



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS LÁCTEOS  
EMPACADOS CON PELÍCULAS COMESTIBLES DE ALMIDÓN Y  
BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS**

Tesis que para obtener el grado de  
**LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA:

**GUADALUPE FIERRO CORONA**

DIRECTORA DE TESIS:  
**DRA. PAOLA HERNÁNDEZ CARRANZA**

CODIRECTOR:  
**DR. CARLOS ENRIQUE OCHOA VELASCO**

JUNIO 2023



*A mi papá Tomas, quien puso todo su esfuerzo en cada eslabón de mi educación, sin duda alguna fuiste mi gran motivación para concluir mi carrera de esta manera y nunca desistir a pesar de los obstáculos. Tú que fuiste testigo de mis desvelos, gracias por cuidar siempre de mí. Un abrazo al cielo.*

*A mi mamá Irma, quien ha sido mi mayor ejemplo de disciplina y dedicación, gracias por acompañarme en todos mis logros desde que tengo memoria, por tu apoyo y amor incondicional que siempre llevaré en mi corazón. Te quiero con toda el alma.*

*A mis hermanas Tania y Brenda, quienes me han enseñado a siempre luchar por mis sueños y me han brindado los consejos necesarios para enfrentarme a la vida. Las quiero, siempre juntas a pesar de la distancia.*

*A Lucía, mi rayito de luz que me ha enseñado a ver las adversidades de la vida de otra manera. Gracias por llegar a nuestras vidas.*

*¡Infinitas gracias!*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi directora de tesis, la doctora Paola Hernández Carranza, gracias por recibirme en su laboratorio, por darme el apoyo necesario para la realización de este trabajo y sobre todo gracias por impulsarme a siempre creer en mí y brindarme una bonita amistad.

A mi co-director de tesis, el doctor Carlos Enrique Ochoa Velasco, gracias por el esfuerzo que dedicó para que este trabajo diera otros frutos más, por brindarme su apoyo y recibirme con toda la disposición.

A las doctoras Norma Elena Rojas Ruíz, Abigail Martínez Torres y Sandra Luz Cabrera Hilerio, por sus comentarios y ayuda para mejorar la escritura y redacción de este trabajo.

A mis amigos de carrera que se convirtieron en mis amigos para toda la vida, Nicolás, Adrián y Alejandro Dogu, de verdad gracias por todo, por el gran equipo que hice con cada uno de ustedes a lo largo de estos años y por todas las risas compartidas dentro y fuera de la universidad.

A mis compañeros de laboratorio y amigos que se convirtieron en familia, Sandra, Antonio, Xiadani y Bricia, sin ustedes el trabajo no hubiera sido el mismo, gracias por todo el aprendizaje y por todos los momentos bonitos que hemos pasado juntos.

A todos los amigos y profesores que formaron parte de mi vida universitaria, por impactar en mi forma de ver las cosas.

A toda mi familia y amigos, por sus palabras de aliento y todo el cariño que siempre han demostrado tenerme.

¡Gracias por dejar una huella en mi vida!

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. ANTECEDENTES.....	11
2.1. Deterioro de los alimentos.....	11
2.1.1. Definición .....	11
2.1.2. Tipos de deterioro de alimentos .....	11
2.1.2.1 Deterioro físico.....	11
2.1.2.2 Deterioro químico.....	11
2.1.2.3 Deterioro microbiológico .....	13
2.1.3. Principales alimentos que sufren algún tipo de deterioro.....	14
2.1.3.1 Productos lácteos .....	14
2.1.3.2 Frutas y hortalizas postcosecha.....	14
2.1.3.3 Cárnicos .....	15
2.1.4. Métodos de control de deterioro .....	15
2.1.4.1 Métodos físicos de control de deterioro.....	15
2.1.4.2 Métodos químicos de control de deterioro .....	16
2.2 Productos lácteos.....	17
2.2.1. Generalidades.....	17
2.2.2 Producción de la leche .....	17
2.2.3 Propiedades nutricionales de la leche y sus derivados.....	18
2.2.4. Reacciones que afectan a los productos lácteos .....	20
2.2.4.1 Proteólisis .....	20
2.2.5.1 Lipólisis.....	20
2.2.5 Queso .....	21
2.2.5.1 Queso tipo Manchego.....	22
2.3 Películas comestibles.....	23
2.3.1 Definición .....	23
2.3.2 Componentes para su elaboración.....	24
2.3.2.1 Hidrocoloides .....	25
2.3.2.1.1 Almidón de papa.....	25

2.3.2.2	Proteínas .....	26
2.3.2.2.1	Suero de leche.....	27
2.3.2.3	Lípidos .....	27
2.3.2.3.1	Glicerol .....	27
2.3.2.4	Películas compuestas .....	28
2.3.3	Aplicaciones en los alimentos .....	28
2.3.4	Componentes adicionales: Agentes bioactivos .....	30
2.4	Bacterias ácido-lácticas.....	30
2.4.1	Generalidades.....	30
2.4.2	Clasificación.....	31
2.4.2.1	Homofermentativas.....	31
2.4.2.2	Heterofermentativas.....	32
2.4.3	Lactobacillus .....	32
2.4.3.1	<i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	32
2.4.3.2	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> .....	33
2.5	Potencial probiótico de las bacterias ácido-lácticas.....	33
2.6	Aplicaciones de las bacterias ácido-lácticas en películas comestibles .....	34
3.	JUSTIFICACIÓN.....	36
4.	OBJETIVOS.....	37
4.1.	Objetivo General .....	37
4.2.	Objetivos Particulares .....	37
5.	DIAGRAMA DE TRABAJO .....	38
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
7.	METODOLOGÍA .....	41
7.1	Preparación del medio de cultivo y suero de leche.....	41
7.2	Elaboración de películas comestibles con almidón de papa, suero de leche y bacterias ácido-lácticas.....	41
7.3	Caracterización fisicoquímica de películas comestibles .....	42
7.3.1	Color .....	42
7.3.2	Humedad .....	42
7.3.3	Proteína .....	42

7.5 Bacterias ácido-lácticas.....	43
7.6 Viabilidad de las bacterias ácido-lácticas durante la simulación gastrointestinal .....	43
7.7 Aplicación de las películas comestibles en queso .....	43
7.8 Color de quesos cubiertos con películas .....	44
7.9 Bacterias ácido-lácticas en quesos cubiertos con películas durante el almacenamiento.....	44
7.10 Bacterias ácido-lácticas en quesos cubiertos con películas durante la simulación gastrointestinal.....	44
7.11 Análisis sensorial del queso .....	44
7.8 Análisis estadístico.....	44
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	45
8.1 Películas comestibles con almidón de papa, suero de leche y bacterias ácido-lácticas.....	45
8.2 Caracterización fisicoquímica de películas comestibles .....	46
8.3 Permeabilidad al vapor de agua de películas comestibles .....	48
8.4 Bacterias ácido-lácticas en películas comestibles .....	49
8.5 Viabilidad de las bacterias ácido-lácticas en películas comestibles, durante la simulación gastrointestinal.....	50
8.6 Aplicación de las películas comestibles en queso .....	51
8.8 Bacterias ácido-lácticas en quesos cubiertos con películas durante el almacenamiento.....	54
8.9 Bacterias ácido-lácticas en quesos durante la simulación gastrointestinal y almacenamiento.....	55
8.10 Análisis sensorial del queso cubierto con películas comestibles .....	56
9. CONCLUSIONES .....	58
10. RECOMENDACIONES .....	59
11. REFERENCIAS .....	60

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Criterios de clasificación del queso .....	22
Figura 2. Clasificación de los principales materiales de las películas .....	24
Figura 3. Estructura química de la amilosa (a) y la amilopectina (b) .....	26
Figura 4. Esquema de trabajo para la elaboración de películas comestibles aplicadas a queso tipo Manchego.....	38
Figura 5. Películas comestibles elaboradas con almidón de papa, suero de leche y almidón .....	46
Figura 6. Población de bacterias ácido-lácticas en películas elaboradas con almidón de papa y suero de leche fermentado con <i>L. acidophilus</i> y <i>L. rhamnosus</i> .....	50
Figura 7. Viabilidad de bacterias ácido-lácticas en películas elaboradas con almidón de papa y suero de leche fermentado.....	51
Figura 8. Quesos cubiertos con las películas de almidón de papa y suero de leche ....	52
Figura 9. Viabilidad de bacterias ácido-lácticas en quesos cubiertos con y sin películas durante el almacenamiento .....	55
Figura 10. Sándwiches con películas comestibles para la prueba sensorial .....	56
Figura 11. Evaluación sensorial de queso cubierto con y sin películas adicionadas con bacterias ácido-lácticas.....	57

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Reacciones químicas y bioquímicas que contribuyen al deterioro y/o calidad alimentaria. ....	12
Tabla 2. Aporte de nutrientes de algunos productos lácteos comúnmente consumidos	19
Tabla 3. Aplicaciones de películas comestibles en productos alimenticios.....	29
Tabla 4. Aplicación de películas comestibles adicionadas con probióticos.....	35
Tabla 5. Métodos y referencias utilizados en la investigación .....	39
Tabla 6. Equipos utilizados en la investigación .....	40
Tabla 7. Formulación de los sistemas elaborados para las películas comestibles .....	42
Tabla 8. Caracterización fisicoquímica y contenido de proteína de películas comestibles con almidón de papa, suero de leche y bacterias ácido-lácticas .....	48
Tabla 9. Parámetros de color de quesos cubiertos con y sin películas comestibles durante el almacenamiento .....	53
Tabla 10. Viabilidad de bacterias ácido-lácticas en quesos con y sin películas durante el almacenamiento a 5 °C.....	56

## RESUMEN

Las películas comestibles (PC) se han posicionado como una de las alternativas más eficientes ante el uso de empaques sintéticos en alimentos. La incorporación de ingredientes funcionales a las PC ha ganado gran relevancia, debido a que pueden prolongar la vida útil de los alimentos y brindar beneficios a los consumidores.

En este trabajo se elaboraron cuatro PC: película con almidón de papa y suero fermentado con *L. acidophilus* (S1), película con almidón de papa y suero fermentado con *L. rhamnosus* (S2), película con almidón de papa y suero sin fermentar (S3) y película con almidón de papa y glicerol (S4). Se evaluaron los parámetros de color, humedad y proteína, permeabilidad al vapor de agua y la viabilidad de las bacterias ácido-lácticas (BAL) antes y después de la simulación gastrointestinal. Las películas se aplicaron a queso tipo Manchego y se almacenaron durante 14 días en empaques de PET. Se evaluó el color, la viabilidad de las BAL antes y después de la simulación gastrointestinal y se realizó un análisis sensorial.

Los resultados mostraron que la incorporación de suero fermentado, almidón de papa y BAL permite obtener películas comestibles flexibles y de un ligero color blanquecino, mostrando que la luminosidad de las películas se afectó por la composición. Por otro lado, la población de *Lactobacillus* en las PC fue entre 7 y 8 ciclos logarítmicos (CL), después de la simulación intestinal existió un aumento de las BAL entre 0.72 y 1.67 CL debido a que el pH del fluido gástrico desintegró a la PC y por tanto liberó a las BAL.

Por otro lado, la aplicación de PC en queso tipo Manchego generó en estos un color blanquecino-opaco derivado de la presencia de suero de leche fermentado. La población de *L. acidophilus* y *L. rhamnosus* después del almacenamiento a 5°C se mantuvo por arriba de 6 CL, indicando que la temperatura de almacenamiento no afectó la viabilidad de los microorganismos. Finalmente, la evaluación sensorial de queso con y sin películas mostró un grado de me gusta y me gusta mucho en los 3 atributos evaluados (olor, sabor y textura).

## 1. INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo, la creciente demanda de los consumidores por adquirir alimentos frescos ha llevado a la industria alimentaria a desarrollar empaques alternativos, que aseguren la calidad de los alimentos y reduzcan el impacto en el medio ambiente. De esta manera, las películas y recubrimientos comestibles han ganado una consideración significativa en los últimos años, debido a su bajo costo y versatilidad para incorporar compuestos funcionales, los cuales contribuyen a la conservación del alimento y a la vez, producen beneficios al consumidor (Hashemi *et al.*, 2022). Recientemente, compañías enfocadas en la investigación de mercados, mencionan que el mercado de empaques comestibles podría tener un valor de 2,140 millones de dólares para el año 2030, con una tasa de crecimiento anual de 6.79 % frente a 783.32 millones del 2021 (Wai *et al.*, 2022).

Las películas comestibles (PC) consisten en una capa delgada preformada, adicionada de compuestos comestibles (generalmente hidrocoloides, proteínas y lípidos) que se aplican a los productos alimenticios, para aumentar su resistencia y prolongar su vida útil (Díaz-Montes y Castro-Muñoz, 2021; (Chen *et al.*, 2022). Además, las PC pueden ser adicionadas con compuestos funcionales, entre los que destacan probióticos, prebióticos, compuestos bioactivos, vitaminas, entre otros; la incorporación de probióticos a PC se ha estudiado en los últimos años, debido a los beneficios que otorgan a la salud de los consumidores, principalmente a nivel gastrointestinal y por su capacidad de inhibir microorganismos causantes del deterioro sobre todo en alimentos perecederos. En este sentido, productos como los quesos, los cuales suelen proporcionar ambientes ricos en nutrientes, favorecen el crecimiento de microorganismos indeseables, provocando que puedan deteriorarse rápidamente (Pop *et al.*, 2020), dando como resultado la formación de malos sabores y olores, así como cambios en su textura y apariencia. Es por esto, que el objetivo de este trabajo fue, evaluar la vida útil de queso tipo Manchego empacado con PC a base de almidón de papa, suero de leche y bacterias ácido-lácticas.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Deterioro de los alimentos**

#### **2.1.1. Definición**

El deterioro de los alimentos es el proceso en el que un producto alimenticio sufre alteraciones negativas de sus atributos de calidad que lo vuelven inadecuado para su consumo. La FAO (2012) afirma que aproximadamente un tercio de los alimentos producidos en el mundo para el consumo humano se pierde cada año debido a un deterioro, lo que equivale a aproximadamente 1,300 millones de toneladas al año. Esto representa una pérdida de recursos, así como una contaminación significativa por las emisiones de gases de efecto invernadero durante su producción.

#### **2.1.2. Tipos de deterioro de alimentos**

##### **2.1.2.1 Deterioro físico**

Un alimento experimenta deterioro físico cuando su superficie o capa protectora sufre modificaciones por golpes, cortes o magulladuras durante su manipulación, procesado y almacenamiento, afectando su estructura e integridad y resultando en una alteración acelerada. La presencia de partículas u objetos de suciedad en los productos alimenticios también puede provocar este tipo de deterioro y, por lo tanto, un rechazo por parte del consumidor. No obstante, los factores físicos como la temperatura, humedad, actividad del agua y presión también pueden provocar el deterioro de los alimentos por un control inadecuado. En este sentido, las alteraciones físicas desempeñan un papel importante como desencadenantes de otros tipos de alteraciones fisicoquímicas causadas por la congelación, quema o secado (Coll *et al.*, 1999). Así, la posibilidad de deterioro y contaminación química o microbiana aumenta debido a que la capa exterior protectora del alimento ya se encuentra negativamente modificada y los microorganismos pueden ingresar al alimento más fácilmente.

##### **2.1.2.2 Deterioro químico**

Una gran variedad de reacciones químicas también puede conducir al deterioro de los alimentos. Cada reacción puede involucrar diferentes reactivos o sustratos, según el alimento y las condiciones específicas de manipulación, procesamiento y almacenamiento (Fennema y Tannenbaum, 1992). En la Tabla 1 se muestran las

reacciones químicas más significativas implicadas en el deterioro de los alimentos, así como algunos ejemplos en dónde se ven reflejados sus efectos.

**Tabla 1.** Reacciones químicas y bioquímicas que contribuyen al deterioro y/o calidad alimentaria.

<b>Tipo de reacción</b>	<b>Ejemplos</b>
Pardeamiento no enzimático	Alimentos horneados
Pardeamiento enzimático	Frutas cortadas o golpeadas
Oxidación	Lípidos (sabores extraños), degradación de vitaminas, decoloración de pigmentos, proteínas (pérdida de valor nutritivo)
Hidrólisis	Lípidos, proteínas, vitaminas, carbohidratos, pigmentos
Interacciones con metales	Formación de complejos (antocianinas), pérdida de magnesio de la clorofila, oxidación catalítica
Isomerización de los lípidos	Cis-trans; sin conjugado-conjugados
Ciclización de lípidos	Ácidos grasos monocíclicos
Polimerización de lípidos	Formación de espuma durante la fritura profunda
Desnaturalización proteica	Coagulación de la clara de huevo, inactivación enzimática
Formación de enlaces cruzados proteicos	Pérdida de valor nutritivo durante el procesado alcalino

Síntesis de polisacáridos	En los productos vegetales después de cosechados
Cambios glucolíticos	Tejidos animales post mortem, tejidos vegetales postcosecha.

---

(Tomada de Fennema y Tannenbaum, 1992).

Las alteraciones químicas más destacadas que ocurren durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos son la oxidación de lípidos (rancidez) y el pardeamiento enzimático, puesto que cuando los alimentos de origen animal o vegetal se eliminan de su fuente natural, los cambios químicos comienzan rápidamente a deteriorar la estructura de los alimentos. En este sentido, las reacciones químicas alteran la calidad comestible, incluido el deterioro del color, la apariencia, la textura, el aroma, el sabor, la nutrición, la seguridad y las propiedades funcionales (Erkmen y Bozoglu, 2016).

