Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

"USO DE ULTRASONIDO DE POTENCIA COMO PRETRATAMIENTO DE DISPERSIONES DE POLÍMEROS ALIMENTICIOS PARA ELABORAR BIOPELÍCULAS APLICADAS EN UN PRODUCTO CÁRNICO FRESCO INYECTADO."

TESIS PROFESIONAL

Presentada para obtener el Título de:

Licenciatura en Ingeniería en Alimentos

Presenta:

KARLA ITZEL GUTIÉRREZ PASCUAL

Director de Tesis:
Dr. Héctor Ruiz Espinosa

Co- asesor de Tesis:
Ing. Lourdes Pérez Jiménez (Peisa Foods)

Noviembre de 2020

Oficio No. FIQ/AC/500/2019
Asunto: Registro de Tema de Tesis

C. KARLA ITZEL GUTIÉRREZ PASCUAL
PASANTE DE LA LICENCIATURA
EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS
P R E S E N T E:

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Alimentos cuyo título es el siguiente:

"USO DE ULTRASONIDO DE POTENCIA COMO PRETRATAMIENTO DE DISPERSIONES DE POLÍMEROS ALIMENTICIOS PARA ELABORAR BIOPELÍCULAS APLICADAS EN UN PRODUCTO CÁRNICO FRESCO INYECTADO"

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	**ANTECEDENTES**
CAPÍTULO 2	**METODOLOGÍA**
CAPÍTULO 3	**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA

Director de Tesis: Dr. Héctor Ruiz Espinosa
Co-Director de Tesis: Ing. Lourdes Pérez Jiménez

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO.**

A T E N T A M E N T E
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., 04 de julio de 2019

M.I.C. MA. GPE. TITA VAZQUEZ E. DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADÉMICA

C.c.p. Director de Tesis: Dr. Héctor Ruiz Espinosa
C.c.p. Co-Director de Tesis: Ing. Lourdes Pérez Jiménez
C.c.p. Archivo.

Facultad de Ingeniería Química
Av. San Claudio s/n, Col. San Manuel, Ciudad Universitaria, Puebla, Pue. C.P. 72590
01 (222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

Ingeniería Química	( )
Ingeniería Ambiental	( )
Ingeniería en Alimentos	(*)
Ingeniería en Materiales	( )

Matricula: 201310768

Al C. Sustentante Karla Itzel Gutiérrez Pascual

De acuerdo a la **presentación y revisión** de la tesis:

USO DE ULTRASONIDO DE POTENCIA COMO PRETRATAMIENTO DE DISPERSIONES DE POLÍMEROS ALIMENTICIOS PARA ELABORAR BIOPELÍCULAS APLICADAS EN UN PRODUCTO CÁRNICO FRESCO INYECTADO se aprueba la impresión y empastado de la misma.

Jurado de examen profesional:

		Firma
Presidente:	Dra. Edith Corona Jiménez	
Secretario:	Dra. Paola Hernández Carranza	
Vocal:	Dr. Héctor Ruiz Espinosa	

Fecha de examen: 14 de diciembre de 2020

H. Puebla de Zaragoza a 9 de noviembre de 2020.

DEDICATORIA

Mamá:

Te dedico este espacio porque tu más que nadie me conoce tal cual soy, porque sabes mi fortalezas y debilidades y a pesar de todo estas aquí, conmigo.

Te agradezco por darme la oportunidad que muchos otros no tienen y que sin embargo, gracias a tu infinito amor, esfuerzo y dedicación me has permitido alcanzar una meta más en mi vida.

Gracias por todas las herramientas que me has brindado en el transcurso de mi vida, por sacarme adelante sola, tanto económicamente como emocional, porque a pesar de las circunstancias siempre te mostraste fuerte y optimista ante a mí, y que aunque hubo y aún hay días en que yo misma me limito, dudo de mí o pienso en rendirme tu siempre estás ahí, alentándome y recordándome de lo que soy capaz. Gracias mamá porque muchas de mis dificultades las supere debido a tus enseñanzas y por hacerme más fuerte ante cualquier adversidad, sin tu ayuda seguiría viendo la vida de manera muy diferente.

Muchas gracias por siempre ofrecerme una sonrisa sincera ante cualquier situación, por tu grata compañía y todos los momentos llenos de alegría y tranquilidad, por siempre creer en mí, por tu inigualable paciencia, comprensión y apoyo incondicional, soy feliz por compartir cada uno de mis días contigo y que gracias a la fortaleza que tuviste hemos podido salir juntas adelante.

Hoy y siempre, estaré eternamente agradecida por tenerte como mamá, te quiero mucho.

Con cariño

Karla

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la universidad, por abrirme las puertas a esta aventura, por permitirme conocer mi última etapa formal como estudiante y llenarme de tantas experiencias, unas muy buenas y otras no tanto pero todas inolvidables y con un aprendizaje. A mis maestros por el conocimiento compartido y a mis amigos por los momentos vividos.

A mi asesor de tesis el Dr. Héctor Ruiz Espinosa, quien por su pasión a lo que hace me inspiro a entrar a esta maravillosa carrera. Gracias por sus enseñanzas, ideas y conocimientos compartidos, además de su valiosa colaboración y orientación en el desarrollo de esta investigación.

A la empresa Peisa Foods por permitirme realizar las pruebas de aplicación de esta tesis, principalmente al jefe de área de Innovación y Desarrollo Ing. Eduardo Melo. A la Ing. Lourdes Pérez Jiménez (Co-asesora) y al Ing. Eduardo Cadena por todo el apoyo y seguimiento que me dieron durante mi estancia en la empresa y a los demás integrantes de esta área por su gran amabilidad y compañerismo. Gracias especialmente a la Ing. Lourdes por todo su tiempo, disposición y contribución en este trabajo.

A mis sinodales la Dra. Edith Corona Jiménez y la Dra. Paola Hernández Carranza por formar parte de mi jurado y mi transcurso académico, por sus comentarios, observaciones y tiempo dedicados a este trabajo.

Agradezco a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para enfrentar las metas que me propongo. A mi mamá Rocío y a mi hermano Carlos por todo su cariño, confianza, ánimos y apoyo incondicional. También a mi abue Yoli, mi mancuerna favorita, que aunque ya no está conmigo físicamente siempre confió en mí. A mis tíos Claudia y Alfredo por su gran afecto y apoyarme en su momento.

A mis amigos de laboratorio: Omar, Charly, Jis, Karen, Mariana, Sarita y Alhelí por su agradable plática y compañía mientras cada uno hacia sus respectivas invenciones. Principalmente a Karlita por ser una excelente amiga y compartir conmigo esta etapa, por su gran apoyo, paciencia y locura. Gracias porque en tan poco tiempo de conocernos lograste hacer grandes momentos.

A Karly Zumman por animarme a hacer la tesis y ayudarme a persistir ante diversas situaciones que pensé que no podría y que aunque no logro en su totalidad se ha empeñado en ayudarme a ser alguien cada vez un poco mejor.

Índice

Índice de Tablas iv
Índice de Figuras v
Resumen vi
Summary vii
Capítulo 1. Introducción 1
Objetivo general 5
Objetivos específicos 5
Hipótesis 6
Capítulo 2. Marco teórico 7
2.1 Biopelículas 7
2.1.1 Biopolímeros y otros ingredientes para la formación de películas 8
2.1.1.1 Biopolímeros 8
2.1.1.2 Hidrocoloides 9
2.1.1.3 Polisacáridos 10
2.1.1.4 Proteínas 11
2.1.1.5 Lípidos 12
2.1.1.6 Plastificantes 14
2.1.2 Películas a base de polisacáridos 15
2.1.2.1 Almidón 15
2.1.2.2 Almidones modificados 17
2.1.2.3 Almidones tipo OSA 18
2.1.2.4 Almidón en la formación de películas 19
2.1.2.5 Carragenina 21
2.1.2.6 Tipos de carrageninas 22
2.1.2.7 Kappa carragenina 23
2.1.2.8 Carrageninas en la formación de películas 23
2.1.2.9 Mezclas de polisacáridos para elaboración de películas 24
2.1.3 Proceso de elaboración de películas 26
2.1.4 Métodos de formación o aplicación 27
2.2 Técnicas para modificar propiedades en polímeros degradables 29

