe A.H. (2015). Essential oils from Egyptian aromatic plants as antioxidant and novel anticancer

- agents in human cancer cell lines. *Grasa y Aceites*, Vol. 66, No. 2, pág. 1-10.
- ✓ Rana, I., Rana, A. y Charan R. (2011). Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, pág. 2169-2277.
 - ✓ Ribeiro, C., Vicente A. A., Teixeira J. A., Miranda C. (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology*, pág. 63 – 70.
 - ✓ Rojas Graü, M. A., Tapia, M. S., Rodríguez, F. J., Carmona, A. J., & Martín Belloso, O. (2007). Alginate and gellan based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on freshcut fuji apples. *Food Hydrocolloids*, 21, pág.118–127.
 - ✓ Romero Lopez, (2014). “Desarrollo de una película comestible a base de goma de mezquite, carboximetilcelulosa de sodio y proteína de suero de leche para conservación de productos cocinados de pollo y cerdo”, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México.
 - ✓ Ruiz F. (2009). Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y mucilago de nopal en fresa (*Frararia ananassa*) almacenada en refrigeración. Tesis Maestría. Ciencia de Alimentos. Universidad de las Américas Puebla. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos.
 - ✓ Sánchez Aldana, D.; Contreras-Esquivel, J.C.; Nevárez Moorillón, G.V. & Aguilar, C.N. (2015). Characterization of edible films from pectic extracts and essential oil from Mexican lime. *Journal of food*, pág. 17-25.
 - ✓ Sánchez-González, L.; Pastor, C.; Vargas, M.; Chiralt, A.; González Martínez, C. (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*, pág. 57-63.
 - ✓ Santacruz S. Rivadeneira C. Castro M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer,

surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocolloids*; 49, pág. 89-4.

- ✓ Seetha, B., y Naidu, K. (2010). Antimicrobial efficacy of essential oil *Syzygium aromaticum* against common infectants of storage cereals and fruits. *Journal of Pharmacy Research*, 3., pág. 2544-2545.
- ✓ Sethi, S., Dutta, A., Gupta B. L. y Gupta, S. (2013). Antimicrobial activity of spices against isolated food borne pathogens. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, pag., 260-262.
- ✓ Singh, J., Baghotia, A. y Goel, S. P. (2012). *Eugenia caryophyllata* Thunberg (Family *Myrtaceae*): A Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences.*, pág. 1469-1475.
- ✓ Silvestri, J., Paroul, N., Czyewski, E., Lerin, L., Rotava, I., Cansian, R. L., Mossi, A. (2010). Toniazolo, G., de Oliveira, D. y Treichel, H. Perfil de composición química de actividad antibacteriana y antioxidante del aceite esencial de clavo de la India (*Eugenia caryophyllata* Thunb). *Revista Ceres*, pág. 589-594.
- ✓ Srivastava, A., Srivastava, S. K. y Syamsundar, K. V. (2005). Bud and leaf essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from India and Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, pág. 51–53.
- ✓ Vasconez, M., Flores, S., Campos, C., Alvarado, J., Gerschenson, L. (2009). "Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings." *Food Research International.*, pág. 762 – 769.
- ✓ Viroben, G., Barbot, J., Mouloungui, Z. y Guéguen, J. (2000). Preparation and characterization of films from pea protein. *J. Agric. Food Chem.*, pag. 1064-1069.
- ✓ Villamán Diéguez. (2007). Elaboración y caracterización de films comestibles basadas en mezclas entre proteínas de quínoa y quitosano, Tesis de licenciatura., pág. 20-72.
- ✓ Yang L, Paulson AT. (2000). Mechanical and water vapor barrier properties of edible gellan films. *Food Res. Int.*, pág. 563-570.

- ✓ Zhang, Y., Han, J. H. (2006). Plasticization of Pea Starch Films with Monosaccharides and Polyols. *Journal of Food Science*.