### **2.1.2.3 Deterioro microbiológico**

Diversos microorganismos existen naturalmente en muchos alimentos, sin embargo, cuando se exponen a condiciones de almacenamiento inadecuadas se favorece el deterioro microbiano, en donde los microorganismos pueden multiplicarse rápidamente y liberar toxinas peligrosas incluso si los alimentos que se consumen se cocinan a una temperatura segura. Los grupos de microorganismos causantes de deterioro son bacterias, levaduras y hongos, siendo las bacterias las principales responsables de algunos de los eventos de deterioro más rápidos y evidentes en alimentos. No obstante, aunque el crecimiento de levaduras y mohos sea generalmente más lento que el de las bacterias, cuentan con una amplia capacidad de utilizar una variedad de sustratos y una tolerancia a condiciones más extremas que las bacterias (vegetativas), convirtiéndolos en formidables agentes de descomposición (Petruzzi *et al.*, 2017).

En este sentido, Erkmen y Bozoglu (2016) afirman que el crecimiento microbiano en un alimento ocurre con el metabolismo de nutrientes, como carbohidratos, compuestos proteicos, compuestos nitrogenados no proteicos, lípidos por hidrólisis, por fermentación y por putrefacción, desencadenando cambios inaceptables.

### **2.1.3. Principales alimentos que sufren algún tipo de deterioro**

#### **2.1.3.1 Productos lácteos**

La leche tiene un proceso de deterioro único debido a su alto contenido de lactosa, grasa, proteína y por las condiciones en las que se almacena. A medida que aumenta el crecimiento de microorganismos, los componentes de la leche experimentan distintos cambios que conducen a subproductos en mal estado (Lu y Wang, 2017). Magar (2021) explica que los defectos en la leche por deterioro microbiano se pueden reflejar en sabores desagradables, producción de gas, producción de ácido láctico (acidificación), proteólisis, lipólisis con desarrollo de rancidez y cuajados.

Los microorganismos predominantes que provocan el deterioro de la leche y sus productos derivados pueden variar ampliamente según una combinación de factores como el tipo de leche y producto lácteo, el método de procesamiento, la temperatura de almacenamiento, el pH, la concentración de oxígeno y la fuente de contaminación (Lu y Wang, 2017). Estos incluyen especies bacterianas como *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, coliformes, entre otros.

#### **2.1.3.2 Frutas y hortalizas postcosecha**

Las frutas y hortalizas frescas son los productos más susceptibles al deterioro postcosecha y por consiguiente a graves pérdidas. Las razones incluyen cambios fisiológicos como la senescencia y maduración acelerada, daños mecánicos causados por magulladuras debidas a roces, comprensión o impactos agresivos, daño químico y causas patológicas como la descomposición por microorganismos (InfoAgro, 2019).

Las bacterias pertenecientes a los géneros *Erwina* y *Pseudomonas* son las principales causantes de pudriciones en frutas y hortalizas. De igual manera, diferentes tipos hongos fitopatógenos pueden desarrollarse productos ya dañados, incluidos *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Penicillium italicum*, *P. digitatum*, *P. expansum*, *Monilia fructicola*, *M. laxa*, *Rhizopus stolonifer*, *Botryodiplodia theobromae*, etc. (Youssef et al., 2022).

### **2.1.3.3 Cárnicos**

El deterioro de la carne puede presentarse debido a tres causas fundamentales, la oxidación, la autólisis enzimática y el crecimiento microbiano. En la carne de vaca, cerdo o de aves los fosfolípidos de las membranas celulares o mitocondriales son muy oxidables debido a su alto contenido de ácidos grasos insaturados. Por otro lado, en la carne fresca la oxidación no limita su conservación en frío, sin embargo, en la carne triturada, el enranciamiento aparece a los dos o tres días de su conservación (Coll *et al.*, 1999). Los principales defectos incluyen sabores amargos, decoloración, producción de gas y disminución del pH (Borch *et al.*, 1996).

La supervivencia y el crecimiento de microorganismos en la carne como *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alteromonas*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas* y *Streptococcus*, están influenciados por la composición de la atmósfera que rodea la carne, así como de los nutrientes que contiene (Magar, 2021).

### **2.1.4. Métodos de control de deterioro**

Las diferentes causas de deterioro en los alimentos pueden generar graves consecuencias para la salud de los consumidores, sin embargo, la industria alimentaria ha desarrollado métodos de control de deterioro, clasificados en físicos y químicos, con el objetivo de mejorar la seguridad y vida útil de diferentes productos alimenticios.

#### **2.1.4.1 Métodos físicos de control de deterioro**

Los métodos físicos están destinados principalmente a extender la estabilidad de los alimentos, al ralentizar o suprimir los mecanismos de deterioro mediante el cambio de parámetros relevantes. Dentro de esta clasificación se encuentran los tratamientos térmicos como la esterilización comercial, pasteurización y el procesamiento a ultra alta temperatura (UHT) (Lu y Wang, 2017). Otros métodos involucrados para prolongar aún más la vida útil de los alimentos son la microfiltración y el procesamiento a alta presión, bastante útil para eliminar bacterias sobre todo esporuladas.

Por otro lado, está el uso de bajas temperaturas como la refrigeración y congelación, que reducen la actividad microbiana. La refrigeración a temperaturas inferiores a 5 °C ralentiza el crecimiento de microorganismos y mantiene los alimentos frescos durante

unos días. La congelación a -10 °C detiene el crecimiento microbiano, pero generalmente no mata los microorganismos y mantiene los alimentos frescos por meses (Choramo, 2022).

Otros métodos físicos son la radiación ionizante como los rayos X, los rayos gamma, y la radiación ultravioleta tipo C (264nm), métodos que tienen gran poder germicida y por ende se puede utilizar en ciertos alimentos para reducir las bacterias patógenas y prolongar la calidad de los alimentos frescos perecederos sin alterar su contenido nutricional (Andrews *et al.*, 1998).

#### **2.1.4.2 Métodos químicos de control de deterioro**

El propósito de usar un agente químico como conservante es retardar el deterioro de los alimentos causado por microorganismos. Existen varios aditivos tradicionales que pueden emplearse como métodos químicos, los cuales incluyen el cloruro de sodio, la sacarosa, el vinagre y las especias (orégano, tomillo, clavo de cardamomo, cúrcuma, comino, entre otros). Cada ingrediente tiene una forma específica de afectar a los microorganismos. Por ejemplo, el cloruro de sodio puede provocar un aumento de la presión osmótica, el encogimiento de las células y la deshidratación a través de la extracción de agua (García-García y Searle, 2015). Una concentración elevada de sacarosa afecta la actividad de agua de los alimentos haciendo que esta disminuya, lo cual es crucial para el desarrollo y proliferación de microorganismos. El vinagre crea un ambiente ácido para el crecimiento de microorganismos y las especias retrasan el desarrollo de microorganismos, debido a la presencia de sustancias antimicrobianas en estas (Surekha y Reddy, 2014).

Por otro lado, a escala industrial se suelen incluir aditivos químicos como los benzoatos, sorbatos, nitritos, sulfitos, entre otros, los cuales al ser agregados a los alimentos pueden alterar la membrana celular de los microorganismos, sus actividades enzimáticas o sus procesos genéticos, no sin antes emplear un método físico de control de deterioro. Uno de los aditivos químicos más usados es el benzoato de sodio, se usa para eliminar microorganismos que no pueden sobrevivir en ambientes ácidos e inhibe el crecimiento de levaduras (Walczak-Nowicka y Herbet, 2022). La importancia del nitrito de sodio radica en la inhibición de las bacterias formadoras de esporas basada principalmente en

la liberación de ácido nitroso y óxidos de nitrógeno (Surekha y Reddy, 2014). El dióxido de azufre y los sulfitos son más eficaces contra las bacterias que mohos y levaduras, así, debido a su fuerte poder reductor, baja la tensión de oxígeno por debajo del nivel requerido por los organismos aeróbicos y por la acción directa sobre ciertas enzimas, inhibiendo a los microorganismos (Prabhakar y Mallika, 2014).

## **2.2 Productos lácteos**

### **2.2.1. Generalidades**

La leche es una mezcla heterogénea definida como una emulsión de proteínas, grasas, vitaminas, minerales y carbohidratos disueltos, especialmente lactosa, en agua (Bhavbhuti, 2015), la leche se ha convertido en un producto básico, debido a su alto contenido en proteínas, grasas y carbohidratos. En 2021, el valor del mercado lácteo en todo el mundo se estimó en unos 871 mil millones de dólares, y se prevé que aumente a 1,128 mil millones de dólares para 2026 (Shahbandeh, 2022).

De acuerdo con la FAO (2022), en 2022 la producción mundial de leche se pronosticó en alrededor de 930 millones de toneladas, un 0.6% más que en 2021, confirmando la creciente demanda del sector lácteo. Así, debido a que la producción de leche juega un papel importante en el procesamiento, una amplia variedad de subproductos se sigue desarrollando, entre los que destacan: mantequilla, queso, crema, leche en polvo, yogur, suero de leche, helados, entre otros.

### **2.2.2 Producción de la leche**

Antes de que la leche se transforme en cualquier subproducto, se llevan a cabo una serie de pasos para su producción, en donde se deben cumplir ciertos requisitos reglamentarios y de calidad. En primera instancia, la leche cruda se recolecta y enfría a una temperatura particular en los llamados silos de leche para prepararla para su posterior procesamiento. Posteriormente, la leche se filtra y clarifica para eliminar residuos como polvo, tierra y los coágulos de proteínas y así evitar la obstrucción de los equipos posteriores (Bella y Rao, 2021). La eliminación de la nata o el desnatado se realiza mediante centrifugación, seguido de una estandarización para fijar el contenido de grasa de la leche. Para eliminar microorganismos patógenos se realiza la pasteurización, aplicando diferentes procesos, generalmente a 72–75 °C durante 15 s o

a 61.5 °C durante 30 min. Así pues, la leche pasa al proceso de homogeneización y es almacenada en tanques para su posterior transformación en diferentes derivados lácteos o simplemente pasa al proceso de embalaje y almacenamiento apropiado como leche tratada o pasteurizada (Singh y Bennett, 2002).

### **2.2.3 Propiedades nutricionales de la leche y sus derivados**

La leche y sus derivados son alimentos ricos en nutrientes que proporcionan energía y proteínas de alta calidad, con una gama de micronutrientes esenciales, como calcio, magnesio, potasio, zinc y fósforo (Pfeuffer y Watzl, 2018). Por lo que, son considerados una buena fuente de minerales, mismos que favorecen la salud ósea y además, reducen moderadamente la absorción de grasas (Decker y Park, 2010). Así mismo, contienen vitaminas hidrosolubles entre las que destacan: tiamina (B1), riboflavina (B2) y cobalamina (B12) y dependiendo del contenido de grasa, contiene vitaminas A y D (Fox *et al.*, 2015).

De igual manera, tanto los productos lácteos enteros como los descremados o bajos en grasa pueden ser buenas fuentes de proteínas, calcio, vitaminas B y vitamina D. Los productos lácteos que se someten a fermentación, como el yogur y algunos quesos, tienen mayor aporte de calcio y sodio, además contienen bacterias ácido-lácticas saludables, que pueden beneficiar la salud digestiva (Górska-Warsewicz *et al.*, 2019). La Tabla 2 muestra una comparativa de los nutrientes aportados en distintos productos lácteos.

**Tabla 2.** Aporte de nutrientes de algunos productos lácteos comúnmente consumidos.

	Leche entera	Yogur cremoso	Queso blanco
Energía (Kcal)	60	110	150
Proteínas (g)	3.0	3.0	11
Carbohidratos (g)	5.0	11.0	4
Grasa (g)	3.0	6.0	10
Sodio (mg)	30	0	70
Calcio (mg)	110	130	150
Hierro (mg)	0.2	0	0
Fósforo (mg)	80	90	0
Vitamina A (U.I)	200	0	0
Vitamina B1 (mg)	0.1	0	0
Vitamina B2 (mg)	0.2	0	0

(Tomada de Licata, 2023)

El perfil de lípidos de la leche y sus derivados consta de docenas de tipos de acilgliceroles, colesteroles y ácidos grasos. Stefanov *et al.* (2010) afirman que las grasas saturadas componen la mayor parte del contenido total de grasa en la leche, aunque la composición específica de la leche varía considerablemente según distintos factores como el método de alimentación animal, la genética, el medio ambiente, la etapa de lactancia y el método de procesamiento de cada producto.

#### **2.2.4. Reacciones que afectan a los productos lácteos**

Una de las causas de deterioro en la leche y los productos lácteos se le atribuye a la presencia de bacterias psicotróficas que se desarrollan en temperaturas inadecuadas de almacenamiento o procesamiento (Erkmen y Bozoglu, 2016), desencadenando las reacciones de proteólisis o lipólisis.

##### **2.2.4.1 Proteólisis**

La proteólisis es el proceso enzimático mediante el cual las proteínas se degradan en componentes polipeptídicos o aminoácidos. La leche cruda contiene diferentes enzimas proteolíticas, que pueden provocar alteraciones en los constituyentes de la leche e influir en la calidad de los productos lácteos finales. En la mayoría de los casos, los suministros de leche cruda contienen proteasas termoestables o microorganismos capaces de producirlas. Especies psicotróficas como *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Micrococcus* y *Pseudomonas* actúan principalmente durante el almacenamiento de la leche, antes del tratamiento térmico, donde producen proteasas extracelulares que hidrolizan proteínas y así dan lugar a la proteólisis (Erkmen y Bozoglu, 2016). De esta manera, la hidrólisis de proteínas es favorecida a bajas temperaturas y produce sabores amargos, afrutados y pútridos debido a la liberación de péptidos.

La proteólisis en la leche esterilizada mediante UHT se desarrolla, cuando las bacterias psicotróficas en la leche cruda producen proteasas, estas pueden atacar a las caseínas y a las proteínas del suero, lo que provoca la coagulación de la leche y el desarrollo de sabores amargos (Grieve y Kitchen, 1985). Dado que la proteína de caseína es la estructura principal de productos lácteos como el queso, la proteólisis puede hacer que el queso se ablande o se descomponga con el tiempo (Sousa *et al.*, 2001).

##### **2.2.5.1 Lipólisis**

La lipólisis es definida como la hidrólisis enzimática de las grasas por las enzimas lipasas. Las bacterias psicotróficas como *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus* y *Staphylococcus* producen lipasas extracelulares que hidrolizan la grasa de la leche (Erkmen y Bozoglu, 2016). En este sentido, se producen ácidos grasos libres, que tienen efectos tanto perjudiciales como deseables en la leche como son los productos lácteos ricos en grasa como la nata y la mantequilla. De acuerdo con

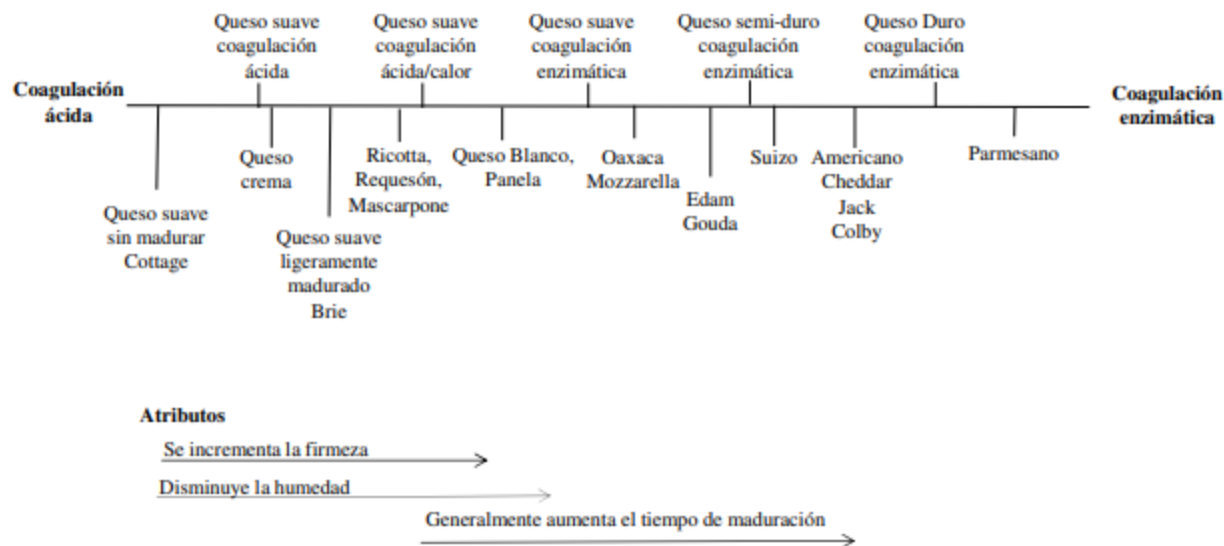
(Deeth, 2022), el efecto más común de la lipólisis es la presencia de sabores desagradables, derivado de la presencia de ácidos grasos de cadena corta (particularmente, el ácido butírico y caproico), sobre todo cuando están presentes en altas concentraciones, estos también suelen producir aldehídos y cetonas. (Erkmen y Bozoglu, 2016). De esta manera, la lipólisis en la leche y los productos lácteos provoca olores y sabores indeseables causando una preocupación constante en la industria láctea.

### **2.2.5 Queso**

El queso es un producto derivado de la leche que se obtiene por la coagulación de la leche cruda o pasteurizada, constituido esencialmente por la caseína (FAO, 2018), una sustancia semisólida que se separa parcialmente del suero y que se produce de forma natural si la leche no se usa con prontitud. El queso ocupa el segundo lugar en la industria láctea después de la leche, por lo que se espera que el mercado mundial del queso crezca de 249, 420 millones de dólares en 2023 a 323.75 mil millones en 2027 de dólares en 2026 (Research and Markets, 2022).