2.2.1 Ultrasonido de potencia 29
2.2.1.1 Tipos de ultrasonido 30
2.2.1.2 Equipos de ultrasonido 31
2.2.1.3 Uso de ultrasonido de potencia para modificación de biopolímeros y elaboración de películas 33
2.3 Aplicación de biopelículas para la protección de productos cárnicos 35
2.3.1 Problemas asociados al uso de empaques plásticos en cárnicos 37
Capítulo 3. Marco metodológico 41
3.1 Plan de investigación 41
3.2 Materiales 42
3.3 Métodos 43
3.3.1 Preparación de dispersiones 43
3.3.2 Tratamientos con y sin ultrasonido de potencia 43
3.3.3 Calibración calorimétrica 44
3.3.4 Preparación y acondicionamiento de biopelículas 45
3.3.5 Pruebas de caracterización de películas 45
3.3.5.1 Propiedades ópticas 46
3.3.5.1.1 Color 46
3.3.5.1.2 Opacidad 47
3.3.5.2 Propiedades físicas y mecánicas 48
3.3.5.2.1 Espesor 48
3.3.5.2.2 Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) 48
3.3.5.3 Propiedades funcionales 50
3.3.5.3.1 Permeabilidad de películas 50
3.3.5.3.2 Solubilidad de películas 51
3.3.6 Aplicación de película en un producto cárnico fresco inyectado y evaluación de cambios en el producto durante el almacenamiento 52
3.3.7 Diseño experimental y análisis de datos 55
Capítulo 4. Resultados y discusión 56
4.1 Selección de la razón kappa carragenina: almidón modificado 56
4.2 Tratamientos con y sin ultrasonido de potencia 57
4.3 Caracterización de películas 58

4.3.1 Propiedades ópticas....58
4.3.1.1 Color....58
4.3.1.2 Opacidad....60
4.3.2 Propiedades físicas: Espesor....62
4.3.3 Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) y Elongación....65
4.3.4 Propiedades funcionales....68
4.3.4.1 Permeabilidad al vapor de agua....68
4.3.4.2 Solubilidad....70
4.3.5 Selección de película para pruebas con producto alimenticio....72
4.4 Aplicación de película en un producto cárnico fresco inyectado....73
4.4.1 Color....73
4.4.2 Pérdida de peso....77
Capítulo 5. Conclusiones y trabajo futuro....83
Capítulo 6. Referencias....86
ANEXO 1. Calibración calorimétrica....99
ANEXO 2. 102
ANEXO 3. Datos promedios ± desviación estándar de pérdida de peso en carne emplayada con películas biodegradables ultrasonicadas vs. control....118

Índice de Tablas

Tabla 1. Diferentes materiales para la formación de biopelículas y su función en aplicaciones alimenticias selectas (adaptada de Lin y Zhao, 2007) 25
Tabla 2. Tratamiento ultrasónico de componentes de mezcla polimérica para elaboración de películas 42
Tabla 3. Concentración (g/100g) de Kappa carragenina (KC) y almidón modificado (AM) en dispersiones acuosas para preparación de biopelículas. 44
Tabla 4. Calor especifico de cada componente de la dispersión. * 57
Tabla 5. Chroma y Hue de biopelículas elaboradas con polímeros selectos tratados por ultrasonido de potencia 59
Tabla 6. Opacidad reflejada en las biopelículas 61
Tabla 7. Espesor calculado en cada tratamiento de biopelículas 63
Tabla 8. Esfuerzo de tracción a la ruptura y Elongación de las biopelículas 65
Tabla 9. Permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas 69
Tabla 10. Solubilidad en cada tratamiento de biopelículas 71
Tabla 11. Resumen de características de biopelículas de KC: AM con o sin pretratamiento USP de componentes selectos 73
Tabla 12. Cambio en parámetros de color de carne de cerdo almacenada 8 días en refrigeración con películas USP vs control 74
Tabla 13. Cambio de peso en carne de cerdo almacenada 8 días en refrigeración con películas USP vs control 78

Índice de Figuras

Figura 1. Ejemplo de biopelícula 7
Figura 2. Componentes del almidón 16
Figura 3. Estructura de octenil succiníco anhidro 19
Figura 4. Algas marinas de género Rodophyta 21
Figura 5. Estructura química de los diferentes tipos de carragenina 22
Figura 6. Biopelículas vs. Factores extrínsecos de deterioro 25
Figura 7. Proceso de elaboración de una biopelícula 27
Figura 8. Método de inmersión 28
Figura 9. Método casting 28
Figura 10. Método de aspersión 28
Figura 11. Fenómeno de cavitación durante un tratamiento de ultrasonido de potencia 30
Figura 12. Baño de ultrasonido, equipo y esquema de uso 32
Figura 13. Bocina ultrasónica, equipo y esquema de uso 32
Figura 14. Ultrasonido con sonda, equipo y esquema de uso 33
Figura 15. Biopelícula para carne de cerdo 36
Figura 16. Biopelícula de almidón de malanga. 37
Figura 17. Biopelícula de colágeno en filete de cerdo. 37
Figura 18. Empaques utilizados en la industria cárnica. 38
Figura 19. Espacio de color CIE LAB 46
Figura 20. Análisis de una muestra por medio de un espectrofotómetro 47
Figura 21. Micrómetro manual 48
Figura 22. Prueba de ETR y Elongación en biopelícula formada por KC-AM. 49
Figura 23. Gráfica ETR vs Elongación de películas 49
Figura 24. Frascos en cámara de temperatura controlada. 51
Figura 25. Películas en agua destilada 52
Figura 26. Recuperación de películas por medio de papel filtro 52
Figura 27. Uso de biopelícula en recipiente contenedor de carne. 53
Figura 28. Medición de color en carne fresca 54
Figura 29. Ejemplo de pesado de la carne 55
Figura 30. Películas elaboradas a diferentes razones KC: AM 56
Figura 31. Transparencia de películas comestibles de KC: AM con y sin pretratamiento ultrasónico en uno o más polímeros. 63
Figura 32. Evolución de la apariencia de la carne durante almacenamiento refrigerado en películas de biopolímeros vs. plástico comercial. 76
Figura 33. Cambios en peso de carne con películas USP vs control durante almacenamiento refrigerado. 78

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el uso de ultrasonido de potencia (USP) como pretratamiento de mezclas de dispersiones de polímeros alimenticios para la elaboración de biopelículas, determinando cambios en sus características tecnológico-funcionales y evaluando su aplicación en un producto cárnico fresco inyectado.

La elaboración de biopelículas se realizó a partir de mezclas de Almidón Modificado de maíz ceroso (AM) (HI-CAP 100, Ingredion, Inglaterra), Kappa Carragenina Refinada (KC) (HX Gel RP 1000, Peisa Foods) y glicerol grado alimenticio (como humectante). Se realizaron 4 tratamientos distintos en dispersiones poliméricas al 0.75% (p/v): el primero (A) sin USP, (B) con USP en dispersión de almidón modificado, (C) con USP en dispersión de k-carragenina y (D) con USP en dispersiones de almidón modificado y k-carragenina por separado. Todos los tratamientos se elaboraron a la misma razón de mezcla KC: AM (1:3)

Las biopelículas se elaboraron de acuerdo con el método de *casting*, realizando la mezcla de las dispersiones ya mencionadas. El *casting* se realizó sobre una superficie plana, dejándose secar a una temperatura de 38 °C en una estufa convectiva durante 12 h. En las películas elaboradas se realizaron pruebas de textura (Elongación y Esfuerzo de tracción a la ruptura, ETR) ópticas (Colorimetría y Opacidad) y funcionales (Permeabilidad al vapor de agua y solubilidad). Cada biopelícula exhibió características distintivas en al menos una de las pruebas realizadas y fueron posteriormente aplicadas individualmente en piezas de carne fresca, sometidas a almacenamiento refrigerado durante 8 días; la carne empacada fue analizada para determinar la pérdida de peso y cambio de color como índices de calidad. La biopelícula B fue más apropiada para su aplicación en un cárnico fresco pues poseía propiedades texturales significativamente mejoradas con respecto al control y una permeabilidad mejorada en comparación a un plástico comercial. El pretratamiento de USP permitió mejorar las características de barrera y el desempeño de películas de KC:AM aplicadas en un producto cárnico.