Las características nutricionales y sensoriales de los quesos dependen de las propiedades y cualidades nutricionales de la leche con la que son elaborados, así como del procedimiento en su elaboración y de los microorganismos utilizados (Barrón *et al.*, 2019). El proceso general de elaboración del queso se lleva a cabo a partir de la coagulación de la caseína, ya sea por la acción enzimática de una sustancia o enzima coagulante (cuajo) u otro coagulante de tipo ácido como el ácido láctico (Ramírez-López y Vélez-Ruíz, 2012). Posteriormente, la etapa del desuerado del gel tiene como objetivo eliminar el agua o lactosuero del coágulo que se haya formado. Las etapas siguientes varían dependiendo el tipo de queso, pero generalmente corresponden al moldeado, prensado, salado, oreado y finalmente su empaquetado.

Todos los tipos de quesos ya sean de cuajo o curados al ácido, se pueden clasificar en blandos, semiblandos (semiduros), duros o muy duros según su contenido de humedad. La Figura 1 muestra la clasificación del queso de acuerdo con dichos criterios.



**Figura 1.** Criterios de clasificación del queso (Tomada de Ramírez-López y Vélez-Ruíz, 2012).

Así, en relación con su grado de humedad, los quesos blandos o suaves suelen tener aproximadamente 55%, los quesos semiduros entre un 44 y 55% y los quesos duros entre un 20 y 42% (Ramírez-López y Vélez-Ruíz, 2012).

### 2.2.5.1 Queso tipo Manchego

El queso Manchego es un queso español con denominación de origen protegida, y se elabora exclusivamente con leche de oveja de raza manchega de la región “La Mancha” (Taborda et al., 2007). En México, se utiliza la denominación queso “tipo Manchego” para el producto que es elaborado a partir de la leche pasteurizada de vaca de origen nacional y de una mezcla de quesos, cultivos lácticos, colorantes y aditivos. Así, se somete a los procesos de coagulación, cortado, desuerado, fermentado, salado, prensado y madurado, mínimo por 7 días y debe cumplir con una coloración ligeramente amarilla y una consistencia semidura (PROFECO, 2020).

El queso tipo Manchego se caracteriza principalmente por tener un gran contenido de proteínas y por ser una fuente rica en calcio, además de contener las vitaminas A, D y E, fundamentales para diferentes procesos metabólicos de cultivos lácticos (Llorens, 2019). De igual manera, es considerado como un queso rico en grasas sin embargo también se caracteriza por ser bajo en lactosa y de fácil digestión (Kassell, 2016).

Si este tipo de queso se almacena de una manera adecuada puede tener una vida útil de hasta 3 meses, no obstante, una vez abierto tiene una vida útil mucho más corta de semanas o días (Foodie Champ, 2022). Así, al ser un alimento perecedero, también es un alimento susceptible al deterioro acelerado a cargo de microorganismos y reacciones químicas que afectan su calidad.

Por consiguiente, para combatir la creciente necesidad y demanda de calidad y seguridad en los alimentos y prevenir su deterioro acelerado, se han llevado a cabo avances significativos en la tecnología de envasado de alimentos, como lo es el desarrollo de películas comestibles.

## **2.3 Películas comestibles**

### **2.3.1 Definición**

Las películas comestibles (PC) son capas delgadas de materiales comestibles que recubren o envuelven un producto alimenticio para actuar como una barrera para el entorno que lo rodea (Janes y Dai, 2012). Además, pueden servir como portadores de agentes antimicrobianos naturales o químicos, antioxidantes, enzimas, vitaminas o minerales, probióticos, prebióticos, entre otros.

A pesar de que un recubrimiento comestible puede definirse también como una capa delgada de material comestible, la principal diferencia entre una película y un recubrimiento comestible es que el recubrimiento se aplica en forma líquida sobre el alimento, generalmente sumergiendo el producto en una sustancia generadora de la solución formada por la matriz estructural y la película comestible primero se elabora como lámina sólida, para después aplicarla como envoltura sobre el producto alimenticio (Falguera *et al.*, 2011).

Sin embargo, los materiales de los empaques comestibles normalmente no están destinados a reemplazar por completo los empaques convencionales. Más bien, se trata de mejorar la conservación de los atributos de calidad de los alimentos mediante el uso de empaques comestibles primarios junto con empaques no comestibles secundarios

para agregar protección adicional contra la atmósfera y evitar la contaminación por microorganismos o partículas extrañas (Janjarasskul y Krochta, 2010).

### 2.3.2 Componentes para su elaboración

Las PC generalmente se preparan disolviendo el ingrediente comestible en agua, alcohol o una mezcla de solventes. Así mismo, se suele añadir un plastificante a la solución para mejorar la flexibilidad y la elasticidad. Además, se suelen adicionar aditivos, como agentes antimicrobianos, colores y sabores, que se pueden combinar con la solución para obtener propiedades y funcionalidades específicas de la película en función de la aplicación final (Janjarasskul y Krochta, 2010).

Las PC se clasifican en cuatro categorías, dependiendo los principales materiales utilizados para su elaboración: hidrocoloides, proteínas, lípidos y películas compuestas (Figura 2).



**Figura 2.** Clasificación de los principales materiales de las películas comestibles (Tomada y adaptada de Trinetta, 2016).

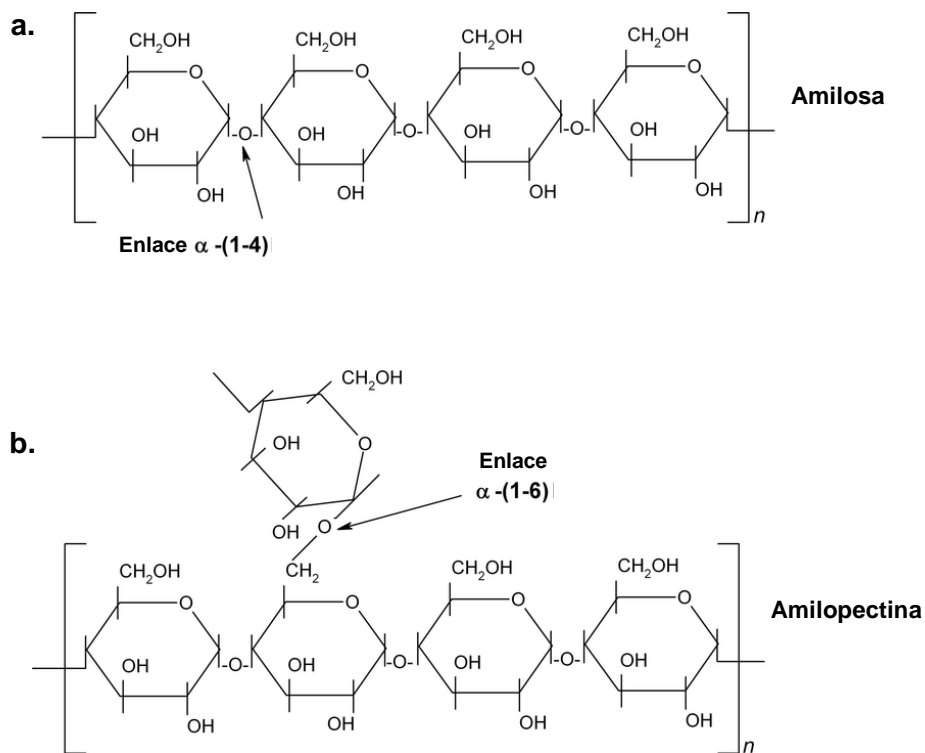
### **2.3.2.1 Hidrocoloides**

Los hidrocoloides son polímeros hidrofílicos de origen vegetal, animal, microbiano o sintético que generalmente contienen muchos grupos hidroxilo (Janes y Dai, 2012), presentan una gran viscosidad cuando se disuelven en agua, lo que genera al sistema una sensación espesa. Trinetta (2016), afirma que las películas resultantes suelen tener un aspecto inodoro, insípido, flexible, transparente, resistente a aceites y grasas, soluble en agua y poseen buenas propiedades de barrera al oxígeno, dióxido de carbono y lípidos. Dentro de este grupo se encuentran diferentes tipos de almidones que son ampliamente utilizados para la elaboración de películas, pues son considerados como un recurso renovable, rentable y ampliamente disponible. Además, Jiménez *et al.* (2012) afirman que los almidones nativos y modificados juegan un papel importante en la industria alimentaria porque pueden cambiar sus propiedades físicas en la formación de diferentes películas. Dentro de los hidrocoloides más utilizados se encuentra el almidón de papa.

#### **2.3.2.1.1 Almidón de papa**

El almidón es un polímero no tóxico que se obtiene de manera natural de las plantas y es considerado como una fuente de alimento, por lo que se puede utilizar de forma segura como material de empaque de alimentos (Bertoft y Blennow, 2016).

Algunas fuentes de obtención del almidón son principalmente tubérculos como la papa o cereales, en el caso de la papa, el almidón se encuentra en forma de gránulos distintos de aproximadamente 10 a 100  $\mu\text{m}$  de diámetro (Hoover, 2001). Los gránulos están formados por dos polisacáridos que consisten exclusivamente en glucosa como componente monomérico. El componente minoritario del almidón es la amilosa (Figura 3a), por lo que la papa contiene de un 20 a un 27 % de amilosa del peso del almidón total (Karlsson *et al.*, 2007). La amilopectina, representada en la Figura 3b, es el componente principal de los almidones en general, y en la papa normalmente constituye entre el 70 y 80% del peso (Hoover, 2001).



**Figura 3.** Estructura química de la amilosa (a) y la amilopectina (b) (Tomada y modificada de (Visakh *et al.*, 2012).

En comparación con otros almidones comerciales, el almidón de papa también tiene algunas propiedades únicas que se atribuyen directamente a sus estructuras granulares y moleculares (Bertoft y Blennow, 2016).

### 2.3.2.2 Proteínas

Las PC a base de proteína se forman a partir de soluciones o dispersiones de la proteína a medida que se evapora el solvente, el cual generalmente se disuelve en agua, etanol o mezclas de etanol y agua (Bourtoom, 2008). Las películas de proteínas son buenas barreras contra el oxígeno a bajas humedades relativas, así como buenas candidatas para el transporte de agentes antimicrobianos y antioxidantes, pero no resisten la difusión del agua, a diferencia de las películas de polisacáridos (Janes y Dai, 2012). En este sentido, se ha demostrado que el suero de leche contiene un elevado porcentaje de proteínas hidrosolubles, por lo que a través de un tratamiento con distintas tecnologías pueden obtenerse concentrados proteicos como suero en polvo, suero en polvo desmineralizado, lactosa en polvo, suero en polvo deslactosado y suero reducido en

lactosa, con una amplia aplicación en la industria alimentaria, como lo es la elaboración de PC (Parzenese, 2013).

#### **2.3.2.2.1 Suero de leche**

El líquido que queda después de la eliminación de la grasa y la caseína de la leche por coagulación isoeléctrica o inducida por cuajo de la caseína, se denomina suero de leche o lactosuero (Fox *et al.*, 2017). Los tipos de suero se clasifican dependiendo de la eliminación de la caseína, el suero ácido resulta del proceso de fermentación o adición de ácidos orgánicos o minerales, que coagulan la caseína y generalmente no contiene grasa. El suero dulce está basado en la coagulación por la enzima renina a pH 6.5 y su composición varía según su origen (Parra-Huertas, 2009).

Las proteínas del lactosuero son proteínas lácteas solubles, que representan aproximadamente el 20% de las proteínas lácteas totales. La  $\beta$ -lactoglobulina, la  $\alpha$ -lactoalbúmina, la proteasa, la albúmina sérica y las inmunoglobulinas forman las proteínas del suero bovino y cuentan con características funcionales, como la solubilidad en un amplio rango de pH, que las convierten en un ingrediente ideal para la formulación de PC.

#### **2.3.2.3 Lípidos**

De acuerdo con Trinetta (2016), las PC a base de lípidos se desarrollaron específicamente para limitar la migración de humedad dentro de los alimentos, debido a su polaridad relativamente baja. La distribución de los grupos químicos, la longitud de las cadenas alifáticas y el grado de insaturación, afectan la polaridad de los lípidos, por lo tanto, podrían comportarse de diferentes maneras con respecto a la transferencia de humedad (Dehghani *et al.*, 2017). Con el fin de aumentar la flexibilidad de las PC, se han utilizado ampliamente diversos plastificantes, el glicerol es uno de los más seleccionados, debido a que también puede aumentar la permeabilidad de la película al gas, al vapor de agua y los solutos (Jouki *et al.*, 2013).

##### **2.3.2.3.1 Glicerol**

El glicerol es un compuesto alcohólico con tres grupos hidroxilo, producido por la hidrólisis de los triglicéridos, o como subproducto durante la fabricación de jabón y

biodiesel (American Chemical Society, 2007). La fórmula química es 1,2,3 propanotriol, 1,2,3 trihidroxipropano o  $C_3H_8O_3$ .

El glicerol es un plastificante hidrofílico y, cuando se agrega en un nivel adecuado con respecto al contenido de un biopolímero puede reducir las fuerzas intermoleculares y aumentar la movilidad de sus cadenas. En este sentido, generalmente es utilizado para mejorar las propiedades mecánicas de las PC, ya que aumenta su capacidad a la flexibilidad, además de que no afecta el color (Ghasemlou *et al.*, 2011).

#### **2.3.2.4 Películas compuestas**

La combinación entre polímeros para formar películas compuestas se debe a la interacción de proteínas y carbohidratos, proteínas y lípidos, carbohidratos y lípidos, o polímeros sintéticos y polímeros naturales (Shit y Shah, 2014). El objetivo principal de producir una película compuesta es mejorar la permeabilidad y las propiedades mecánicas de acuerdo con la necesidad de una aplicación específica.

Así, debido a que las películas fabricadas sólo con lípidos carecen de integridad estructural y son quebradizas, a menudo se incorporan a matrices de polisacáridos o proteínas para formar películas compuestas para obtener sistemas de empaquetado mecánicamente sólidos (Shit y Shah, 2014). La incorporación de lípidos en películas y recubrimientos comestibles también puede mejorar la cohesión y la flexibilidad creando mejores barreras contra la humedad (Desobry y Arab-Tehrany, 2014).

#### **2.3.3 Aplicaciones en los alimentos**

Las PC han sido aplicadas en diferentes alimentos. Por ejemplo, en productos lácteos pueden reemplazar las capas comerciales no comestibles, como la parafina o el acetato de polivinilo (Galus y Kadzińska, 2015). En las frutas y verduras recién cortadas, pueden actuar como barreras contra la humedad o los gases, lo que puede retrasar las reacciones de pardeamiento (Kandasamy *et al.*, 2021). En carne y productos cárnicos, Galus y Kadzińska (2015) mencionan que pueden presentar actividad antimicrobiana, evitando el crecimiento de microorganismos. En pescados o mariscos crudos, se pueden usar para controlar los microorganismos patógenos o de deterioro en su superficie (Janes y Dai, 2012).

La Tabla 3 muestra algunas de las aplicaciones en alimentos de las películas comestibles a base de distintos materiales.

**Tabla 3.** Aplicaciones de películas comestibles en productos alimenticios.

<b>Material comestible</b>	<b>Producto alimenticio</b>	<b>Función</b>	<b>Referencia</b>
Alginato de sodio con agentes antipardeamiento	Manzana recién cortada	Mejora de la vida útil al reducir el crecimiento microbiano y el índice de pardeamiento	(Guerreiro <i>et al.</i> , 2017)
Carragenano k	Calabaza	Mejora el color, la actividad antimicrobiana y la retención de ácido ascórbico	(Genevois <i>et al.</i> , 2016)
Natamicina/ quitoligosacáridos	Queso	Reduce la pérdida de humedad e inhibe patógenos	(Ramos <i>et al.</i> , 2012)
Caseinato de potasio	Filete de pescado congelado	Mejorar las propiedades sensoriales	(Kilincceker <i>et al.</i> , 2009)
Almidón	Col de Bruselas	Prolongar la vida útil, optimizando la pérdida de peso, el color y la textura	(Viña <i>et al.</i> , 2007)
Quitosano/gelatina	Carne de res	Conservar el color, reduce la pérdida de	(Cardoso <i>et al.</i> , 2016)

		peso y oxidación de lípidos	
Derivados de celulosa	Papas fritas	Reduce la absorción de aceite, sin causar diferencias en la textura	(García <i>et al.</i> , 2004)
Derivados de celulosa	Huevo fresco	Menor pérdida de peso y mejora de la calidad de la albúmina	(Suppakul <i>et al.</i> , 2010)
Alginato/gelano/ <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12	Manzanas y papayas recién cortadas	Mejora en permeabilidad	(Tapia <i>et al.</i> , 2007)

---

### 2.3.4 Componentes adicionales: Agentes bioactivos

Las PC pueden ser portadoras de compuestos bioactivos como los agentes antimicrobianos, antioxidantes, probióticos, prebióticos, entre otros. Generalmente, los antimicrobianos y antioxidantes contribuyen a prolongar la vida útil de los alimentos y reducen el crecimiento de microorganismos en las superficies de los mismos (Ansorena *et al.*, 2018). Incluso, pueden enriquecerse con bacterias con efectos benéficos en humanos y animales, como las bacterias con capacidad probiótica, siempre y cuando mantengan su viabilidad a lo largo de la cadena de procesamiento y suministro de alimentos, así como dentro del tracto gastrointestinal humano (Espitia *et al.*, 2016).

## 2.4 Bacterias ácido-lácticas

### 2.4.1 Generalidades

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) son un grupo heterogéneo de microorganismos estrechamente relacionados filogenéticamente, que producen ácido láctico como uno de sus principales metabolitos (Devlieghere *et al.*, 2004). Son catalogadas como cocos o bacilos de longitud variable y de un grosor de 0.5-0.8  $\mu\text{m}$ , son Gram positivas, no esporuladas, catalasas negativas, anaerobias facultativas y tolerantes a los ácidos, por

lo que pueden crecer en pH bajo, aunque normalmente crecen en un pH de 4 y 4.5 (Pescuma *et al.*, 2008). A excepción de algunas especies de los géneros *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Carnobacterium*, las BAL no son patógenas y tienen un estado generalmente reconocido como seguro (GRAS) (Mozzi, 2016).

Las BAL tienen requerimientos nutricionales complejos entre los que destacan aminoácidos, péptidos, bases de nucleótidos, vitaminas, minerales, ácidos grasos y carbohidratos, componentes que suelen estar presentes en los nichos naturales que habitan. Además de los requerimientos nutricionales, la temperatura es uno de los factores más importantes que influyen en su crecimiento. Existe una temperatura óptima a la cual la velocidad de crecimiento es más alta y depende de las características del microorganismo utilizado, como también de las condiciones ambientales.

Las BAL son consideradas quimiotróficas, esto quiere decir que encuentran la energía requerida para todo su metabolismo a partir de la oxidación de compuestos químicos. La oxidación de azúcares constituye el principal producto de energía (Khalid, 2011). Estos microorganismos se encuentran en materiales vegetales y alimentos fermentados. Su capacidad para habitar diferentes nichos es un rasgo de su diversidad metabólica y adaptabilidad (Savadogo *et al.*, 2006).

## **2.4.2 Clasificación**

Las BAL se pueden clasificar principalmente de acuerdo con dos criterios, la temperatura y el tipo de metabolismo, respecto a la temperatura ideal de crecimiento se dividen en: mesófilas (20- 25°C) y termófilas (40-45°C); y con base al metabolismo, se clasifican en homofermentativas y heterofermentativas (Parra-Huertas, 2010).

### **2.4.2.1 Homofermentativas**

Las BAL homofermentativas fermentan la glucosa mediante la vía de Embden-Meyerhoff-Parnas a piruvato, que se convierte en ácido láctico mediante la enzima lactato deshidrogenasa. Bajo ciertas condiciones de crecimiento, como la limitación de carbono, el metabolismo homoláctico puede cambiar a un metabolismo ácido mixto donde se produce acetato, etanol y/o CO<sub>2</sub> además de lactato (Mozzi, 2016).

Dentro de las especies que caracterizan a este grupo de BAL se encuentran *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* y *Enterococcus* las cuales poseen las enzimas aldolasa y hexosa isomerasa (Parra-Huertas, 2010).

#### **2.4.2.2 Heterofermentativas**

Las BAL heterofermentativas fermentan la glucosa generalmente por la vía de la fosfocetolasa (pentosa fosfocetolasa o vía del 6-fosfogluconato) para formar solamente 50 % de ácido láctico. La fermentación de pentosas como la xilosa y la ribosa conduce a la formación de piruvato y acetyl-P y su posterior conversión a lactato y acetato, respectivamente. Las hexosas (glucosa, fructosa y manosa) se pueden convertir en lactato, CO<sub>2</sub> y etanol. El CO<sub>2</sub> es un producto de la degradación del 6-P-gluconato, que se produce durante la conversión de hexosas en pentosas (Mozzi, 2016).

Algunas de las especies heterolácticas que destacan son: *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, y ciertas especies de *Lactobacillus*, que contienen la enzima fosfocetolasa.

#### **2.4.3 Lactobacillus**

A pesar de que existen diferentes géneros de BAL en la naturaleza, las especies del género *Lactobacillus* son algunos de los taxones más importantes en la microbiología alimentaria y la nutrición humana, varias especies de este género son notablemente esenciales en la producción de alimentos fermentados y se utilizan como cultivos iniciadores o conservantes de alimentos (Salvetti *et al.*, 2012).

Los miembros del género *Lactobacillus* son no formadores de esporas, catalasa negativos, bacilos sacarolíticos obligados o cocobacilos generalmente caracterizados por un bajo contenido de GC (guanina y citosina). Generalmente tienen un metabolismo fermentativo, son aerotolerantes o anaeróbicos, acidúricos o acidófilos, mesofílicos y carecen de actividades hemo-dependientes (Cai *et al.*, 2012).

##### **2.4.3.1 Lactobacillus acidophilus**

*Lactobacillus acidophilus* es una de las especies más reconocidas del género *Lactobacillus* debido a la extensa comercialización de la especie en varios alimentos fermentados y suplementos dietéticos que promueven la salud. Morfológicamente, *L.*

*acidophilus* son bacilos Gram positivos, no formadores de esporas, con extremos redondeados, se presentan solos, en pares y en cadenas cortas. Las colonias en medios de agar suelen ser pequeñas (2 a 5 mm) con márgenes bien definidos, convexas, lisas, brillantes y opacas sin pigmentos (Cai *et al.*, 2012).

Se clasifican como termobacterias debido a su capacidad de crecer a 45 °C, además, pueden crecer en medios ligeramente ácidos con un pH inicial de 4.5, y poseen metabolismo homofermentativo. Aunque la mayoría de las cepas son bastante aerotolerantes, el crecimiento óptimo se logra en condiciones microaerófilas o anaeróbicas. La especie se adapta al crecimiento en sustratos orgánicos complejos, además, requiere no solo carbohidratos como fuente de carbono, sino también nucleótidos, aminoácidos y vitaminas. Son generalmente aceptados como probióticos (Selle *et al.*, 2014).

#### **2.4.3.2 *Lactobacillus rhamnosus***

*Lactobacillus rhamnosus* es una especie Gram positiva, homofermentativa y facultativamente anaerobia. De igual manera, morfológicamente se consideran bacilos que no forman esporas y aparecen en cadenas (Lakna, 2023). Pertenece a los organismos mesófilos, algunas cepas pueden crecer a temperaturas inferiores a 15 °C o superiores a 40 °C. El tamaño de esta célula es de 0.8 a 1.0 µm de ancho y de 2.0 a 4.0 µm y puede crecer en forma individual o en cadenas cortas. La especie requiere de una gran variedad de vitaminas, incluido ácido fólico, riboflavina, niacina, ácido pantoténico y de minerales como el calcio. El valor de pH inicial óptimo para su crecimiento se encuentra en el intervalo de 4.5 a 6.4 (Valík *et al.*, 2008).

*Lactobacillus rhamnosus* es una bacteria que existe naturalmente en el cuerpo, por lo que ha sido considerada una cepa probiótica, que ayuda a prevenir el crecimiento de bacterias dañinas en el sistema digestivo. Así mismo, *L. rhamnosus* se ha utilizado en la medicina alternativa para tratar o prevenir la diarrea causada por el rotavirus en bebés y niños (Multum, 2022).

### **2.5 Potencial probiótico de las bacterias ácido-lácticas**

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) son los principales microorganismos que se utilizan con fines probióticos y constituyen una parte fundamental de la microbiota intestinal del

ser humano (Li *et al.*, 2020). De esta manera, los probióticos son definidos como microorganismos vivos, ya sean bacterias o levaduras, que proporcionan efectos beneficiosos a la salud cuando se suministran en cantidades adecuadas. Especies de BAL como *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus*, y por otro lado *Bifidobacterium* se encuentran entre los probióticos más conocidos (Gerritsen *et al.*, 2011). Hellebois *et al.* (2020) afirman que algunos de los efectos beneficiosos habituales sobre el huésped son una mejora en la respuesta del sistema inmunitario, del tracto gastrointestinal, la prevención frente a infecciones, el fortalecimiento de la barrera intestinal, la resistencia a la colonización, la regulación del tránsito intestinal, entre otros.

En la industria alimentaria, las BAL con potencial probiótico son ampliamente utilizadas como iniciadores para lograr cambios favorables en textura, aroma, sabor y acidez. El primer paso en la selección de este tipo de cepas es la determinación de su clasificación taxonómica, que puede dar una indicación del origen, hábitat y fisiología de la cepa probiótica, puesto que estas características tienen importantes consecuencias en la selección de las nuevas cepas como lo aseguran Harzallah y Belhadj (2013). De igual manera, los experimentos *in vitro* son clave para seleccionar BAL con capacidad probiótica. Algunos de los criterios para ser considerados probióticos destacan: producción de sustancias antimicrobianas, patrones de resistencia a antibióticos, capacidad para inhibir patógenos conocidos, capacidad de adherirse a la mucosidad intestinal, supervivencia a la acción de los jugos gástricos y sales biliares, además de colonizar y proliferar a pH ácidos, así como mantener una población elevada  $1 \times 10^6$  UFC/g o mL (Monteagudo-Mera *et al.*, 2019).

## **2.6 Aplicaciones de las bacterias ácido-lácticas en películas comestibles**

Además de mejorar la seguridad y proteger las cualidades sensoriales y nutricionales de los alimentos, las películas comestibles funcionan como vehículos para la liberación de bacterias ácido-lácticas con capacidad probiótica dentro del organismo. Esto mejora la estabilidad y seguridad de los alimentos y, lo que es más importante, favorece la salud de los consumidores (Pavli *et al.*, 2018). En la Tabla 4 se muestran algunas especies del género *Lactobacillus* más comunes, que se han adicionado en películas comestibles y aplicado en alimentos.

**Tabla 4.** Aplicación de películas comestibles adicionadas con probióticos.

<b>Microorganismo</b>	<b>Composición de la película comestible</b>	<b>Alimento aplicado</b>	<b>Referencia</b>
<i>L. casei</i>	Aislado de proteína de suero	Tomate y uvas	Dianin <i>et al.</i> , 2019
<i>L. casei</i>	Carboximetilcelulosa y caseinato de sodio	Filetes de trucha	Mozaffarzogh <i>et al.</i> , 2020
<i>L. plantarum</i>	Alginato de sodio	Rebanadas de jamón	Pavli <i>et al.</i> , 2017
<i>L. plantarum</i>	Alginato de sodio y ácido lactobiónico	Queso cottage	Sáez-Orviz <i>et al.</i> , 2020a
<i>L. rhamnosus</i>	Gelatina e inulina	Fresa	Temiz y Özdemir, 2021

Tomada de Hashemi *et al.*, 2022.

Las interacciones entre los alimentos, componentes de las películas e ingredientes funcionales (probióticos), son determinantes para determinar la viabilidad de bacterias ácido-lácticas. Gran parte de las películas comestibles son mayormente conocidas por su empleo en frutas y verduras frescas (Hernalsteens, 2020), cuando otros productos básicos en la nutrición también podrían ser enriquecidos con este tipo de empaques, por ejemplo, el queso.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

El deterioro de alimentos ha provocado que la industria de alimentos busque alternativas para su control, además derivado de las tendencias por parte de los consumidores de adquirir alimentos que otorguen beneficios a su salud, es necesario desarrollar alternativas que cumplan con estas expectativas, una de ellas son las películas comestibles, estas son capas delgadas que recubren o envuelven un producto alimenticio para actuar como una barrera para el entorno que lo rodea, se elaboran con biopolímeros y se adicionan de algún compuesto funcional proporcionando diferentes beneficios. Ejemplo de ingredientes funcionales son las bacterias ácido-lácticas con capacidad probiótica, las cuales son definidas como microorganismos que al ser consumidos en cantidades elevadas generan beneficios a los hospederos, sin embargo, una de sus desventajas es mantener su viabilidad ante diferentes etapas de procesamiento.

Por lo tanto, en este trabajo se propone elaborar una película comestible adicionada con bacterias ácido-lácticas, almidón de papa y suero de leche, ingredientes que contribuyan en mantener su viabilidad, no solo durante la formación de la película, sino durante el almacenamiento y simulación gastrointestinal. Además, se pretende que las películas comestibles prolonguen la vida útil de productos lácteos de alto consumo una vez abiertos, como lo es el queso tipo Manchego, ya que las películas comestibles funcionan como un buen vehículo para que las bacterias ácido-lácticas puedan mejorar la estabilidad y seguridad de este tipo de alimento.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo General**

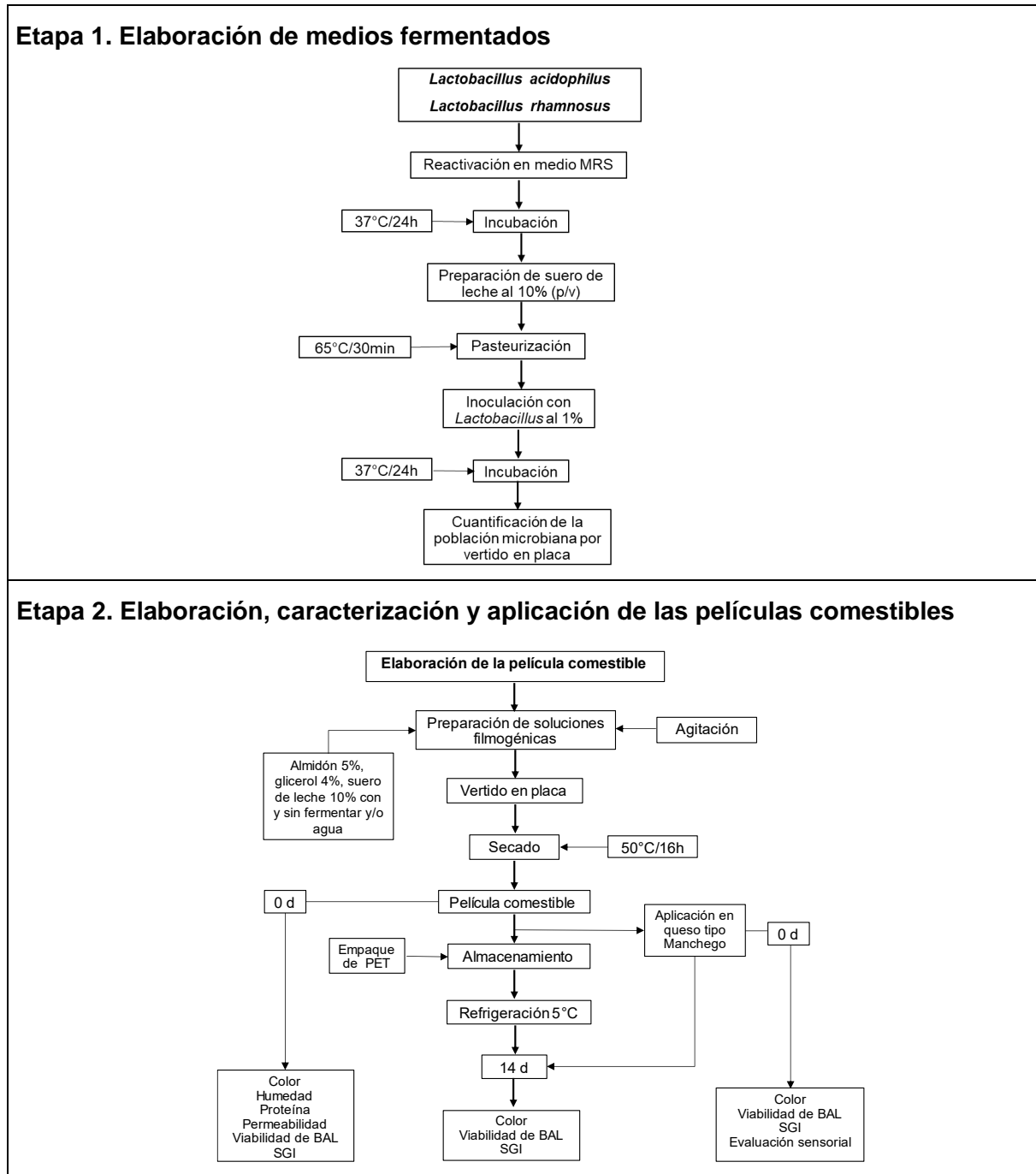
Evaluar la vida útil de productos lácteos empacados con películas comestibles a base de almidón de papa y bacterias ácido-lácticas (BAL).

### **4.2. Objetivos Particulares**

- Elaborar películas comestibles con almidón de papa, suero de leche y BAL.
- Determinar parámetros fisicoquímicos (color, humedad, permeabilidad), contenido de proteína y viabilidad de BAL en las películas elaboradas.
- Analizar la viabilidad de las BAL en las películas durante la simulación gastrointestinal (SGI).
- Aplicar las películas comestibles en queso tipo Manchego, almacenar y determinar el color, la viabilidad de BAL después de la aplicación y durante la SGI.
- Realizar un análisis sensorial de las películas aplicadas en el queso.

## 5. DIAGRAMA DE TRABAJO

El esquema de trabajo que se siguió para la realización de este proyecto se muestra en la Figura 4 y se describe con más detalles en la metodología.



**Figura 4.** Esquema de trabajo para la elaboración de películas comestibles aplicadas a queso tipo Manchego. Etapa 1: Preparación del suero de leche fermentado con *Lactobacillus*. Etapa 2: Elaboración de la película comestible.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

- Material de vidrio: El necesario para cada determinación.
- Material biológico: Cepa de *Lactobacillus acidophilus* (NRRL B-4495) y *Lactobacillus rhamnosus* (NRRL B-442) de la colección de cepas del Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas, suero de leche, almidón de papa, glicerol y queso tipo Manchego (marca comercial).
- Reactivos: Los necesarios para cada determinación grado analítico o grado alimenticio.