Summary

The main goal of this project was evaluating power ultrasound (PUS) as a pretreatment of mixtures of selected food polymers for the preparation of edible biofilms, assessing possible changes in their technological features while evaluating their application in an injected fresh meat product.

A modified waxy maize starch (MS) (HI-CAP 100, Ingredion, UK), a refined Kappa Carrageenan (KC) (HX Gel RP 1000, Peisa Foods) and food-grade glycerol (as a humectant agent) were used as film components. Four different pretreatments were compared: (A) Control (no PUS-treated), (B) Starch only PUS-treated, (C) K-carrageenan-only treated starch and (D) both PUS-treated polymers. After the pretreatments, the polymer mixes were prepared using the same KC:AM ratio (1:3).

The biofilms were prepared using the *casting* method using the polymer mix in a convective oven at 38°C for 12 h. Textural (Elongation, tensile strength) optical (colorimetry, opacity) and technological (water vapor permeability, solubility) tests were performed on the films. All films prepared with one or both PUS-treated polymers exhibit unique functional characteristics in at least one of the evaluated features; later on, they were individually applied to fresh meat cuts and kept under refrigeration for 8 days; packed meat were evaluated for weight loss and color deterioration as quality factors. Biofilm B turn out to be the best biofilm to be used with fresh meat cuts as film textural properties were greatly enhanced by the PUS treatment in comparison with the untreated control, while permeability was improved when compared with a commercial plastic film. PUS allowed to improve barrier properties and performance of KC: MS films applied to a meat product.

Capítulo 1. Introducción

Dentro del mercado de alimentos, la comercialización de carne fresca es un segmento relevante y de amplio crecimiento. Los productos cárnicos frescos son aquellos que no se han sometido a procesos de conservación distintos a la refrigeración, congelación o ultracongelación. Dentro de estos también se incluye a la carne envasada al vacío o en atmósfera controlada. Los productos sometidos a estas condiciones se estabilizan con ingredientes y aditivos, generando una vida útil corta; además el músculo se bombea para aumentar el rendimiento y controlar la pérdida de goteo cuando se cocina. Este tipo de productos también demanda empaques apropiados, resistentes y versátiles que permitan conservar sus características durante el almacenamiento a bajas temperaturas. La tecnología detrás del envasado de carne tiene un gran impacto no solo en la seguridad del producto, sino también en su vida útil, la cual depende principalmente de las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del alimento. Para la selección del tipo de empaque se deben considerar diversos factores, ya que la carne es uno de los alimentos de alto consumo que resulta ser más perecedero debido a su alto contenido en agua, composición rica en nutrientes variados y pH cercano a la neutralidad. Algunos de los materiales comúnmente usados para empacar carne fresca incluyen papel parafinado, polietileno, acetato de celulosa, cloruro de polivinilo, alcohol de olivinilo, entre otros; sin embargo, además de su alto costo, pueden representar un problema desde el punto de vista ambiental, dado que algunos de ellos no son degradables o son de lenta degradación.

Una alternativa amigable con el ambiente para la preservación de productos alimenticios es el uso de biopelículas, las cuales, además de ser biodegradables resultan prometedoras para la conservación de carnes crudas y procesadas, gracias a su efecto de barrera y a su costo relativamente asequible (Velázquez y Guerrero, 2014). Las biopelículas se utilizan en gran diversidad de productos alimenticios, tales como frutas, hortalizas, carnes, productos de panificación, productos lácteos, entre otros., con el fin de preservar sus características

nutricionales, sensoriales y prolongar su vida útil. Su funcionalidad y desempeño dependen de las propiedades de barrera y mecánicas derivadas de la composición de la matriz polimérica, del proceso de formación y del método de aplicación; por lo que es posible aplicarlas para aumentar la integridad del alimento, la apariencia y para prevenir las reacciones de rancidez (López *et al.,* 2013). Las propiedades de barrera de las biopelículas más frecuentes son polisacáridos, lípidos y proteínas o combinaciones de ellos. En general, ofrecen protección frente a los gases y la humedad, evitan la pérdida de aromas y la deshidratación de los productos y, en muchos casos, mejoran su textura y apariencia (Bourtoom, 2008). Los materiales con los que se fabrican las películas son muy diversos y aportan características diferentes a las mismas; así, las películas de naturaleza proteica se fabrican con caseína, albúmina de huevo, proteínas de soya, zeína, gluten de trigo, colágeno y gelatina principalmente, además del uso de plastificantes (glicerol, polietilenglicol) que podrían incrementar la resistencia mecánica de estos materiales. En cambio, las biopelículas basadas en polisacáridos tienen excelentes propiedades mecánicas y estructurales. Estos son muy hidrofílicos e imparten capacidad de compactación, viscosidad y formación de gel a las películas.

Para empacar carne fresca, la película debe tener una baja permeabilidad al vapor de agua y buena permeabilidad al oxígeno; además no debe transmitir ningún olor o exhibir características de migración. Mientras tanto, los productos cárnicos cocidos y curados requieren esencialmente una barrera de oxígeno absoluta, además de que las carnes curadas deben envasarse en películas opacas ya que pueden foto oxidarse. En la industria cárnica para la elaboración de biopelículas se utilizan principalmente las proteínas y polisacáridos, como películas compuestas, ya que son muy efectivas como barreras a gases (O2 y CO2), pero su permeabilidad al vapor de agua es relativamente elevada.

Las películas compuestas pueden formarse por extrusión de mezclas de polisacáridos, proteínas o lípidos, además de que sus propiedades funcionales dependen no solo de las características de la película individual sino también de la

interacción entre los componentes. Esfuerzos de investigación recientes se han centrado en la búsqueda de variables de proceso que permitan modular las características tecnológicas/funcionales de polímeros. Estas variables incluyen tratamientos tradicionales (térmicos, enzimáticos, etc.) y emergentes (alta presión, campos eléctricos pulsados, ultrasonido de potencia) que buscan afectar estructuralmente a los polímeros y con ello, alterar sus interacciones y diversificar sus aplicaciones en productos alimenticios selectos, como carne fresca.

El ultrasonido es una onda acústica por encima del umbral de percepción auditiva humana (>16 kHz). La onda acústica es la propagación de ondas mecánicas de presión y desplazamiento a través de un medio, como ondas longitudinales, que exhiben regiones de alta y baja presión. Las ondas longitudinales son aquellas en que el desplazamiento del medio está en la misma dirección que la onda (O' Sullivan *et al.,* 2016).

El ultrasonido se puede clasificar en dos categorías, ultrasonido de alta frecuencia (100 kHz-1 MHz), baja intensidad (<1 W cm-2), y ultrasonido de baja frecuencia (20-100 kHz), de alta intensidad (10-1000 W cm-2). El primero ha sido utilizado para la evaluación analítica de las propiedades fisicoquímicas de los alimentos (Valenzuela, 2016) mientras que el segundo para la alteración y modificación de alimentos ya sea física o químicamente (Robles y Ochoa, 2012).

El ultrasonido de potencia ha despertado un interés significativo entre investigadores del área alimenticia y, recientemente, entre procesadores industriales de alimentos, ya que posee una amplia gama de usos como tecnología disruptiva de alta energía que lo convierte en una alternativa de procesamiento versátil (por ejemplo para procesos de homogeneización y mezclado) y para la generación de microestructuras (a través de procesos de emulsificación, espumado, etc.). Recientemente, se ha explorado su uso como modificador de estructuras de polímeros alimenticios, sobre todo polisacáridos (gomas, compuestos de almidón, etc.) y proteínas, alterando en consecuencia las propiedades tecno-funcionales de estos componentes incluyendo viscosidad,

solubilidad, formación de geles, capacidad de formación de películas, entre otras (Nielsen *et al.,* 2011).

Sectores de la industria alimentaria han buscado modificar las propiedades de polímeros alimenticios capaces de conformar biopelículas; esto se ha intentado mediante la aplicación de diferentes pretratamientos entre los cuales recientemente destaca el ultrasonido de potencia, ya que permite mejorar sus características físicas mediante procesos de bajo costo, además de ser considerada una tecnología amigable con el medio ambiente (Jambrak, 2017). Diversos estudios indican que la aplicación de ultrasonido de potencia en dispersiones de polímeros alimenticios puede modificar su estructura y propiedades de formación de película; así, Kang y Min (2010) reportan cambios en las propiedades de películas desarrolladas a partir de cáscara de patata pretratadas por ultrasonido de alta potencia, considerando que éste permitía reducir el tamaño de partícula lo suficiente para permitir la formación de película con características tecnológicas modificadas. Similar a lo anterior también Chung *et al.,* (2002) reportan que el tratamiento con ultrasonido en almidón de diferentes orígenes (arroz, papa, soya verde) afecta la estructura de sus gránulos en diferente dimensión, ya que tiene un ligero efecto sobre el tamaño molecular. Además, Renata *et al.,* (2005) concluyen que el ultrasonido es un eficiente método para la reducción del peso molecular del mismo. Sin embargo, también Romero *et al.,* (2016) describen una disminución en la viscosidad de soluciones de almidón de maíz tratadas con ultrasonido, esto debido al rompimiento parcial de los enlaces glicosídicos del almidón. Recientemente se ha reportado la reducción de tamaño de caseínas agregadas en dispersiones acuosas, cambiando de un tamaño micrométrico a especies de tamaño nanométrico lo cual permitirá alterar las propiedades de formación de película (Sutariya *et al.,* 2018). Debido a esto diversas investigaciones han explorado el uso de ultrasonido como agente de modificación de propiedades tecno funcionales en mezclas de polímeros, lo cual indica que no solo modifican la estructura, sino que también pueden modificar sus interacciones. Por lo tanto, se considera de interés realizar investigaciones sobre

aplicaciones de tratamientos selectos de ultrasonido de potencia para modular la funcionalidad tecnológica de mezclas de polímeros en dispersión acuosa, siendo su objetivo principal contrarrestar las deficiencias propias de cada componente y así poder mejorar las propiedades y características de la película (Tharanathan, 2003). Sin embargo, no se ha encontrado evidencia del uso de ultrasonido de potencia para modificar mezclas de carragenina y almidón modificado para su uso como biopelícula en cárnicos frescos. Debido a esto, la presente investigación se centrará en la búsqueda de tratamientos de ultrasonido apropiados que permitan modular las características de estas mezclas poliméricas para la formación de películas, así como la correcta aplicación de ésta en un producto cárnico apropiado. Para ello, se definen los siguientes objetivos general y específicos, así como una hipótesis de trabajo.

Objetivo general

Evaluar el ultrasonido de potencia como pretratamiento de mezclas de dispersiones de polímeros alimenticios (almidón modificado y κ-carragenina) para la elaboración de biopelículas, determinando cambios en sus características tecnológico-funcionales en comparación con un pretratamiento térmico y evaluando su aplicación en un producto cárnico fresco inyectado.

Objetivos específicos

- Evaluar razones selectas de mezclas de almidón modificado: carragenina (KC: AM) dispersas en medio acuoso seleccionando aquella más apropiada para la formación de biopelículas.
- Elaborar biopelículas de la mezcla KC: AM seleccionada a partir de dispersiones poliméricas con y sin un pretratamiento de ultrasonido de potencia (24KHz, 400W nominales, 2 min).

- Determinar las propiedades mecánicas (Elongación y Esfuerzo de tracción a la Ruptura) y ópticas (color triestímulo, opacidad) de películas elaboradas con las mezclas de hidrocoloides con y sin tratamiento ultrasónico.
- Evaluar la solubilidad y permeabilidad al vapor de agua de las películas elaboradas.
- Seleccionar formulaciones de películas adecuadas de acuerdo a las propiedades evaluadas y comprobar su funcionalidad como agente de protección de un producto cárnico inyectado durante su almacenamiento refrigerado.

Hipótesis

El uso de ultrasonido de potencia como pretratamiento de dispersiones poliméricas de almidón modificado y kappa carragenina mejorará las características tecnológicas de biopelículas elaboradas con una mezcla de éstas y su aplicación en un producto cárnico fresco permitirá prolongar su vida útil en almacenamiento refrigerado y/o facilitar su manejo.

Capítulo 2. Marco teórico

2.1 Biopelículas

Una biopelícula se define como una capa delgada formada por materiales comestibles, empleada sobre la superficie de un alimento con el propósito de extender su vida útil y proporcionarle una barrera efectiva contra los riesgos que se presentan en el medio ambiente. El uso de biopelículas se considera una tecnología respetuosa con el medio ambiente por varios aspectos esenciales. En primer lugar, disminuye el uso excesivo de envasados plásticos tradicionales, además de estar formadas por polímeros naturales y biodegradables, es decir, que pueden ser obtenidos a partir de recursos naturales o extraídos a partir de los subproductos de las industrias agroalimentarias. Asimismo, pueden ser envases activos cuando se incorporan antioxidantes o aditivos naturales con propiedades antimicrobianas en la formación de la matriz polimérica (De Ancos *et al.,* 2015).

Las biopelículas, como la mostrada en la Figura 1, no sólo se limitan a proteger algunos alimentos, sino también son utilizadas para darles una mejor apariencia estética a los mismos (como en diversas frutas, incluyendo manzanas y cítricos). Algunos otros usos en los que se incluyen estas películas son en el recubrimiento de algunos dulces y medicamentos en tabletas. Gracias a diversos avances en investigación de polímeros se han identificado recursos naturales que pueden servir para la elaboración de películas. Domínguez y Jiménez (2012) mencionan que una película debe evitar la oxidación de lípidos y pérdida de compuestos volátiles, además de funcionar como una barrera selectiva a la transferencia de humedad y gases.

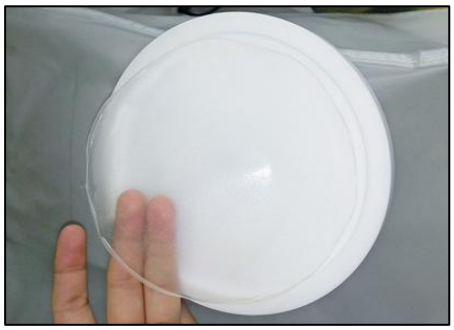


Figura 1. Ejemplo de biopelícula

2.1.1 Biopolímeros y otros ingredientes para la formación de películas

Las biopelículas se pueden fabricar a partir de biopolímeros con características adecuadas para formarla, incluyendo propiedades mecánicas y de permeabilidad. Gran variedad de materias primas de origen biológico, incluyendo polisacáridos, proteínas, y lípidos, han sido propuestas para la preparación de biopelículas, tanto de manera individual como en conjunto, los cuales previamente se dispersan en agua para posteriormente formar una matriz polimérica y ser secadas a una temperatura requerida. (Viroben *et al.,* 2000). Dentro de los polisacáridos más estudiados se incluyen la celulosa y algunos de sus derivados, carrageninas, gomas, pectina, almidón y alginatos. En el caso de los lípidos los más utilizados son las ceras y algunos triglicéridos (Sasmal *et al.,* 2009). Por otro lado, entre las proteínas principales mayormente utilizadas se encuentran la gelatina, el colágeno y algunas de origen vegetal como las de soya y maíz, aunque recientemente se han empezado a explorar algunas proteínas vegetales emergentes como las de chícharo, haba y cáñamo. Además de estos materiales también se considera indispensable el uso de plastificantes como glicerol o sorbitol, a fin de proporcionar la flexibilidad y extensibilidad deseada a las películas (Cervera *et al.,* 2004). Para lograr la funcionalidad efectiva de una película es importante tomar en cuenta sus propiedades mecánicas, funcionales y físicas (Antonio *et al.,* 2016).

2.1.1.1 Biopolímeros

Un polímero es un compuesto orgánico, que puede ser de origen natural o sintético, con alto peso molecular, formado por la unión de unidades estructurales repetitivas llamadas monómeros. Los polímeros que son de origen natural son llamados biopolímeros, los cuales son macromoléculas que se desarrollan a partir de los seres vivos y por lo mismo una vez que son desechados pueden biodegradarse. Los biopolímeros naturales provienen de cuatro fuentes principales, la primera es de origen animal como es el colágeno y la gelatina, la

segunda es de origen marino como es el caso de la quitina y el quitosano, la tercera es de origen agrícola donde se abarcan lípidos, grasas e hidrocoloides, como son las proteínas y los polisacáridos. Finalmente, se encuentran las de origen microbiano donde pueden citarse al ácido poliláctico (PLA) y los polihidroxialcanoatos (PHA) (Villada *et al.,* 2007).