**Tabla 5.** Métodos y referencias utilizados en la investigación.

Determinación	Técnica	Referencia
Color	Colorimetría	(Herrera <i>et al.</i> , 2018)
Humedad	Secado en estufa de convección	(Oregel <i>et al.</i> , 2016)
Proteína	Método Kjeldahl	(García-Martínez y Fernández-Segovia, 2013)
Permeabilidad al vapor de agua	Método gravimétrico ASTM E96	(ASTM, 1996)
Conteo de bacterias ácido-lácticas (BAL) en placa	Vertido en placa	NOM-092-SSA1-1994
Simulación Gastrointestinal (SGI)	Digestión ácida, alcalina y enzimática	(Gonçalves <i>et al.</i> , 2021)
Evaluación sensorial	Prueba hedónica	(Wichchukit y O'Mahony, 2015)

**Tabla 6.** Equipos utilizados en la investigación.

<b>Equipo</b>	<b>Marca</b>	<b>Modelo</b>
Autoclave	CISA	AS-25
Balanza analítica	Ohaus – Serie Pioneer	PA 224C
Baño de agua AquaBath	Barnstead Lab-Line	18005AQ
Campana de flujo laminar vertical	Prendo	CFLV-102
Colorímetro	PCR	TCR 200
Contador de colonias	SOL-BAT	Q-20
Incubadora	LUZUREN	DHP-500
Incubadora orbital	Prendo	INO-650
Medidor de pH portátil	Conductronic	PH10
Parrilla digital	Fisher Scientific	Isotemp
Refrigerador	MABE	RMT510
Deshidratador	Excalibur	2900ECB
Estufa de convección	Felisa	FE-293AD

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1 Preparación del medio de cultivo y suero de leche

*Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus rhamnosus* se obtuvieron de la colección de cepas del laboratorio de bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Las bacterias ácido-lácticas (BAL) se reactivaron en caldo MRS (Man, Rogosa y Sharpe) durante 24 h a 37 °C. Luego, se preparó suero de leche al 10% (p/v), se pasteurizó a 65 °C durante 30 min y se inoculó con cada cultivo de *Lactobacillus* al 1%, se incubó a 37 °C durante 24 h.

La población de *L. acidophilus* y *L. rhamnosus* en el suero de leche, se determinó por el método de vertido en placa, utilizando agar MRS e incubando las cajas Petri por duplicado en condiciones de anaerobiosis a 37 °C durante 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación, se realizó el conteo de la población; los resultados fueron expresados en unidades formadoras de colonia (UFC/mL).

### 7.2 Elaboración de películas comestibles con almidón de papa, suero de leche y/o bacterias ácido-lácticas

Se prepararon 4 soluciones filmogénicas de 100 mL cada una, para las soluciones sin BAL, se preparó una solución de almidón de papa (5%) con 100 mL de agua y 4 mL de glicerol (Sistema 4). Por otro lado, se mezcló almidón de papa (5%) con 50 mL de agua, 50 mL de suero de leche (10%) sin fermentar y 4 mL de glicerol (Sistema 3), estas las soluciones fueron calentadas con agitación constante a 90°C durante 5 min. Por otro lado, se prepararon los sistemas con BAL en suero de leche, colocando almidón de papa (5%) con 50 mL de agua y 4 mL de glicerol, las soluciones se calentaron como se mencionó arriba y posteriormente, se enfriaron a 42°C para ser adicionados con 50 mL de suero de leche fermentado con *L. acidophilus* (Sistema 1) o *L. rhamnosus* (Sistema 2). La Tabla 7, muestra las formulaciones de cada sistema. Cada solución se dejó reposar durante 2 h a temperatura ambiente para eliminar las burbujas.

Para la formación de las películas, se vertieron 100 mL de solución filmogénica de cada uno de los sistemas sobre papel encerado y se colocaron en un deshidratador de alimentos a 50 °C durante 16 h para que se secan. Posteriormente, las películas se almacenaron en refrigeración a 5°C en empaques de PET durante 14 días.

**Tabla 7.** Formulación de los sistemas elaborados para las películas comestibles.

<b>Sistemas</b>	<b>Suero de leche fermentado</b>	<b>Suero de leche sin fermentar</b>	<b>Almidón de papa (10%)</b>	<b>Glicerol</b>
1	50 mL ( <i>L. acidophilus</i> )		50 mL	4 mL
2	50 mL ( <i>L. rhamnosus</i> )		50 mL	4 mL
3		50 mL	50 mL	4 mL
4			100 mL	4 mL

### 7.3 Caracterización fisicoquímica de películas comestibles

#### 7.3.1 Color

Los parámetros de color  $L^*$  (Luminosidad),  $a^*$  (+rojo, -verde) y  $b^*$  (+amarillo, - azul), se evaluaron utilizando un colorímetro. Para la lectura, se colocó el equipo en la parte superior de cada película, tomando tres medidas en diferentes partes de las películas.

#### 7.3.2 Humedad

Se utilizó el método gravimétrico usando una estufa de secado a 95 °C. Se colocó cada película en charolas de aluminio a peso constante. La humedad se determinó registrando la diferencia de peso después de 6 h.

#### 7.3.3 Proteína

La determinación de proteína se llevó a cabo por el método Kjeldahl, tomando en cuenta las etapas básicas de este método que son: digestión, neutralización, destilación y titulación. El proceso de digestión consistió en calentar la muestra con una mezcla digestora (sulfato de cobre y sulfato de potasio) y ácido sulfúrico concentrado. Enseguida, se continuó con la etapa de neutralización, la muestra se alcalinizó agregando hidróxido de sodio (40%), la destilación se llevó a cabo en presencia de ácido bórico y se utilizó rojo de metilo como indicador. Finalmente, la solución se tituló utilizando ácido clorhídrico (0.1 N).

#### **7.4 Permeabilidad al vapor de agua**

La permeabilidad al vapor de agua se evaluó en base al método gravimétrico ASTM E96. Cada muestra se cortó en forma rectangular y se colocó en la parte superior de un vaso que contenía 10 mL de agua, posteriormente se selló con Parafilm y se llevó a refrigeración a 5°C. Se registró el peso inicial y el peso cada hora durante 10 h.

#### **7.5 Bacterias ácido-lácticas**

Se realizó el recuento de las BAL después de la elaboración de las películas y al finalizar el almacenamiento, para ello se utilizó el método de vertido en placa. Se tomó una muestra de película y se diluyó en agua peptonada, se realizaron las diluciones correspondientes y se sembraron en agar MRS, se incubaron a 37 °C durante 24 h en condiciones de anaerobiosis. Finalmente se realizó el conteo en placa y se determinó la presencia de BAL expresando los resultados en Log (UFC/mL).

#### **7.6 Viabilidad de las bacterias ácido-lácticas durante la simulación gastrointestinal**

Se llevó a cabo el proceso de simulación gastrointestinal después de la elaboración de las películas y al finalizar el almacenamiento. Cada película se colocó en una solución gástrica formulada con pepsina, cloruro de sodio y agua destilada estéril a un pH de 2.0, ajustado con ácido clorhídrico. Después de 2 h de simulación gástrica con agitación a 110 rpm e incubación a 37 °C, la muestra se centrifugó (4000 rpm/10 min) y el precipitado se mezcló con una solución intestinal a base de pancreatina, fosfato dipotásico y agua destilada estéril a un pH de 7.0, ajustado con hidróxido de sodio. Luego de 3 h de proceso intestinal con agitación a 110 rpm e incubación a 37 °C, se tomó el precipitado y se mezcló con agua peptonada estéril, se realizaron las diluciones necesarias y se sembraron en agar MRS, se incubaron a 37 °C durante 24 h. El conteo de las BAL sobrevivientes se expresó como Log (UFC/mL).

#### **7.7 Aplicación de las películas comestibles en queso**

La aplicación de las películas comestibles se llevó a cabo cubriendo por completo cuadrados de 4 cm<sup>2</sup> de queso tipo Manchego de la marca “Great Value” con cada una de las películas. Las muestras se llevaron a refrigeración a 5°C en empaques de PET, durante 14 días junto con una muestra de queso sin película.

### **7.8 Color de quesos cubiertos con películas**

El color fue evaluado en el queso sin película y los quesos cubiertos con películas. Se siguió el procedimiento descrito en el apartado 7.3.1 a los 0 y 14 días.

### **7.9 Bacterias ácido-lácticas en quesos cubiertos con películas durante el almacenamiento**

Se tomaron muestras del queso con y sin película, se siguió la metodología mencionada en el apartado 7.5, se analizó cada muestra al tiempo 0 y después de 14 días.

### **7.10 Bacterias ácido-lácticas en quesos cubiertos con películas durante la simulación gastrointestinal**

Para el queso y los quesos cubiertos con películas de cada sistema, el proceso gastrointestinal al inicio y después del almacenamiento fue el mismo que se describió en el apartado 7.6.

### **7.11 Análisis sensorial del queso**

La aceptación sensorial se llevó a cabo colocando las películas sobre rebanadas enteras de queso tipo Manchego, mismos que se emplearon en la preparación de un sándwich con jamón y queso. Se proporcionó una muestra de sándwich a cincuenta jueces no entrenados considerando los criterios de inclusión correspondientes a sexo (hombres y mujeres), grado escolar (universitarios), edad (17-25 años, lugar de estudio (CU BUAP), nivel socioeconómico C y consumidores frecuentes de sándwiches (jamón y queso tipo Manchego). Por otro lado los criterios de exclusión correspondieron a los niveles socioeconómicos A/B, D y E y no consumidores frecuentes de sándwiches (jamón y queso tipo Manchego). Se evaluaron el olor, sabor, textura y aceptación general de cada muestra de sándwich por medio de una escala hedónica de 7 puntos, que iba desde me disgusta extremadamente (1) a me gusta extremadamente (7).

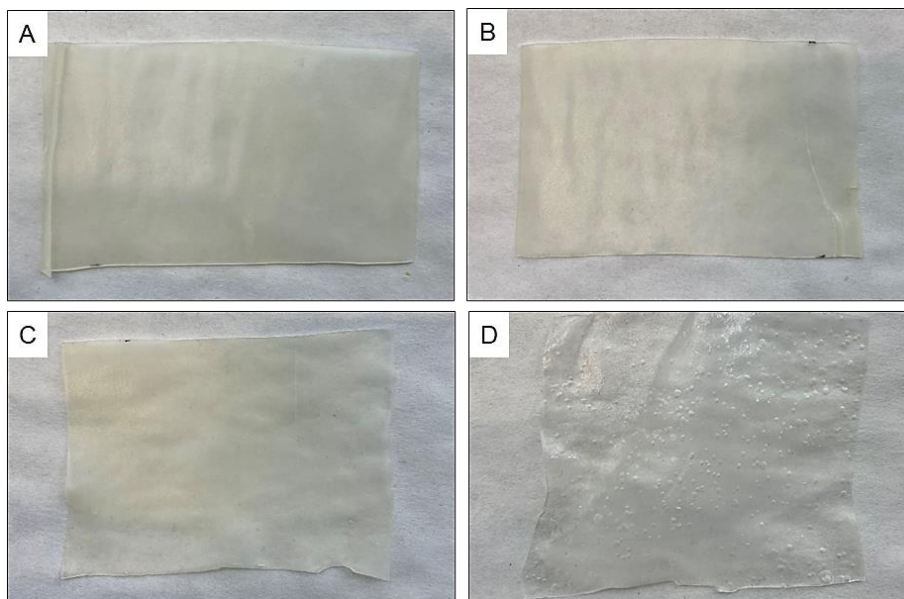
### **7.8 Análisis estadístico**

Todas las determinaciones se hicieron por duplicado. Para el análisis de los datos se empleó el software Minitab 2016, en el cual se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación estadística de Tukey con un nivel de confianza de  $\alpha=0.05$ .

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 Películas comestibles con almidón de papa, suero de leche y/o bacterias ácido-lácticas

En la Figura 5 se presentan las imágenes de las películas elaboradas con almidón de papa, suero de leche, bacterias ácido-lácticas (BAL) y glicerol. Se observa que la película que muestra una mayor transparencia corresponde a la de almidón de papa y glicerol (D), además se observó una apariencia frágil. Por otro lado, las películas con almidón de papa y suero fermentado con *L. acidophilus* (A) y *L. rhamnosus* (B) presentaron una coloración blanquecina y apariencia flexible, en cambio la película con almidón de papa y suero sin fermentar (C) presentó una apariencia rugosa, ligeramente compactada y blanquecina. Cabe resaltar que la apariencia y color de películas comestibles esta influenciada por el tipo de biopolímero o ingredientes que las forman, en este sentido las películas con alta concentración de glicerol presentan estructuras quebradizas, en cambio a concentraciones bajas de glicerol las películas son más flexibles (Vázquez-Luna *et al.*, 2019). Por otro lado, de acuerdo con Soukoulis *et al.* (2016) las películas que se elaboran a partir de proteína de suero presentan una estructura compacta y estable, derivado del entrecruzamiento que establecen las proteínas, las cuales generalmente forman enlaces con glicerol y otros componentes. Lara-Gómez *et al.* (2022) informaron que el uso de almidón en la formación de películas tiene una mayor influencia en su estructura, debido a que al calentarse el almidón se rompen sus enlaces, originando películas higroscópicas y quebradizas, fenómeno que se observó en la película (D).



**Figura 5.** Películas comestibles elaboradas con almidón de papa, suero de leche y almidón. A. Película con almidón y suero fermentado con *L. acidophilus*. B. Película con almidón y suero fermentado con *L. rhamnosus*. C. Película con almidón de papa y suero sin fermentar. D. Película con almidón de papa y glicerol.

## 8.2 Caracterización fisicoquímica de películas comestibles

Se determinaron los parámetros de color, humedad y proteína en las películas comestibles (Tabla 8). El color es un parámetro importante en la aceptabilidad de los alimentos. Los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$ , y  $b^*$  de las películas elaboradas no presentan diferencia significativa ( $p > 0.05$ ). El parámetro  $L^*$  está por arriba de 70, lo cual indica que hay una alta luminosidad. Los resultados obtenidos en este trabajo son ligeramente menores a los reportados por Ebrahimi *et al.* (2018), quienes elaboraron películas con carboximetilcelulosa y cultivos de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, los valores de  $L^*$  fueron de 90.89 a 91.08, el parámetro  $a^*$  de 1.23 a 1.26 y el parámetro  $b^*$  de -3.79 a -3.81. La variación de los parámetros de color puede deberse a la modificación que sufre el almidón al calentarse, así como por la adición del plastificante (glicerol), provocando que se afecte la luminosidad (Solano-Doblado *et al.*, 2018).

El contenido de humedad de las películas comestibles es un parámetro importante para estimar otras propiedades de la película, como es la supervivencia de probióticos. El valor de humedad de las películas fue en promedio de 12.68 % y no se observaron

diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). Un comportamiento similar fue reportado por Soujanya y Hema (2021) en películas de almidón de mijo, reportando valores de 10.2 a 13.5 % de humedad, esto debido a que el glicerol actúa como un humectante en las películas y es capaz de mantener químicamente el contenido de agua y, por lo tanto, evitar la evaporación de esta (Enrione *et al.*, 2007). Así mismo, los porcentajes de humedad dependen de la concentración del almidón debido a sus propiedades hidrofílicas y su capacidad de retener agua en la matriz de la película (Indrianti *et al.*, 2018).

En cuanto al contenido de proteína este fue en promedio de 3.35 %, la proteína fue el parámetro que sí presentó diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) entre las películas. La película de suero sin microorganismos (S3), presentó un mayor porcentaje de proteína en comparación de las que tenían suero fermentado con *L. acidophilus* (S1) y *L. rhamnosus* (S2), esto puede ser debido a que los microorganismos en las películas S1 y S2 utilizan los componentes del suero de leche para mantenerse viables, provocando que el valor de proteína sea menor (Guimarães *et al.*, 2020).

**Tabla 8.** Caracterización fisicoquímica y contenido de proteína de películas comestibles con almidón de papa, suero de leche y bacterias ácido-lácticas\*.