2.1.1.2 Hidrocoloides

Los hidrocoloides también conocidos como gomas son un extenso grupo de polímeros de cadenas largas que se identifican por su facilidad de formar dispersiones viscosas y/o geles cuando se mezclan con agua, estos polímeros contienen un gran número de grupos hidroxilo en su estructura y por lo mismo su afinidad por las moléculas de agua aumenta notablemente, convirtiéndolos en compuestos hidrófilos ya que atrapan el agua dentro de su estructura ramificada y polimérica. Las dispersiones que estos producen contienen características intermedias entre una solución y una suspensión, exhibiendo propiedades coloidales (Rodríguez y Sandoval, 2003). Los hidrocoloides ordinariamente se comercializan en forma de polvo y, para su efectiva hidratación, se debe certificar que cada grano forme una partícula individual con la mezcla, con la finalidad de prevenir la formación de grumos o aglomerados. La obtención de estos puede ser a partir de fuentes naturales de origen vegetal, animal, algas, e incluso algunos sintetizados por microorganismos.

Los hidrocoloides tienen una amplia gama de propiedades funcionales, como espesante, gelificante, emulsionante, estabilizante, formador de biopelículas, entre muchos otros. La razón principal de la utilización de los hidrocoloides en la industria alimentaría es su capacidad de modificar la reología de los sistemas alimentarios como la viscosidad, textura y elasticidad (Angiolini, 2013). Dos ejemplos claros de hidrocoloides son los polisacáridos y las proteínas; en las secciones subsecuentes se explica brevemente algunas características notables de cada grupo.

2.1.1.3 Polisacáridos

Los polisacáridos o glucanos son polímeros constituidos por la unión de numerosas unidades individuales de monosacáridos unidas entre sí por enlaces glucosídicos. Los monosacáridos representan los azúcares más simples, cuya particularidad es la de no hidrolizarse, es decir, no descomponerse en otros compuestos. Cuando los polisacáridos son puros no tienen color, aroma ni sabor, y además presentan pesos moleculares muy elevados. Estos se presentan como cadenas lineales o ramificadas, que pueden estar integradas por un solo tipo de monosacárido o también por varios tipos de monosacáridos (Aguilar, 2005). Por lo mismo, estos se pueden clasificar de tres formas diferentes:

a) Función biológica
    - Estructurales: Dan rigidez al tejido vegetal, son resistentes a muchas enzimas y microorganismos.
    - De reserva energética. Proporcionan glucosa para la generación de energía para animales y vegetales. Además de ser solubles en agua.
b) Composición
    - Homopolisacáridos: formados por un solo tipo de monosacárido (Ej. Almidón, glucógeno, celulosa).
    - Heteropolisacáridos: formados por más de un tipo de monosacáridos (Ej. Hemicelulosa, pectinas y gomas)
c) Forma
    - Polisacáridos lineales: cadenas lineales (Amilosa) o ramificadas (amilopectina).
    - Polisacáridos cíclicos

Los polisacáridos están presentes en el tejido animal y vegetal. Algunos de estos pueden ser insolubles, como la celulosa, la cual es la más abundante en todo el mundo y se compone de uniones de glucosa que le permiten formar fibras densas, de las cuales se componen las paredes celulares de las plantas y

vegetales. Sin embargo, otros polisacáridos como el almidón también pueden formar dispersiones coloidales.

El almidón es la principal forma de almacenamiento energético de los vegetales, es una macromolécula formada de polisacáridos y uno de los alimentos más ingeridos a partir de las plantas, su característica más importante es que se puede utilizar de diversas maneras: como estabilizante, gelificante, humectante o espesante de cualquier tipo de alimento. Por otro lado, el principal polisacárido de reserva energética de los animales es el glucógeno alojado en la musculatura y en menor medida en el hígado, reduciéndose a glucosa por medio de hidrólisis en situaciones de necesidad energética (Montes *et al.,* 2018).

Otro polisacárido de gran relevancia (similar a la celulosa en cuanto a la estructura de sus fibras y componente principal en la pared celular) es la quitina, la cual está presente en la estructura de los hongos y los exoesqueletos de los artrópodos (en particular crustáceos como el cangrejo y el camarón), además de ser muy rico en nitrógeno (Bósquez, 2003).

2.1.1.4 Proteínas

Las proteínas son biomoléculas de alto peso molecular, formadas principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, aunque también pueden contener azufre y fósforo y, en menor proporción, hierro, cobre, magnesio entre algunos otros. Las proteínas son cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, los cuales pueden plegarse, adquiriendo una estructura tridimensional más o menos compleja que les permite desarrollar funciones biológicas y estructurales diversas. Se clasifican de manera general en:

- Holo proteínas: formadas sólo por aminoácidos
- Hetero proteínas: formadas por aminoácidos más otras moléculas

Dentro de las funciones de las proteínas podemos encontrar que estas determinan la forma y la estructura de las células y dirigen aproximadamente todos los procesos vitales. Las funciones de las proteínas son determinadas por

cada una de ellas, permitiendo a las células mantener su integridad, protegerse de agentes externos, reparar daños, controlar y regular funciones (Leiva, 2007). Debido a las diversas funciones y conformaciones que logran presentar es que pueden utilizarse para la formación de biopelículas, ya que forman recubrimientos de alta cohesividad. Las proteínas que comúnmente forman biopelículas con buenas propiedades mecánicas son aquellas que contienen alto peso molecular o son fibrosas, como es el caso de la glutenina y el colágeno. Otras proteínas también utilizadas es el gluten de trigo, proteína de soya, proteína de leche, gelatina, entre otras. Este tipo de proteínas forman biopelículas con propiedades similares, ya que presentan buena apariencia y baja permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno, sin embargo, son impermeables a la grasa (Montalvo *et al.,* 2012).

2.1.1.5 Lípidos

Los lípidos son un conjunto de moléculas orgánicas formadas principalmente por carbono, hidrógeno y oxígeno y en ocasiones por azufre, nitrógeno y fósforo. Debido a su estructura tienen la característica de ser moléculas hidrófobas, es decir que son insolubles en medio acuoso y soluble en disolventes orgánicos no polares.

Los lípidos están formados por cadenas alifáticas, lo que significa que pueden estar saturadas o insaturadas y en ocasiones tienen forma de anillo aromático. Su elasticidad y dureza dependerá de su estructura molecular, pero por lo general son cadenas de hidrocarburos unidos mediante puentes de hidrógeno.

Los lípidos en seres vivos pueden realizar funciones de reserva energética, y de naturaleza estructural y reguladora. Dentro de los lípidos de reserva energética se encuentran los triglicéridos, el cual es un éster derivado de glicerol y tres ácidos grasos, constituyendo el cuerpo de los animales, incluido el ser humano. Además de esto los lípidos sirven como materia prima en la formación de numerosas estructuras biológicas, como las membranas celulares, que a su vez poseen una capa hidrófoba y otra hidrófila, de modo que sólo por uno de sus lados

pueden aceptar la interacción con átomos de agua, o similares. Sin embargo, los lípidos también sirven como materia de fijación y protección física de órganos internos y de distintas partes del cuerpo. Finalmente, los empleados como mecanismo de regulación pueden ser las hormonas, glucolípidos o algunos tipos de vitaminas, sin embargo, también existe otra clasificación, los lípidos saponificables y los insaponificables, los primeros son moléculas compuestas de ácidos grasos y un alcohol, además de ser semejantes a las ceras y las grasas, debido a que tienen enlaces éster y pueden hidrolizarse, un ejemplo de estos son los fosfolípidos, ácidos grasos, ceras y algunos otros. Por otro lado, los lípidos insaponificables son aquellos que no contienen ácidos grasos como componentes estructurales fundamentales, entre estos se encuentran los esteroides, terpenos y prostaglandinas.

En la elaboración de biopelículas, los lípidos presentan una buena barrera al vapor de agua, esto debido a su naturaleza hidrofóbica, además de que mejoran la apariencia y brillo del alimento a cubrir. Sin embargo, presentan propiedades mecánicas deficientes, debido a su falta de cohesividad e integridad estructural, lo que da como resultado películas poco resistentes y muy quebradizas. Algunos de los materiales hidrofóbicos comúnmente utilizados en la elaboración de biopelículas son: cera de abeja, cera de candelilla, triglicéridos y algunos ácidos grasos. No obstante, como se ha mencionado es importante la combinación de diferentes componentes para la formación de la matriz, con la intención de complementar y/o aumentar su capacidad como barrera. Se ha reportado que las películas que están compuestas por materiales hidrofóbicos ayudan a contrarrestar la pérdida de humedad y la transferencia del vapor de agua debido a su baja polaridad, sin embargo, si son empleadas como componente único tienden a ser más gruesas y quebradizas (Aguilar Méndez, 2005). Los lípidos son los recubrimientos que mejores resultados han dado en el recubrimiento de frutos, ya que además de mejorar su apariencia reduce su respiración y deshidratación (Domínguez y Jiménez, 2012).

2.1.1.6 Plastificantes

Un plastificante se define como una sustancia estable, no volátil y con alto punto de ebullición, la cual puede ser adicionada a otro material y cambiar las propiedades físicas y/o mecánicas de ese material, por ejemplo, se puede agregar a un polímero con la finalidad de aumentar su flexibilidad, elasticidad y fluidez en estado fundido. Un claro ejemplo de un plastificante es el glicerol ($C_3H_5(OH)_3$), este es un componente principal de los ésteres llamados triglicéridos, los cuales son el resultado de la reacción química llamada esterificación, que es la combinación de un alcohol y un ácido (Sánchez *et al.,* 2015). El glicerol es un compuesto alcohólico que posee tres grupos hidroxilos (-OH) y es conocido comercialmente como glicerina. Este compuesto es líquido a temperatura ambiente, viscoso, incoloro, inodoro y ligeramente dulce, la presencia de los tres grupos hidroxilo lo hace ser higroscópico, es decir, que tiene la capacidad de ceder o absorber la humedad presente en el medio ambiente que lo rodea.

En la elaboración de biopelículas, la adición de plastificante permite la obtención de una película menos frágil, flexible, dura y resistente (Santiago, 2015). En las películas de almidón, Arrieta y Palencia (2016) mencionan que el plastificante modifica la estructura y propiedades de la película ya que se restablecen nuevas interacciones moleculares entre este y las cadenas poliméricas, generando facilidades en movilidad y vibración de los grupos hidroxilo, pero puede afectar la permeabilidad al vapor de agua y gases, ya que es muy hidrófilo e higroscópico. Las biopelículas producidas con un sólo tipo de material no son tan eficientes, esto es debido a que el material puede presentar ciertas deficiencias por sí mismo, como es el caso de sus propiedades barrera. Por tal motivo, en algunas ocasiones los materiales deben ser mezclados para obtener las características que sean requeridas.

2.1.2 Películas a base de polisacáridos

En la industria de los alimentos, los polisacáridos son utilizados como espesantes, gelificantes, estabilizantes, formadores biopelículas y otros tipos de aplicaciones. Los polisacáridos son los componentes más utilizados en la elaboración de biopelículas y son obtenidos principalmente de vegetales y algas. Dentro de los polisacáridos obtenidos a partir de las algas se encuentran los alginatos, el agar y las carrageninas (Miramont, 2012). Por otro lado, entre los obtenidos a partir de vegetales están principalmente el almidón, la celulosa y algunos de sus derivados como la carboximetilcelulosa. Al utilizar polisacáridos como compuestos para la formación de biopelículas, se obtienen películas transparentes que, a su vez presentan distintas propiedades mecánicas y de barrera. Las películas formadas a partir de polisacáridos presentan baja permeabilidad al oxígeno, buenas propiedades mecánicas y barreras eficientes contra compuestos de baja polaridad, sin embargo, su naturaleza hidrofílica hace que presenten una baja resistencia a la pérdida de agua. Este último puede ser reducido con la adición de lípidos, no obstante, las propiedades mecánicas y transparencia de la película se vería afectada (Solis, 2016). Entre las ventajas principales de los recubrimientos a base de polisacáridos se pueden mencionar su gran disponibilidad y bajo costo, además de que no son tóxicos ni grasosos.

2.1.2.1 Almidón

El almidón se define como una molécula formada por la unión de miles de unidades de glucosa, lo que se conoce como polisacárido. Los almidones son predominantes en las plantas, principalmente en los granos de cereales, tubérculos, frutas y en varias legumbres, exclusivamente se obtiene de los vegetales, que lo sintetizan a partir del dióxido de carbono de la atmósfera y del agua que toman del suelo. En el proceso se absorbe la energía del sol almacenándose en forma de glucosa y uniones entre estas moléculas para formar largas cadenas del almidón, que pueden llegar a tener hasta 2000 o 3000 unidades de glucosa. El almidón está compuesto por dos tipos de polisacáridos de

unidades de D-glucosa: amilosa, que representa aproximadamente un 20-30% del total y amilopectina, el remanente del total (70-80%) (Ver Figura 2). Ambas difieren en su estructura debido a la forma en que se unen las unidades de glucosa entre sí para formar las cadenas. En el caso de la amilosa están unidas entre ellas por enlaces α 1-4 que establecen largas cadenas lineales que tienen la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal. El interior de la hélice está constituido por átomos de hidrógeno y el exterior por grupos hidroxilo. Por otro lado, en la amilopectina se encuentran dos tipos de enlace entre las unidades de glucosa, los α 1-4 como en la amilosa, y los α 1-6 que dan lugar a ramificaciones. A lo largo de las cadenas amilosa y entre las ramificaciones de las cadenas de amilopectina se producen las cadenas de almidón, las cuales se asocian por puentes de hidrógeno formando una hélice doble; estas últimas son responsables de los dominios cristalinos dentro de los gránulos de almidón ya que la cristalinidad se genera por el ordenamiento de las cadenas de amilopectina (Ramos *et al.,* 2018). Entre los almidones existen algunos ricos en amilosa y otros que contienen sólo amilopectina, como es el caso del almidón de maíz céreo.