		<b>Composición de la película</b>			
<b>Parámetro</b>		Suero fermentado con <i>L. acidophilus</i> (S1)	Suero fermentado con <i>L. rhamnosus</i> (S2)	Suero sin fermentar (S3)	Almidón de papa y glicerol (S4)
Color	<i>L</i> <sup>*</sup>	79.42 ± 1.56a	77.95 ± 1.03a	76.04 ± 2.55a	77.51 ± 2.07a
	<i>a</i> <sup>*</sup>	-1.36 ± 0.73a	-1.09 ± 2.20a	1.89 ± 4.47a	1.44 ± 0.99a
	<i>b</i> <sup>*</sup>	2.34 ± 0.31a	0.40 ± 2.61a	-0.36 ± 3.18a	-0.83 ± 2.71a
Humedad (%)		13.28 ± 1.95a	13.93 ± 2.70a	11.37 ± 1.91a	12.17 ± 1.29a
Proteína (%)		3.48 ± 0.14b	2.79 ± 0.14c	3.80 ± 0.14a	ND

\*Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en fila indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) respecto al tipo de película. ND: No detectado

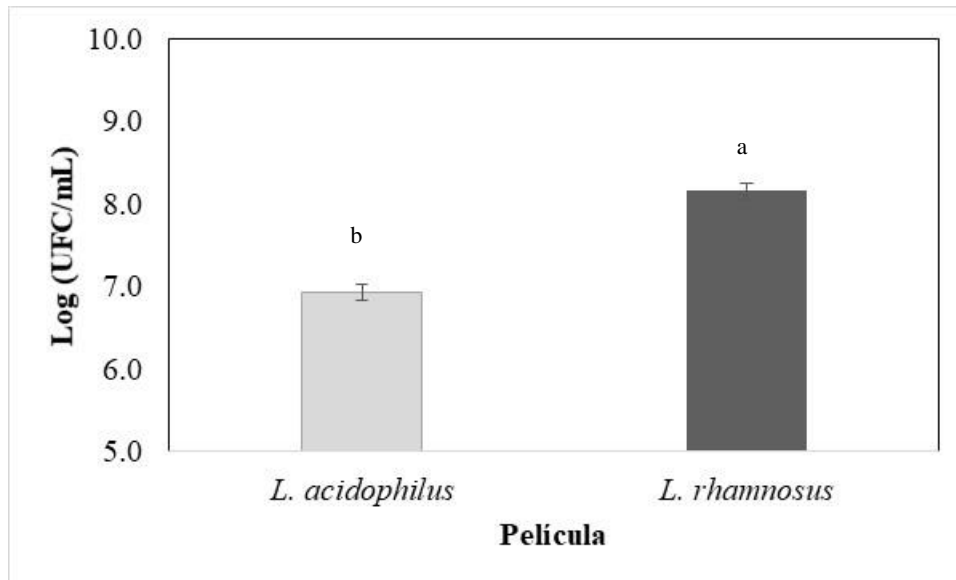
### 8.3 Permeabilidad al vapor de agua de películas comestibles

La permeabilidad al vapor de agua es una propiedad relacionada con la capacidad de absorción de agua a través de la película, es útil para determinar si las películas son capaces de mantener la calidad en los alimentos ante la adsorción y desorción de agua (Lara-Gómez *et al.*, 2022). Los valores de permeabilidad obtenidos para las películas comestibles fueron, S1 ( $8.82 \pm 3.77$  gm/sm<sup>2</sup>Pa), S2 ( $21.26 \pm 4.30$  gm/sm<sup>2</sup>Pa), S3 ( $24.80 \pm 3.55$  gm/sm<sup>2</sup>Pa) y S4 ( $34.40 \pm 11.14$  gm/sm<sup>2</sup>Pa), no se observaron diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) entre las películas, indicando que esta propiedad no se afectó por la composición de estas. Rendón-Villalobos *et al.* (2017) mencionaron que las películas con almidón tienen una alta permeabilidad al vapor de agua, asociada a la cantidad de amilosa presente. Los valores de permeabilidad obtenidos en este trabajo son similares a los reportados por Mozaffarzogh *et al.* (2020), quienes reportan valores de 28.36 a 29.49 gm/sm<sup>2</sup>Pa para películas con bacterias ácido-lácticas, carboximetilcelulosa y caseinato. Por otro lado, Kanmani y Lim (2013) evaluaron la presencia de bacterias probióticas en películas comestibles con almidón y pullulano (polisacárido microbiano), indicando que la presencia de estas bacterias impide la movilidad de la cadena de los polímeros, evitando la pérdida de agua. Sin embargo, Souza *et al.* (2010) informaron que la permeabilidad al vapor de agua depende de muchos factores tales como el coeficiente

de solubilidad, espesor, la integridad de la matriz de la película, hidrofobicidad, velocidad de difusión, relación entre las zonas cristalinas y amorfas, movilidad de la cadena polimérica y las interacciones entre los grupos funcionales de los polímeros.

#### **8.4 Bacterias ácido-lácticas en películas comestibles**

La Figura 6 muestra la población de BAL de las películas comestibles (S1 y S2), la población de *L. acidophilus* fue de 7 ciclos logarítmicos (CL), equivalente a  $8.66 \times 10^6$  UFC/mL, mientras que la población de *L. rhamnosus* fue de 8 CL, equivalente a  $1.47 \times 10^8$  UFC/mL. Aunque se observan diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), la población de ambos microorganismos se encuentra dentro los valores recomendados para ejercer beneficios a la salud ( $10^6$ – $10^7$  UFC/mL) (Roobab *et al.*, 2020). Los resultados de este trabajo son similares a los presentados por Mozaffarzogh *et al.* (2020), quienes reportan una viabilidad de 8-9 CL para diferentes bacterias ácido-lácticas (*L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium bifidum*) incorporadas en películas con carboximetilcelulosa y caseinato de sodio. Por otro lado, (Sáez-Orviz *et al.*, 2022b) mencionan que *L. plantarum* en películas con suero de leche dulce y gelatina se redujo 3 CL después de la formación de la película, mencionando que las condiciones de secado ( $40^\circ\text{C}$ ) en la obtención de la película generan una reducción en la supervivencia. Sin embargo, no todas las BAL presentan la misma capacidad de supervivencia, en este sentido Santacruz y Castro (2018) mencionan que *L. acidophilus* incorporado en películas comestibles de almidón de mandioca logró sobrevivir 12 CL después de la formación de las películas, esto indica que las películas son un buen vehículo para mantener la viabilidad de BAL, a pesar de que son sometidas a un estrés causado por el proceso de secado de las películas.

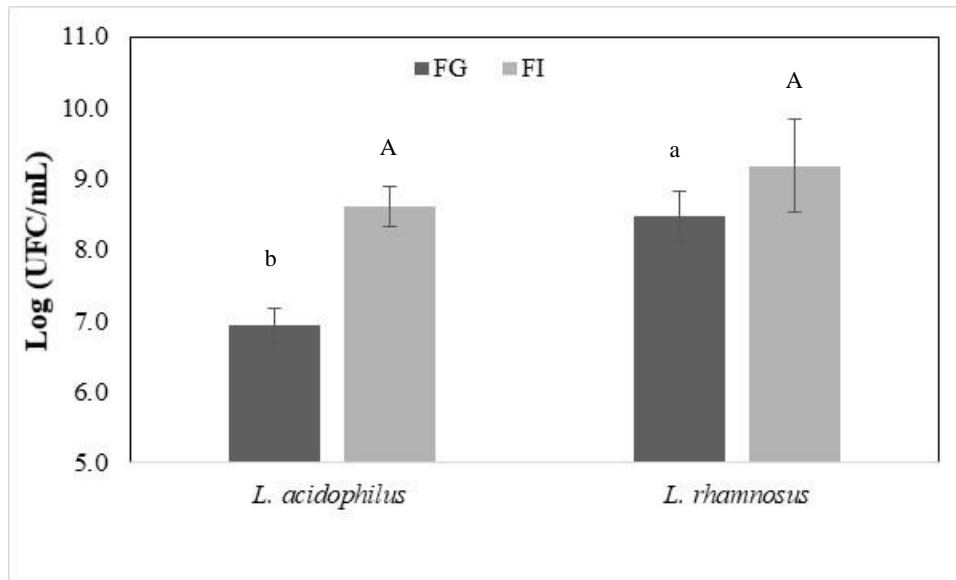


**Figura 6.** Población de bacterias ácido-lácticas en películas elaboradas con almidón de papa y suero de leche fermentado con *L. acidophilus* y *L. rhamnosus*.

### 8.5 Viabilidad de las bacterias ácido-lácticas en películas comestibles, durante la simulación gastrointestinal

La Figura 7 presenta la viabilidad de BAL en películas de almidón de papa y suero fermentado después del proceso de simulación. En general, se observa que hubo un aumento de la población después del fluido intestinal y que *L. rhamnosus* presentó mayor crecimiento que *L. acidophilus* ( $p < 0.05$ ). En fluido gástrico la población de *L. acidophilus* fue de 6.94 CL y de *L. rhamnosus* 8.46 CL. Por otro lado, en fluido intestinal, la población para *L. acidophilus* aumentó 1.67 CL y para *L. rhamnosus* aumentó 0.72 CL.

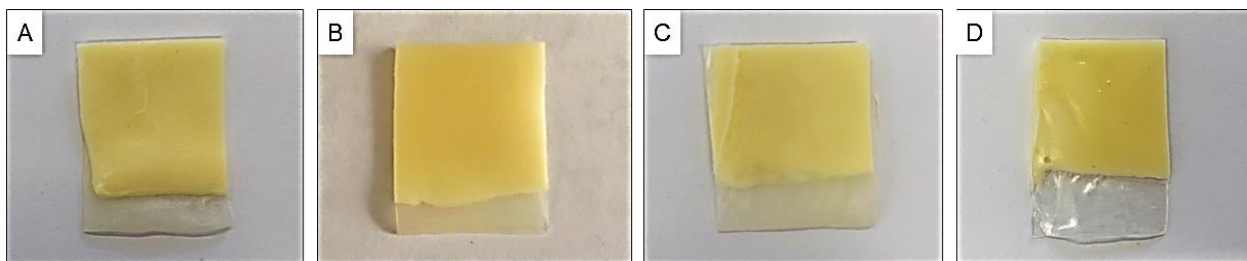
Se ha reportado que durante la simulación gastrointestinal los probióticos se ven afectados principalmente en la parte gástrica, debido a las condiciones de pH ácido, sales biliares, etc., en cambio cuando entran en contacto con el fluido intestinal las condiciones cambian, tendiendo un pH 7 y permitiendo su liberación al colón (He *et al.*, 2021). En este trabajo el pH ácido del fluido gástrico desintegró las películas, por lo que, al pasar al fluido intestinal, los microorganismos se liberaron generando un aumento en la población. Resultados similares de la viabilidad durante la simulación gastrointestinal fueron reportados por Kalantarmahdavi *et al.* (2021), quienes mencionan que la viabilidad de *L. plantarum* en películas comestibles de harina de trigo y gelatina fue de 7.13 CL.



**Figura 7.** Viabilidad de bacterias ácido-lácticas en películas elaboradas con almidón de papa y suero de leche fermentado durante la simulación gastrointestinal. Letras minúsculas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) respecto al fluido gástrico. Letras mayúsculas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) respecto al fluido intestinal.

### 8.6 Aplicación de las películas comestibles en queso

Se llevó a cabo la aplicación de las películas comestibles a rebanadas de queso tipo Manchego de la marca “Great Value”. La Figura 8 muestra los quesos cubiertos con las películas. Como se observa los quesos mantuvieron su forma y color, este último es un atributo importante en el desarrollo de empaques debido a la apariencia que otorga a los alimentos, por tanto, es un factor que influencia la aceptabilidad o rechazo por parte del consumidor (Sáez-Orviz *et al.*, 2022b). Los quesos presentaron un color blanquecino-opaco, derivado de la presencia de suero de leche (S1, S2 y S3), en cambio el S4 al no tener suero se observa una mayor transparencia, a pesar de esta diferencia, los quesos con película presentaron una apariencia homogénea.



**Figura 8.** Quesos cubiertos con las películas de almidón de papa y suero de leche. A: Queso con película y *L. acidophilus*. B: Queso con película y *L. rhamnosus*. C: Queso con película de suero sin fermentar y D: Queso con película de almidón de papa y glicerol.

### 8.7 Color de quesos cubiertos con películas

La Tabla 9 muestra los parámetros de color de queso con y sin películas, almacenados en recipientes de PET durante 14 días a temperatura de refrigeración (5°C). Los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del queso sin película, reflejan un color amarillo claro, característico de este tipo de producto, en cambio los quesos con película (Q+S1, Q+S2, Q+S3 y Q+S4), presentaron una reducción de la luminosidad (tiempo 0). Sin embargo, después de 14 días los quesos presentaron un aumento de la luminosidad y del parámetro  $a^*$  ( $p < 0.05$ ), mientras que el parámetro  $b^*$  cambio menos. Un comportamiento similar fue reportado por Mahcene *et al.* (2021) al cubrir queso casero con una película comestible a base de alginato de sodio, en donde informaron una reducción de los parámetros de color  $L^*$  y  $a^*$ , mientras que el de  $b^*$  se mantuvo constante. Así, concluyeron que el aumento de los valores de  $L^*$  de las películas hace que sus colores se acerquen al blanco y, por lo tanto, la película en color sea más clara como se corroboró con las películas de almidón y suero de leche con y sin fermentar. La disminución del parámetro  $a^*$  refleja una decoloración progresiva en las muestras, lo cual podría estar asociada a la migración de grasas por parte del queso a la superficie (Romani *et al.*, 2002).

**Tabla 9.** Parámetros de color de quesos cubiertos con y sin películas comestibles durante el almacenamiento.\*\*

Sistema	$L^*$	Tiempo (0 d)		$L^*$	Tiempo (14 d)	
		$a^*$	$b^*$		$a^*$	$b^*$
Queso	95.01 ± 0.45a,A	-0.94 ± 0.21a,A	16.24 ± 0.31a,A	89.43 ± 1.24a,B	-0.73 ± 1.66b,A	16.31 ± 1.76a,A
Q+S1	69.86 ± 1.02b,B	-5.51 ± 0.25b,B	12.84 ± 0.62ab,A	81.00 ± 4.57a,A	2.38 ± 0.54a,A	5.34 ± 0.98b,B
Q+S2	70.31 ± 1.60b,B	-3.71 ± 0.10c,B	9.77 ± 2.80b,A	85.55 ± 7.70a,A	1.41 ± 0.08ab,A	6.41 ± 1.93b,A
Q+S3	71.60 ± 0.94b,B	-4.43 ± 0.33bc,B	11.25 ± 0.26b,A	81.41 ± 0.84a,A	1.19 ± 0.77ab,A	5.10 ± 0.80b,B
Q+S4	71.50 ± 0.95b,B	-4.25 ± 0.66bc,B	10.82 ± 1.58b,A	83.07 ± 2.33a,A	0.93 ± 0.89ab,A	5.08 ± 2.53b,B

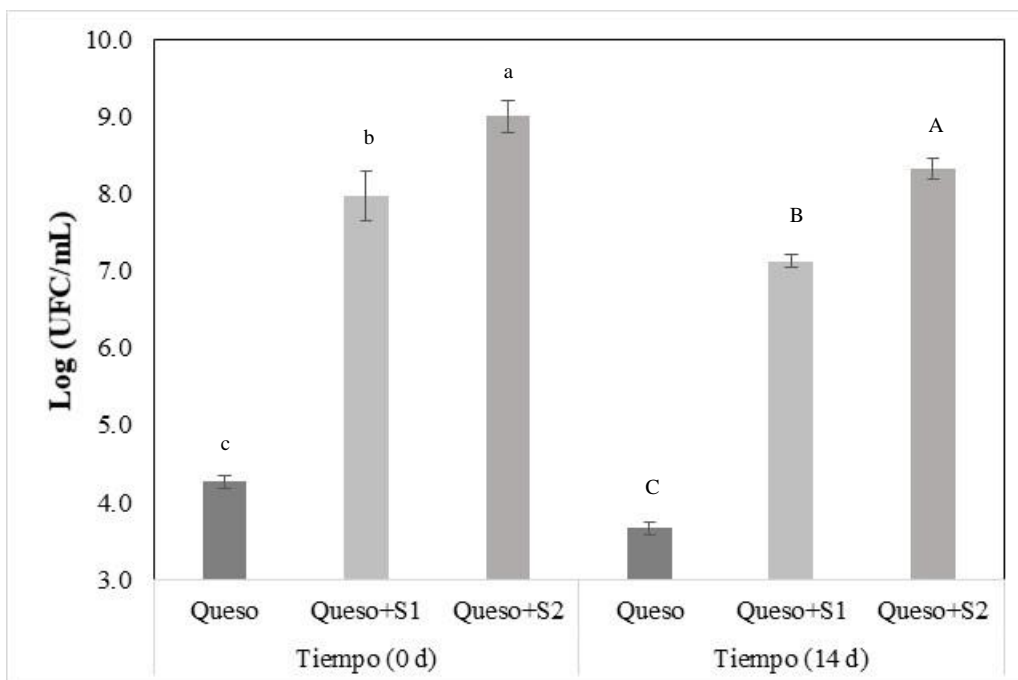
\*\*Promedio ± desviación estándar. Letras a, b y c en columna indican diferencia estadística de los quesos con y sin película ( $p < 0.05$ ). Letras mayúsculas A y B en fila indican diferencia estadística durante el almacenamiento.

## 8.8 Bacterias ácido-lácticas en quesos cubiertos con películas durante el almacenamiento

Uno de los factores más importantes en la viabilidad de los probióticos es la temperatura durante el almacenamiento, la Figura 9 muestra los quesos sin y con películas adicionadas con *Lactobacillus*. El queso sin película presentó 4.26 CL, mientras que los quesos con películas y *L. acidophilus* (Queso + S1) y *L. rhamnosus* (Queso + S2), la población incrementó significativamente a 7.97 y 9.0 CL, respectivamente. Por otro lado, después de 14 días de almacenamiento se aprecia un descenso de la población de BAL en todos los quesos, siendo de 3.66 CL para queso sin película, 7.12 CL (Queso + S1), y 8.31 CL (Queso + S2). Un comportamiento similar fue reportado por Ebrahimi *et al.* (2018) para *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* y *B. bifidum*, mencionado que los probióticos se redujeron alrededor de 3 CL al almacenarse películas con carboximetilcelulosa a temperatura de refrigeración (5°C), lo que indica que la temperatura de almacenamiento juega un papel importante en la pérdida de la viabilidad de BAL (Sáez-Orviz *et al.*, 2022b).

Es importante destacar que en este trabajo hay una menor afectación de *L. rhamnosus* después del almacenamiento < 1 CL, esto debido a su mayor tolerancia a la baja temperatura (5°C) durante el almacenamiento (Mortazavian *et al.*, 2007). Además, es importante considerar la capacidad que tienen las BAL con potencial probiótico para interactuar con los componentes de las matrices que los inmovilizan como son los polisacáridos, debido a que pueden establecer interacciones de tipo electrostáticas o hidrofóbicas, que les permiten superar limitaciones de estrés físico y osmótico (Burgain *et al.*, 2013).

Santacruz y Castro (2018) reportan valores de BAL superiores a los obtenidos específicamente de *L. acidophilus* incorporado en películas de almidón de mandioca y almacenados a 25 °C, obteniendo poblaciones de 9.79 CL después de 20 días. A pesar de esto, la población de BAL de las películas aplicadas al queso, está dentro de lo reportado por Roobab *et al.* (2020) para ser considerado probiótico después de 14 días en refrigeración ( $1 \times 10^6$  UFC/mL o g).



**Figura 9.** Viabilidad de bacterias ácido-lácticas en quesos cubiertos con y sin películas durante el almacenamiento. Letras minúsculas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) al inicio del almacenamiento. Letras mayúsculas indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) al final del almacenamiento.