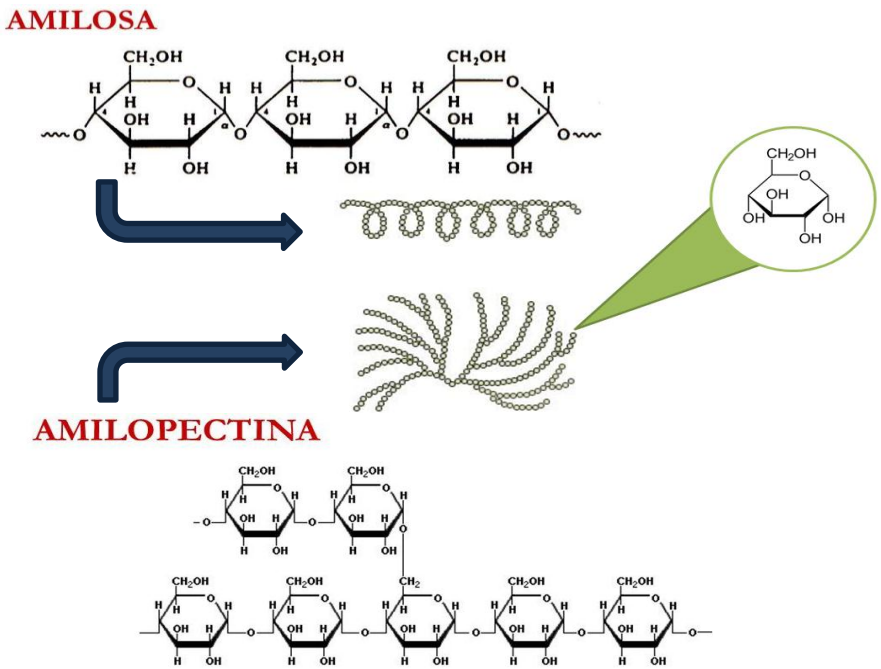


Figura 2. Componentes del almidón

Al ponerse en contacto con agua, calentarse y enfriarse, el almidón presenta dos fenómenos característicos que pueden influir sobre sus propiedades tecnológicas, incluyendo su capacidad de elaboración de películas: la gelatinización y la retrogradación; en la gelatinización los gránulos de almidón que son insolubles en agua fría, debido a que su estructura es altamente organizada, se calientan y empieza un proceso lento de absorción de agua, a medida que se incrementa la temperatura se retiene más agua y el granulo empieza a hincharse y aumenta su volumen, perdiendo su ordenamiento interno debido a la ruptura de puentes de hidrogeno que a su vez generan la liberación de amilosa la cual queda en dispersión coloidal donde los gránulos intactos están en suspensión. Si se continúa administrando calor a los gránulos hinchados, estos se romperán parcialmente y la amilosa y amilopectina se dispersarán en la disolución. Al final de este proceso se genera una pasta o gel en la que existen cadenas de amilosa altamente hidratadas que rodean a los agregados, también hidratados, de los restos de los gránulos. Por su parte, la retrogradación se presenta cuando se enfría la pasta del almidón gelatinizado, aquí las moléculas de amilosa y amilopectina pierden agua, formando puentes de hidrogeno y se asocian formando estructuras parcialmente ordenadas. Finalmente se forma un gel viscoelástico, firme y rígido por la insolubilización y precipitación espontanea de las moléculas de amilosa, debido a que sus cadenas lineales se orientan paralelamente por puentes de hidrógeno (Huber & BeMiller, 2017).

Los almidones se utilizan para numerosas aplicaciones en el campo de los alimentos y sus propiedades funcionales dependen principalmente de su origen, pero también pueden ser afectados por otros factores como modificaciones químicas, como se explica a continuación.

2.1.2.2 Almidones modificados

La modificación de almidones ha provocado un gran avance dentro de las tecnologías de procesamiento y las tendencias del mercado. Los almidones modificados contienen propiedades similares a las de los almidones nativos, sin

embargo, estas modificaciones se realizan principalmente con la finalidad de superar las deficiencias del almidón nativo y aumentar su utilidad en sus aplicaciones dentro del área industrial. Los almidones nativos cuando se cocinan pueden retrogradarse fácilmente existiendo una tendencia a la gelificación, además de generar fácilmente sinéresis. Por tanto, la modificación de este no solo disminuye la retrogradación, sino su tendencia gelificante, sinéresis, claridad, brillo y textura, además de la facilidad de formación y adhesión (Kaur *et al.,* 2012).

Los almidones se modifican principalmente por vía química, física o por hibridación. Dentro de las modificaciones químicas existen diferentes procesos como la conversión, ligaciones cruzadas, estabilización (sustitución) y adición de grupos lipofílicos, siendo la de sustitución la más utilizada, donde se introducen sustituyentes voluminosos en las cadenas de almidón reduciendo la cristalización de la amilosa y la amilopectina (Bernal y Barajas*,* 2006). El HI-CAP®100 es un almidón alimenticio modificado derivado del maíz ceroso y este se caracteriza por tener una excelente resistencia a la oxidación, además de ser utilizado para encapsular sustancias líquidas o sólidas insolubles en agua. Debido a su bajo costo y a que puede sustituir a otros agentes como goma arábiga y gelatina, fue el empleado para la formación de biopelículas en la presente investigación.

2.1.2.3 Almidones tipo OSA

Para prevenir la retrogradación de almidón, el polímero es sustituido o estabilizado añadiendo grupos mono-funcionales químicos que evitan una re-asociación de las moléculas de amilosa, causando ésteres de almidón, los cuales pueden ser de fosfatación o de succinato, esta sustitución reduce la temperatura de gelatinización y estabiliza el almidón previniendo la retrogradación. Los ésteres de almidón succinatado son elaborados a partir de la reacción básica de anhídridos de alquenil succínico con el almidón granular en suspensión acuosa, esta sustitución puede ocurrir en las posiciones 2, 3, y 6 de los carbonos de glucosa (Bernal y Barajas, 2006). El anhídrido más utilizado para esta modificación es el octenil succinato (OSA) mostrado en la Figura 3.

Estudios recientes indican que las propiedades físicas de los almidones dependen principalmente de su origen, sin embargo, también dependen del grado de sustitución aplicado. Los almidones OSA son efectivos emulsificadores debido a la incorporación de grupos hidrofóbicos en la molécula de almidón normalmente hidrofílica, obteniendo así propiedades útiles en la estabilización de emulsiones agua/aceite, proporcionando resistencia a la aglomeración. Del mismo modo se atribuye que son almidones resistentes, por lo que podrían utilizarse en la elaboración de fibras funcionales para el tratamiento de ciertas enfermedades o como algún tipo de recubrimiento y/o película. Las soluciones acuosas de los almidones *octenil succinico anhidro* han sido utilizadas en el área de los alimentos para estabilizar concentrados de sabor, aceites, encapsulados de sabores, aromas y vitaminas, además de ser especialmente útiles en alimentos refrigerados o congelados (Martínez, 2007).

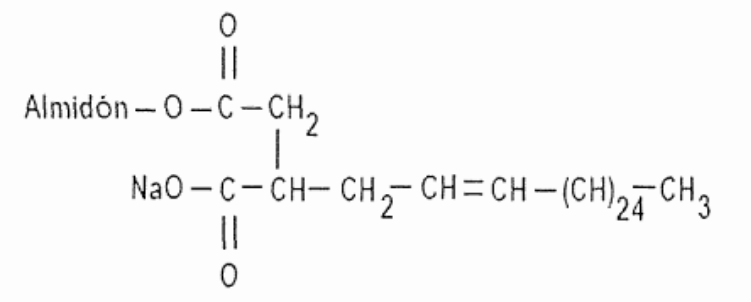


Figura 3. Estructura de octenil succiníco anhidro

2.1.2.4 Almidón en la formación de películas

El almidón se considera un componente interesante para la fabricación de películas, debido a su bajo costo, abundancia y producción sustentable; sin embargo, las películas elaboradas con este polímero únicamente tienen características limitadas, tanto de barrera como mecánicas. Su carácter hidrofílico (dado que establece fácilmente puentes de hidrógeno con el agua) limita su eficiencia como agente protector, mientras que desde el punto de vista textural se ha observado que las películas de almidón tienden a la fragilidad (Arifin *et al.*,

2016); para superar este problema se han tomado diversos enfoques, desde explorar nuevas fuentes de almidón, incrementar el contenido de plastificantes hasta emplear tecnologías no térmicas para cambiar la forma en que el polímero interactúa con el agua. Se ha observado que la proporción de amilosa-amilopectina en el almidón juega un papel determinante en su habilidad para formar películas; por lo regular, aquellos con mayor contenido de amilosa generan películas más fuertes, con valores más altos de estrés a la fractura y elasticidad (Sifuentes-Nieves *et al*., 2019; Jimenez *et al*., 2019).

En los últimos años se han realizado diversos trabajos que reportan el uso de almidones en biopelículas, por ejemplo, para la obtención de películas con este material se sugiere que este se gelatinice para formar dicha matriz, lo cual se logra mediante un tratamiento en frío alcalino con NaOH o un tratamiento térmico acuoso que es más utilizado (Márquez, 2010). Por otro lado, Zamudio *et al.,* (2015) obtuvo películas con almidón de plátano y mango, de las cuales caracterizaron sus propiedades y observaron que el almidón de plátano presentó mayor contenido de amilosa y en consecuencia las películas derivadas de este mostraron mayor tensión a la fractura. Un elemento importante que resaltar que afecta las propiedades mecánicas y micro- estructurales de las películas basadas en almidón es el envejecimiento, es decir el tiempo de almacenamiento (Antonio *et al.*, 2016). No obstante, los almidones nativos muestran ciertas limitaciones funcionales a escala industrial y para la formación de películas; las películas elaboradas solamente con almidón poseen poca resistencia al agua, propiedades mecánicas y actividad antimicrobiana (Arifin *et al.*, 2016).