### 8.9 Bacterias ácido-lácticas en quesos durante la simulación gastrointestinal y almacenamiento

En la Tabla 10, se observa la viabilidad de BAL en quesos con y sin películas durante la simulación gastrointestinal y almacenamiento de 5°C. Se observa el mismo comportamiento que en la evaluación de la caracterización de las películas, en el sentido de que hay una mayor población de BAL después del fluido intestinal, aunque después de los 14 días de almacenamiento, las BAL no se vieron afectadas durante el proceso de simulación probablemente por el uso de suero de leche en las películas, esto puede deberse a que las proteínas pueden eliminar radicales libres suministrando nutrientes para la supervivencia de los probióticos (Pop *et al.*, 2020). Por otro lado, las bacterias probióticas presentan la capacidad de sobrevivir a procesos como el calentamiento, el estrés fisicoquímico, osmótico y las condiciones gastrointestinales (Soukoulis *et al.*, 2016), sin embargo, el vehículo que las protege son las componentes de la película y su capacidad de interactuar con los biopolímeros (polisacáridos y proteínas) mediante

interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno (Deepika y Charalampopoulos, 2010) permitiendo su atrapamiento y logrando una mayor viabilidad al finalizar la simulación (> 6 CL). Por otro lado, Valerio *et al.* (2020) mencionaron que después del almacenamiento y la simulación gastrointestinal, la viabilidad puede verse afectada por la presión atmosférica, afectando el estado fisiológico de las células bacterianas haciéndolas más susceptibles a las condiciones gastrointestinales.

En este trabajo, la población de *Lactobacillus* no se vio afectada por el almacenamiento debido a que la población de BAL fue de más de 6 CL.

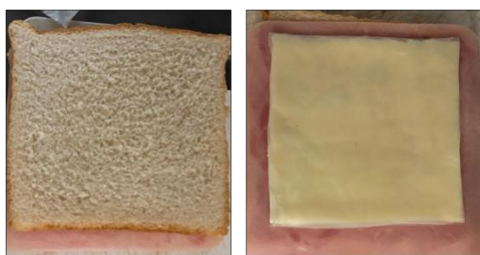
**Tabla 10.** Viabilidad de bacterias ácido-lácticas en quesos con y sin películas durante el almacenamiento a 5 °C.

Sistema	Queso	Queso + S1	Queso + S2
<b>0 días</b>	3.77 ± 0.49a	7.74 ± 0.07a	8.82 ± 0.87a
<b>PET (14 días)</b>	3.67 ± 0.46a	7.13 ± 0.06b	8.32 ± 0.29a
<b>Simulación gástrica (Log UFC/mL)</b>			
<b>0 días</b>	3.38 ± 0.47a	7.40 ± 0.10b	7.97 ± 0.10b
<b>PET (14 días)</b>	3.64 ± 0.68a	7.82 ± 0.05a	8.18 ± 0.10a
<b>Simulación intestinal (Log UFC/mL)</b>			
<b>0 días</b>	4.05 ± 0.26a	8.26 ± 0.26b	10.03 ± 0.17a
<b>PET (14 días)</b>	4.33 ± 0.17b	8.84 ± 0.30a	9.41 ± 0.94a

Letras diferentes indican diferencia significativa después del almacenamiento ( $p < 0.05$ ).

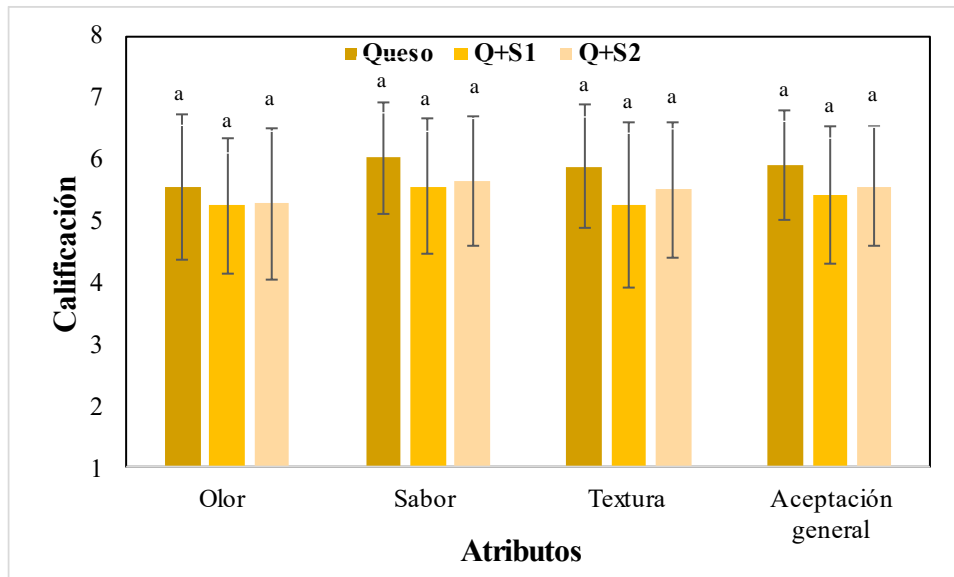
### 8.10 Análisis sensorial del queso cubierto con películas comestibles

Para la evaluación sensorial de las películas comestibles de almidón de papa y suero de leche fermentado con *L. acidophilus* y *L. rhamnosus*, se decidió elaborar sándwiches que contenían el queso con y sin película y jamón (Figura 10).



**Figura 10.** Sándwiches con películas comestibles para la prueba sensorial.

La Figura 11 muestra los resultados de la evaluación sensorial, los valores obtenidos de los atributos de olor, sabor, textura y aceptación general del queso con y sin películas. En general, se observó una buena aceptación del queso en los sándwiches obteniendo valores de entre 5 y 6 de la escala hedónica, que equivalente a “me gusta y me gusta mucho”, no se observó diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) con respecto al queso sin película. Por lo tanto, los panelistas no detectaron diferencia entre el queso con y sin películas.



**Figura 11.** Evaluación sensorial de queso cubierto con y sin películas adicionadas con bacterias ácido-lácticas. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

## 9. CONCLUSIONES

- La incorporación de almidón de papa, glicerol y suero de leche fermentado con *Lactobacilos* permite obtener películas flexibles, compactas y de color ligeramente blanquecino.
- El color, humedad y permeabilidad al vapor no se afectaron por la composición de las películas comestibles, en cambio el contenido de proteína disminuyó debido a la fermentación de BAL.
- La población de *Lactobacillus* se mantuvo mayor a los 6 ciclos logarítmicos (CL) después de la formación de la película, además *L. rhamnosus* presentó un mayor crecimiento que *L. acidophilus*.
- La viabilidad de BAL en la simulación gastrointestinal se vio afectada por el pH del fluido gástrico, sin embargo, al final del fluido intestinal la población fue mayor a 6 CL.
- La aplicación de las películas en queso tipo Manchego, generó un color blanquecino-opaco derivado de la presencia de suero de leche fermentado, a diferencia del sistema con almidón y glicerol que presentó mayor transparencia.
- Los parámetros de color  $L^*$  y  $a^*$  después del almacenamiento se modificaron indicando que, con el tiempo puede haber una decoloración en el queso Manchego.
- La población de *L. acidophilus* y *L. rhamnosus* después del almacenamiento a 5°C fue de 7.12 CL y 8.31 CL, respectivamente, después de la simulación gastrointestinal la población se mantuvo por arriba de los 7 CL para ambos microorganismos, indicando que la temperatura de almacenamiento no afectó la viabilidad de los microorganismos.
- La evaluación sensorial de queso con y sin películas mostró un grado de me gusta y me gusta mucho en los 3 atributos evaluados (olor, sabor y textura).
- La aplicación de PC adicionadas con BAL, permite que la vida útil del queso tipo Manchego se mantenga durante 14 días, empleando un empaque secundario (PET) y en refrigeración (5°C).

## **10. RECOMENDACIONES**

- Evaluar otras propiedades de las películas como el espesor, la resistencia al alargamiento, peso, etc., después de la elaboración y el almacenamiento.
- Evaluar otro tipo de empaque secundario para determinar la afectación de las propiedades de la película.
- Considerar el uso de otra matriz alimentaria para la aplicación de las películas comestibles para el desarrollo de alimentos funcionales.

## 11. REFERENCIAS

- American Chemical Society. (2007). Glycerol. *ACS Chemistry for Life*. [Consultado en línea el: 08/02/2023]. Disponible en: <https://www.acs.org/molecule-of-the-week/archive/g/glycerine.html>
- Andrews, L. S., Ahmedna, M., Grodner, R. M., Liuzzo, J. A., Murano, P. S., Murano, E. A., Rao, R. M., Shane, S., y Wilson, P. W. (1998). Food preservation using ionizing radiation. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 154, 1–53.
- Ansorena, M. R., Pereda, M., y Marcovich, N. E. (2018). Edible Films. En T. J. Gutierrez (Ed.), *Polymers for Food Applications*. 5–24. Springer.
- ASTM. (1996). Standard test methods for water vapor transmission of materials. *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, Association of Standard Testing Methods.
- Barrón, M., Palacios, C., Dominguez, I., Gonzalez, M., y Radic, S. (2019). Production, processing, commercialization and analysis of costumer preferences of sheep cheese in Chile. En K. Javed (Ed.), *Milk Production, Processing and Marketing*. 1–18. IntechOpen.
- Bella, K., y Rao, P. V. (2021). Anaerobic digestion of dairy wastewater: Effect of different parameters and co-digestion options—a review. *Biomass Conversion and Biorefinery*. 13, 2527–2552.
- Bertoft, E., y Blennow, A. (2016). Structure of potato starch. En J. Singh y L. Kaur (Eds.), *Advances in Potato Chemistry and Technology*. 57–73. Elsevier Inc.
- Bhavbhuti, M. M. (2015). Chemical composition of milk and milk products. En P. C. K. Cheung (Ed.), *Handbook of Food Chemistry*. 511–550. Springer.
- Borch, E., Kant-Muermans, M. L., y Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*. 33, 103–120.
- Bourtoom. T. (2008). Edible films and coatings: Characteristics and properties. *International Food Research Journal*. 15, 237–248.

- Burgain, J., Gaiani, C., Cailliez-Grimal, C., Jeandel, C., y Scher, J. (2013). Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG in microparticles: Influence of casein to whey protein ratio on bacterial survival during digestion. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 19, 233–242.
- Cai, Y., Pang, H., Kitahara, M., y Ohkuma, M. (2012). *Lactobacillus nasuensis* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from silage, and emended description of the genus *Lactobacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 62, 1140–1144.
- Cardoso, G. P., Dutra, M. P., Fontes, P. R., Ramos, A. de L. S., Gomide, L. A. de M., y Ramos, E. M. (2016). Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display. *Meat Science*. 114, 85–94.
- Chen, W., Ma, S., Wang, Q., McClements, D. J., Liu, X., Ngai, T., y Liu, F. (2022). Fortification of edible films with bioactive agents: A review of their formation, properties, and application in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 62, 5029–5055.
- Choramo, A. (2022). A review on chemical and physical methods of controlling microbial growth. *Journal of Community Medicine and Public Health Care*. 9, 107.
- Coll, I. J. L., Fernández, J. M. C., Torres, M. D. M. R., y Sainz, J. A. F. (1999). Control de calidad. En: *Control e higiene de los alimentos*. 13–27. McGraw-Hill Interamericana.
- Decker, E. A., y Park, Y. (2010). Healthier meat products as functional foods. *Meat Science*. 86, 49–55.
- Deeth, H. C. (2022). Lipolysis and hydrolytic rancidity. En P. L. H. McSweeney y J. P. McNamara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 827–834. Academic Press.
- Dehghani, S., Hosseini, S. V., y Regenstein, J. M. (2017). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food Chemistry*. 240, 505–513.
- Deepika, G., y Charalampopoulos, D. (2010). Surface and adhesion properties of Lactobacilli. En A. I. Laskin, S. Sariaslani, y G. M. Gadd (Eds.), *Advances in Applied Microbiology*. 127–152. Elsevier Inc.

- Desobry, S., y Arab-Tehrany, E. (2014). Diffusion barrier layers for edible food packaging. En M. S. J. Hashmi (Ed.), *Comprehensive Materials Processing*. 499–518. Elsevier Ltd.
- Devlieghere, F., Vermeiren, L., y Debevere, J. (2004). New preservation technologies: Possibilities and limitations. *International Dairy Journal*. 14, 273–285.
- Dianin, I. B., Oliveira, A. G., Pimentel, T. C., Filho, N., y Costa, G. N. (2019). Edible biofilms formulated with whey protein isolate and *L. casei* probiotic culture: Characterization and application in tomatoes and grapes. *Chemical Engineering Transactions*. 75, 469–474.
- Díaz-Montes, E., y Castro-Muñoz, R. (2021). Edible films and coatings as food-quality preservers: An overview. *Foods*. 10, 249.
- Durá-Travé, T. (2008). Ingesta de leche y derivados lácteos en la población universitaria. *Nutricion Hospitalaria*. 23, 89–94.
- Ebrahimi, B., Mohammadi, R., Rouhi, M., Mortazavian, A. M., Shojaee-Aliabadi, S., y Koushki, M. R. (2018). Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. *LWT: Food Science and Technology*. 87, 54–60.
- Enrione, J. I., Hill, S. E., y Mitchell, J. R. (2007). Sorption behavior of mixtures of glycerol and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 2956–2963.
- Erkmen, O., y Bozoglu, T. F. (2016). Spoilage of milk and milk products. En: *Food Microbiology. Principles into Practice*. 269–278. John Wiley & Sons, Inc.
- Espitia, P. J. P., Batista, R. A., Azeredo, H. M. C., y Otoni, C. G. (2016). Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Research International*. 90, 42–52.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., y Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*. 22, 292–303.
- FAO. (2012). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo. *Organización de las*

*Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura Roma. 27–34.*

FAO. (2018). Portal lácteo. Tipos y características. *FAO*. [Consultado en línea el: 16/02/2023]. Disponible en: <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/types-and-characteristics/en/>

FAO. (2022). Dairy Market Review: Emerging trends and outlook 2022. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 1–6.

Fennema, O. R., y Tannenbaum, S. R. (1992). Introducción a la química de los alimentos. En: O. R. Fennema (Ed.), *Fennema Química de los alimentos*. 1–16. Acribia.

Foodie Champ. (2022). How long is manchego good for?. *Foodie Champ*. [Consultado en línea el: 05/06/2023]. Disponible en: <https://foodiechamp.com/how-long-is-manchego-good-for/>

Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., y O'Mahony, J. A. (2015). Vitamins in milk and dairy products. En *Dairy Chemistry and Biochemistry*. 271–297. Springer.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., y McSweeney, P. L. (2017). Whey and whey products. En *Fundamentals of Cheese Science*. 755–767. Springer.

Galus, S., y Kadzińska, J. (2015). Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science and Technology*. 45, 273–283.

García-García, R., y Searle, S. S. (2015). Preservatives: Food use. *Encyclopedia of Food and Health*. 505–509.

García-Martínez, E., y Fernández-Segovia, I. (2013). Determinación de proteínas de un alimento por el método Kjeldahl. Valoración con un ácido fuerte. *Universitat Politècnica de Valencia*, 1–6.

García, M. A., Ferrero, C., Campana, A., Bértola, N., Martino, M., y Zaritzky, N. (2004). Methylcellulose coatings applied to reduce oil uptake in fried products. *Food Science and Technology International*. 10, 339–346.

Genevois, C. E., De Escalada Pla, M. F., y Flores, S. K. (2016). Application of edible coatings to improve global quality of fortified pumpkin. *Innovative Food Science and*

*Emerging Technologies*. 33, 506–514.

- Gerritsen, J., Smidt, H., Rijkers, G. T., y De Vos, W. M. (2011). Intestinal microbiota in human health and disease: The impact of probiotics. *Genes and Nutrition*. 6, 209–240.
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehie, A., y Yarmand, M. S. (2011). Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. *Food Chemistry*. 127, 1496–1502.
- Gonçalves, A., Estevinho, B. N., y Rocha, F. (2021). Methodologies for simulation of gastrointestinal digestion of different controlled delivery systems and further uptake of encapsulated bioactive compounds. *Trends in Food Science and Technology*. 114, 510–520.
- Górska-Warsewicz, H., Rejman, K., Laskowski, W., y Czeczotko, M. (2019). Milk and dairy products and their nutritional contribution to the average polish diet. *Nutrients*. 11, 1–19.
- Grieve, P. A., y Kitchen, B. J. (1985). Proteolysis in milk: The significance of proteinases originating from milk leucocytes and a comparison of the action of leucocyte, bacterial and natural milk proteinases on casein. *Journal of Dairy Research*. 52, 101–112.
- Guerreiro, A. C., Gago, C. M. L., Faleiro, M. L., Miguel, M. G. C., y Antunes, M. D. C. (2017). The effect of edible coatings on the nutritional quality of 'Bravo de Esmolfe' fresh-cut apple through shelf-life. *LWT: Food Science and Technology*. 75, 210–219.
- Guimarães, A., Ramos, Ó., Cerqueira, M., Venâncio, A., y Abrunhosa, L. (2020). Active whey protein edible films and coatings incorporating *Lactobacillus buchneri* for *Penicillium nordicum* control in cheese. *Food and Bioprocess Technology*. 13, 1074–1086.
- Harzallah, D., y Belhadj, H. (2013). Lactic acid bacteria as probiotics: Characteristics, selection criteria and role in immunomodulation of human gi mucosal barrier. En M. Kongo (Ed.), *Lactic Acid Bacteria-R and D for Food, Health and Livestock Purposes*.

197–216. IntechOpen.

- Hashemi, S. S., Khorshidian, N., y Mohammadi, M. (2022). An insight to potential application of synbiotic edible films and coatings in food products. *Frontiers in Nutrition*. 9, 875368.
- He, M., Tan, C. P., Liu, Y., y Xu, Y. J. (2021). Foodomics: A new perspective on gut probiotics nutrition and health research. *Current Opinion in Food Science*. 41, 146–151.
- Hellebois, T., Tsevdou, M., y Soukoulis, C. (2020). Functionalizing and bio-preserving processed food products via probiotic and synbiotic edible films and coatings. En A. Gomes da Cruz, E. Prudencio, E. Esmerino, y M. da Silva (Eds.), *Advances in Food and Nutrition Research*. 161–221. Elsevier Inc.
- Hernalsteens, S. (2020). Edible films and coatings made up of fruits. En M. Agostini de Moraes, C. Ferreira da Silva, y R. Silveira Vieira (Eds.), *Biopolymer Membranes and Films*. 575–588. Elsevier Inc.
- Herrera, S., Dubián, O., López, L., y Gómez, L. (2018). Caracterización de una película comestible a base de suero de leche, inulina, grenetina y glicerol. *XII Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia*. 12, 1–5.
- Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydrate Polymers*. 45, 253–267.
- Indrianti, N., Pranoto, Y., y Abbas, A. (2018). Preparation and characterization of edible films made from modified sweet potato starch through heat moisture treatment. *Indonesian Journal of Chemistry*. 18, 679–687.
- InfoAgro. (2019). Deterioro de frutas y hortalizas en post-cosecha. *InfoAgro México*. [Consultado en línea el: 21/01/2023]. Disponible en: <https://mexico.infoagro.com/deterioro-de-frutas-y-hortalizas-en-post-cosecha/>
- Janes, M. E., y Dai, Y. (2012). Edible films for meat, poultry and seafood. En J. P. Kerry (Ed.), *Advances in Meat, Poultry and Seafood Packaging*. 504–521. Woodhead Publishing.

- Janjarasskul, T., y Krochta, J. M. (2010). Edible packaging materials. *Annual Review of Food Science and Technology*. 1, 415–448.
- Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., y Chiralt, A. (2012). Edible and biodegradable starch films: A review. *Food and Bioprocess Technology*. 5, 2058–2076.
- Jouki, M., Khazaei, N., Ghasemlou, M., y Hadinezhad, M. (2013). Effect of glycerol concentration on edible film production from cress seed carbohydrate gum. *Carbohydrate Polymers*. 96, 39–46.
- Kalantarmahdavi, M., Khanzadi, S., y Salari, A. (2021). Edible films incorporating with *Lactobacillus plantarum* based on sourdough, wheat flour, and gelatin: Films characterization and cell viability during storage and simulated gastrointestinal Condition. *Starch*. 1, 2000268.
- Kandasamy, S., Yoo, J., Yun, J., Kang, H. B., Seol, K. H., Kim, H. W., y Ham, J. S. (2021). Application of whey protein-based edible films and coatings in food industries: An updated overview. *Coatings*. 11, 1056.
- Kanmani, P., y Lim, S. T. (2013). Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films. *Food Chemistry*. 141, 1041–1049.
- Karlsson, M. E., Leeman, A. M., Björck, I. M. E., y Eliasson, A. C. (2007). Some physical and nutritional characteristics of genetically modified potatoes varying in amylose/amylopectin ratios. *Food Chemistry*. 100, 136–146.
- Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*. 1, 1–13.
- Kilincceker, O., Dogan, I. S., y Kucukoner, E. (2009). Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. *LWT: Food Science and Technology*. 42, 868–873.
- Kassell, J. (2016). Manchego cheese: A true taste of spain. *Shisler's Cheese House*. [Consultado en línea el: 05/06/2023]. Disponible en: <https://cheesehouse.com/cheese/manchego-cheese-a-true-taste-of-spain/>
- Lakna. (2023). What is the difference between *Lactobacillus acidophilus* and

*Lactobacillus rhamnosus*. PEDIAA. [Consultado en línea el: 10/02/2023]. Disponible en: <https://pediaa.com/what-is-the-difference-between-lactobacillus-acidophilus-and-lactobacillus-rhamnosus/>

Lara-Gómez, A. B., Aguirre-Loredo, R. Y., Castro-Rosas, J., Rangle-Vargas, E., Hernández-Juárez, M., y Gomez-Aldapa, C. A. (2022). Películas de almidón de papa (*Solanum tuberosum* L.), empaques innovadores para alimentos: Una revisión. *Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*. 10, 11–22.

Li, M., Wang, Y., Cui, H., Li, Y., Sun, Y., y Qiu, H. J. (2020). Characterization of lactic acid bacteria isolated from the gastrointestinal tract of a wild boar as potential probiotics. *Frontiers in Veterinary Science*. 7, 1–33.

Licata, M. (2023). [Consultado en línea el: 28/01/2023]. Disponible en: <https://www.zonadiet.com/tablas/lacteos.php>

Llorens, J. (2019). The nutritional properties of manchego cheese. *Josep Llorens Ifills Grupo*. [Consultado en línea el: 05/06/2023]. Disponible en: <https://www.josepllorens.com/en/the-nutritional-properties-of-manchego-cheese/>

Lu, M., y Wang, N. S. (2017). Spoilage of milk and dairy products. En A. Bevilacqua, M. R. Corbo, y M. Sinigaglia (Eds.), *The Microbiological Quality of Food: Foodborne Spoilers*. 151–178. Woodhead Publishing.

Magar, S. T. (2021). Microbial spoilage of meat and meat products. *Microbe Notes*. [Consultado en línea el: 28/01/2023]. Disponible en: <https://microbenotes.com/microbial-spoilage-of-meat-and-meat-products/>

Mahcene, Z., Khelil, A., Hasni, S., Bozkurt, F., Goudjil, M. B., y Tornuk, F. (2021). Home-made cheese preservation using sodium alginate based on edible film incorporating essential oils. *Journal of Food Science and Technology*. 58, 2406–2419.

Monteagudo-Mera, A., Rastall, R. A., Gibson, G. R., Charalampopoulos, D., y Chatzifragkou, A. (2019). Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 103, 6463–6472.

- Mortazavian, A. M., Ehsani, M. R., Mousavi, S. M., Rezaei, K., Sohrabvandi, S., y Reinheimer, J. A. (2007). Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic microorganisms in yogurt. *International Journal of Dairy Technology*. 60, 123–127.
- Mozaffarzogh, M., Misaghi, A., Shahbazi, Y., y Kamkar, A. (2020). Evaluation of probiotic carboxymethyl cellulose-sodium caseinate films and their application in extending shelf life quality of fresh trout fillets. *LWT: Food Science and Technology*. 126, 109305.
- Mozzi, F. (2016). Lactic Acid Bacteria. En B. Caballero, P. M. Finglas, y F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health*. 501–508. Academic Press.
- Multum, C. (2022). *Lactobacillus rhamnosus GG*. *Drugs.Com*. [Consultado en línea el: 09/02/2023]. Disponible en: <https://www.drugs.com/mtm/lactobacillus-rhamnosus-gg.html>
- Oregel, E., Aguilar, C., Salcedo, G., Angoa, Valentina, M., y Mena, G. (2016). Caracterización fisicoquímica de películas comestibles a base de cera de candelilla. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 17, 1–7.
- Parra-Huertas, R. A. (2009). Lactosuero: Importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 62, 4967–4982.
- Parra-Huertas, R. A. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 8, 93–105.
- Parzenese, M. (2013). Tecnologías para la industria alimentaria: Procesamiento de lactosuero. *Alimentos Argentinos*. 13, 1–9.
- Pavli, F., Kovaiou, I., Apostolakopoulou, G., Kapetanakou, A., Skandamis, P., Id, G. E. N., y Tassou, C. (2017). Alginate-based edible films delivering probiotic bacteria to sliced ham pretreated with high pressure processing. *International Journal of Molecular Sciences*. 18, 1867.
- Pavli, F., Tassou, C., y Nychas, G. E. (2018). Probiotic incorporation in edible films and coatings: Bioactive solution for functional foods. *International Journal of Molecular*

*Sciences*. 19, 150.

- Pescuma, M., Hébert, E. M., Mozzi, F., y Font de Valdez, G. (2008). Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology*. 25, 442–451.
- Petruzzi, L., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., y Bevilacqua, A. (2017). Microbial spoilage of foods: Fundamentals. En: *The Microbiological Quality of Food: Foodborne Spoilers*. 1–21. Woodhead Publishing.
- Pfeuffer, M., y Watzl, B. (2018). Nutrition and health aspects of milk and dairy products and their ingredients. *Ernahrungs Umschau*. 65, 22–33.
- Pop, O. L., Pop, C. R., Dufrechou, M., Vodnar, D. C., Socaci, S. A., Dulf, F. V., Minervini, F., y Suharoschi, R. (2020). Edible films and coatings functionalization by probiotic incorporation: A review. *Polymers*. 12, 1–15.
- Prabhakar, K., y Mallika, E. N. (2014). Preservatives: Permitted preservatives-sulfur dioxide. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (Second Edi). 3, 108-112. Elsevier Ltd.
- PROFECO. (2020). Queso manchego. *Revista Del Consumidor*. 518, 34–44.
- Ramírez-López, C., y Vélez-Ruíz, J. F. (2012). Quesos frescos: Propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 6, 131–148.
- Ramos, Ó. L., Pereira, J. O., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Franco, M. I., Lopes-da-Silva, J. A., Pintado, M. E., y Malcata, F. X. (2012). Evaluation of antimicrobial edible coatings from a whey protein isolate base to improve the shelf life of cheese. *Journal of Dairy Science*. 95, 6282–6292.
- Rendón-Villalobos, J. R., Solorza-Feria, J., Rodríguez-González, F., y Flores-Huicochea, E. (2017). Barrier properties improvement using additives. En A. M. Grumezescu (Ed.), *Food Packaging*. 465–495. Elsevier Inc.
- Research and Markets. (2022). Cheese Global Market Report 2022. Research and

Markets. [Consultado en línea el: 02/01/2023]. Disponible en:[https://www.researchandmarkets.com/reports/5606915/cheese-global-market-report2022?utm\\_source=CI&utm\\_medium=PressRelease&utm\\_code=s9c2xw&utm\\_campaign=1774213++Cheese+Global+Market+Report+2022%3A+by+Type%2C+Distribution+Channel%2C+Source%2C+Product+and+R](https://www.researchandmarkets.com/reports/5606915/cheese-global-market-report2022?utm_source=CI&utm_medium=PressRelease&utm_code=s9c2xw&utm_campaign=1774213++Cheese+Global+Market+Report+2022%3A+by+Type%2C+Distribution+Channel%2C+Source%2C+Product+and+R)

- Romani, S., Sacchetti, G., Pittia, P., Pinnavaia, G. G., y Dalla Rosa, M. (2002). Physical, chemical, textural and sensorial changes of portioned parmigiano reggiano cheese packed under different conditions. *Food Science and Technology International*. 8, 203–211.
- Roobab, U., Batool, Z., Manzoor, M. F., Shabbir, M. A., Khan, M. R., y Aadil, R. M. (2020). Sources, formulations, advanced delivery and health benefits of probiotics. *Current Opinion in Food Science*. 32, 17–28.
- Sáez-Orviz, S., Puertas, C., Marcet, I., Rendueles, M., y Díaz, M. (2020)a. Bioactive synbiotic coatings with lactobionic acid and *Lactobacillus plantarum* CECT 9567 in the production and characterization of a new functional dairy product. *Journal of Functional Foods*. 75, 104263.
- Sáez-Orviz, S., Rendueles, M., y Díaz, M. (2022)b. Preparation of edible films with *Lactobacillus plantarum* and lactobionic acid produced by sweet whey fermentation. *Membranes*. 12, 115.
- Salvetti, E., Torriani, S., y Felis, G. E. (2012). The genus *Lactobacillus*: A taxonomic update. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 4, 217–226.
- Santacruz, S., y Castro, M. (2018). Viability of free and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* incorporated to cassava starch edible films and its application to Manaba fresh white cheese. *LWT: Food Science and Technology*. 93, 570–572.
- Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Bassole, I. H. N., y Traore, S. A. (2006). Bacteriocins and lactic acid bacteria: A minireview. *African Journal of Biotechnology*. 5, 678–684.
- Secretaría de Salud. (1994). Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial de la

Federación.

- Selle, K. M., Klaenhammer, T. R., y Russell, W. M. (2014). *Lactobacillus: Lactobacillus acidophilus*. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2, 412-417. Elsevier Ltd.
- Shahbandeh, M. (2022). Global dairy industry-statistics and facts. *Statista*. [Consultado en línea el: 21/01/2023]. Disponible en: <https://www.statista.com/topics/4649/dairy-industry/#topicOverview>
- Shendurse, A. M., Gopikrishna, G., Patel, A. C., y Pandya, A. J. (2018). Milk protein based edible films and coatings—preparation, properties and food applications. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*, 8, 219–226.
- Shit, S. C., y Shah, P. M. (2014). Edible polymers: Challenges and opportunities. *Journal of Polymers*. 2014, 1–13.
- Singh, H., y Bennett, R. J. (2002). Milk and milk processing. En R. K. Robinson (Ed.), *Dairy Microbiology Handbook*. 1–38. John Wiley & Sons, Inc.
- Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., y Jiménez-Martínez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 21, 30–42.
- Soujanya, R., y Hema, V. (2021). Preparation and characterization of edible film from barnyard millet starch. *International Journal of Chemical Studies*. 9, 2225–2231.
- Soukoulis, C., Singh, P., Macnaughtan, W., Parmenter, C., y Fisk, I. D. (2016). Food hydrocolloids compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. *Food Hydrocolloids*. 52, 876–887.
- Sousa, M. J., Ardo, Y., y McSweeney, P. L. H. (2001). Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*. 11, 327–345.
- Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., y Vicente, A. A. (2010). The use of electric fields for edible coatings and films development and production: A review. *Food Engineering Reviews*. 2, 244–255.

- Stefanov, I., Baeten, V., Abbas, O., Colman, E., Vlaeminck, B., De Baets, B., y Fievez, V. (2010). Analysis of milk odd- and branched-chain fatty acids using fourier transform (FT)-raman spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 10804–10811.
- Suppakul, P., Jutakorn, K., y Bangchokedee, Y. (2010). Efficacy of cellulose-based coating on enhancing the shelf life of fresh eggs. *Journal of Food Engineering*. 98, 207–213.
- Surekha, M., y Reddy, S. M. (2014). Preservatives: Classification and properties. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition (Second Edi)*. 3, 69-75. Elsevier Ltd.
- Tapia, M. S., Rojas-Graü, M. A., Rodríguez, F. J., Ramírez, J., Carmona, A., y Martín-Belloso, O. (2007). Alginate- and gellan-based edible films for probiotic coatings on fresh-cut fruits. *Journal of Food Science*. 72, 190–196.
- Temiz, N. N., y Özdemir, K. S. (2021). Microbiological and physicochemical quality of strawberries (*Fragaria × ananassa*) coated with *Lactobacillus rhamnosus* and inulin enriched gelatin films. *Postharvest Biology and Technology*. 173, 111433.
- Taborda, G., Gómez-Ruiz, J. A., Martínez-Castro, I., Amigo, L., Ramos, M., y Molina, E. (2007). Taste and flavor of artisan and industrial manchego cheese as influenced by the water-soluble extract compounds. *European Food Research and Technology*. 227, 323–330.
- Trinetta, V. (2016). Edible packaging. *Reference Module In Science*. 1–3.
- Valerio, F., Grazia, M., Santagata, G., Boscaino, F., Barbarisi, C., Di, M., Rita, A., Lisa, S., y Lavermicocca, P. (2020). The viability of probiotic *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 coating on apple slices during dehydration and simulated gastrointestinal digestion. *Food Bioscience*. 34, 100533.
- Valík, L., Medved'ová, A., y Liptáková, D. (2008). Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. *Journal of Food and Nutrition Research*. 47, 60–67.

- Vázquez-Luna, A., Santiago, M., Rivadeneyra-Domínguez, E., y Díaz-Sobac, R. (2019). Películas comestibles a base de almidón nanoestructurado como material de barrera a la humedad. *Biotecnología y Ciencias Agropecuarias*. 13, 152–164.
- Viña, S. Z., Mugridge, A., García, M. A., Ferreyra, R. M., Martino, M. N., Chaves, A. R., y Zaritzky, N. E. (2007). Effects of polyvinylchloride films and edible starch coatings on quality aspects of refrigerated Brussels sprouts. *Food Chemistry*. 103, 701–709.
- Visakh, P., Mathew, A. P., Oksman, K., y Thomas, S. (2012). Starch-based bionanocomposites: processing and properties. En Y. Habibi y L. A. Lucia (Eds.), *Polysaccharide Building Blocks: A sustainable Approach to the Development of Renewable Biomaterials*. 289–308. John Wiley & Sons, Inc.
- Wai, S. N., How, Y. H., Saleena, L. A. K., Degraeve, P., Oulahal, N., y Pui, L. P. (2022). Chitosan–sodium saseinate composite edible film incorporated with probiotic *Limosilactobacillus fermentum*: Physical properties, vability, and antibacterial properties. *Foods*. 11, 3583.
- Walczak-Nowicka, Ł. J., y Herbet, M. (2022). Sodium benzoate—harmfulness and potential use in therapies for disorders related to the nervous system: A review. *Nutrients*. 14, 1497. 7
- Wichchukit, S., y O'Mahony, M. (2015). The 9-point hedonic scale and hedonic ranking in food science: Some reappraisals and alternatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95, 2167–2178.
- Youssef, K., Ippolito, A., y Roberto, S. R. (2022). Postharvest diseases of fruit and vegetable: Methods and mechanisms of action. *Frontiers in Microbiology*. 13, 900060.