Los almidones modificados también se han considerado para la formulación de biopelículas debido a su naturaleza completamente biodegradable, característica comestible y bajo costo (Versino *et al.*, 2016). Anteriormente, ya se ha reportado el uso de almidones modificados en biopelículas e incluso en combinación con otros biopolímeros ya que sirven de barrera para el vapor de agua y otras aplicaciones. Tongdeesoontorn *et al*. (2011) observaron que en películas de almidón la fuerza tensil aumentó de 5 N/mm^2 a 30 N/mm^2 al agregar

carboximetilcelulosa en la misma cantidad, pero se redujo la solubilidad en agua de las películas resultantes. De manera similar, también se ha reportado alta elasticidad en películas de almidón con pectina, pero estas son muy quebradizas; sin embargo, este defecto puede reducirse adicionando un plastificante.

2.1.2.5 Carragenina

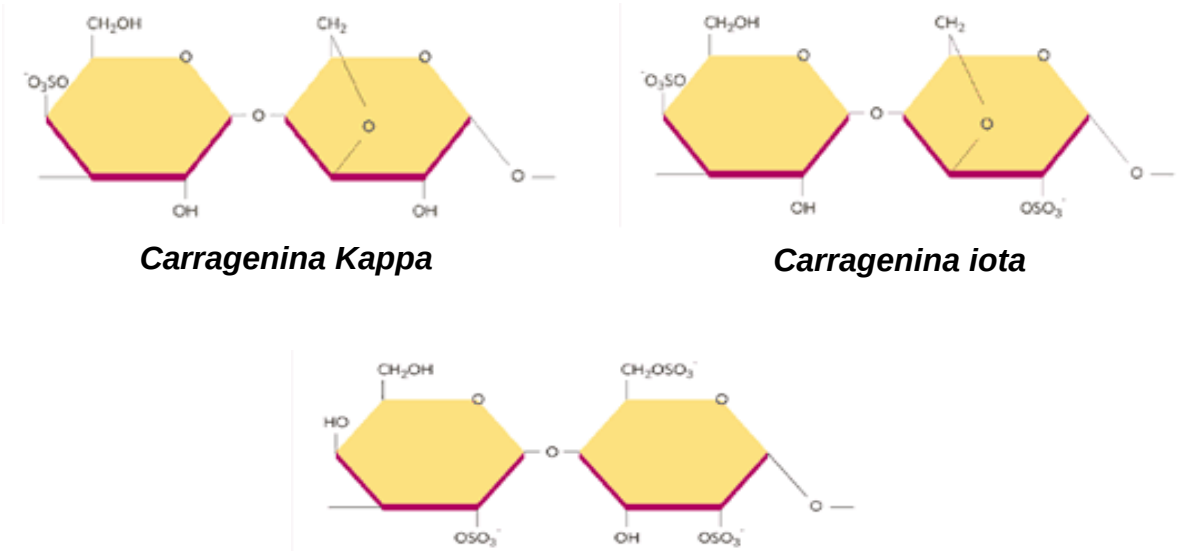
La carragenina (ver Figura 4) es un polisacárido extraído de diversas especies de algas marinas de género Rodophyta. El contenido de carragenina en las algas varía dependiendo de la especie del alga entre un 30% a 60% del peso seco. Ésta se encuentra en la pared de las células y en la matriz intercelular del tejido de las algas, su peso molecular es alto y contiene un porcentaje entre el 15 y 20 porciento de éster sulfato formado por unidades alternadas de D-galactosa y 3,6-anhidro-galactosa (3,6-AG) unidas por ligaduras α-1,3 y β-1,4-glucosídica. La posición y el número de grupos de éster sulfato, así como el contenido de 3,6-AG determinan las diferencias primarias entre los tipos de carragenina, *kappa, iota y lambda*. A mayores niveles de éster sulfato implican una menor fuerza de gelificación y baja temperatura de solubilización. Algunas especies de algas pueden producir carrageninas de composición mezclada como *kappa/iota, kappa/lambda* o *iota/lambda* (Rodríguez y Sandoval, 2003). La carragenina posee gran habilidad para formar texturas de gel con características físicas y funcionales distintivas. Además, es un ingrediente multifuncional y su comportamiento en disolventes es diferente, ya que en el agua se presenta con propiedades espesantes y gelificantes, mientras que en la leche funciona como estabilizante.

Figura 4. Algas marinas de género Rodophyta

2.1.2.6 Tipos de carrageninas

En la Figura 5 se pueden observar las estructuras químicas de los tres tipos principales de carrageninas; sus propiedades son muy variadas ya que pueden tener funciones de tipo estabilizante, espesante y gelificante, elaborándose en medios acuosos a muy bajas concentraciones. Las diferencias primarias entre los tipos de carragenina, *kappa, iota y lambda* son determinadas por la posición y números de éster sulfato. Con respecto a su estructura y propiedades fisicoquímicas la *iota* carragenina presenta un gel elástico, es termorreversible y no presenta sinéresis. Sin embargo, la carragenina *lambda* a pesar de producir altas viscosidades no es gelificante, pero si soluble en frio. Por otro lado, la *kappa* carragenina es sensible al ion potasio y produce geles rígidos y quebradizos en soluciones acuosas con sales de potasio. También es termorreversible y presenta sinéresis, la cual mientras mayor sea la concentración de potasio en la solución mayor será esta (Mancilla, 2012).

Los tres tipos de carragenina son solubles en agua caliente en intervalos de temperatura de 40º a 70ºC, dependiendo de la concentración.



Carragenina Kappa ***Carragenina iota***

Carragenina Lambda

Figura 5. Estructura química de los diferentes tipos de carragenina

2.1.2.7 Kappa carragenina

La *Kappa* carragenina está situada en la pared de las algas y en la matriz intercelular del tejido de las algas. Las soluciones calientes de kappa carragenina poseen la habilidad de formar geles termorreversibles a través de su enfriamiento, esto debido a la formación de una estructura de doble hélice formada por los polímeros que la conforman, ya que a temperaturas superiores a la de gelificación los polímeros en solución se presentan como espirales aleatorias, mientras que durante el enfriamiento forman una red tridimensional en la cual las hélices dobles constituyen los puntos de unión de las cadenas de polímero (Alarcón, 2003).

La solución de carragenina es bastante estable en los pH neutros o alcalinos, sin embargo, los pH bajos afectan su estabilidad, especialmente a altas temperaturas. Por otro lado, su viscosidad depende de la concentración, temperatura, solventes y peso molecular. La carragenina kappa presenta una buena interacción con otros tipos de gomas, principalmente con la goma de algarroba en sistemas acuosos, presentando finalmente un gel resistente, elástico y con reducción de sinéresis (Mancilla, 2012).

2.1.2.8 Carrageninas en la formación de películas

En la formación de biopelículas con carrageninas se han encontrado diversas investigaciones que indican resultados positivos en la incorporación de estas para la matriz, tal es el caso de la iota carragenina, que tiene la capacidad de producir geles termorreversibles al ser enfriada por debajo de cierta temperatura y por tal efecto es usada para la formación de películas (Karbowiak *et al*., 2006). Sin embargo, las películas formadas con la combinación de carragenina y lípidos son utilizadas como encapsulantes de sustancias activas como es el caso de agentes antimicrobianos (Domínguez y Jiménez, 2012). De igual manera, las películas formadas con alginato, carragenina o derivados de celulosa se han utilizado como barreras en alimentos fritos para evitar que absorban tanto aceite. Por otro lado, González *et al.,* (2016) obtuvieron una diferencia significativa entre el espesor de películas elaboradas de kappa carragenina y gelana de alto acilo, siendo las

primeras más delgadas; sin embargo, al hacer una mezcla de estas se obtuvieron espesores intermedios; además, se observó que la gelana de alto acilo tiene una mayor capacidad de retención de agua en comparación con la de la k-carragenina.

A pesar de diversas investigaciones de biopelículas realizadas con carrageninas en combinación con otros biopolímeros, hasta el momento no se han realizado esfuerzos por estudiar las características de mezclas de Kappa carragenina y almidón modificado como agentes formadores de biopelículas.

2.1.2.9 Mezclas de polisacáridos para elaboración de películas

Mediante la combinación de polímeros con diversas estructuras físicas y químicas se busca optimizar las propiedades de los componentes, para generar un producto con mejores propiedades o un menor costo que el de los componentes individuales, o, en algunos casos, para producir nuevos materiales (Solís, 2016). Investigaciones previas han mostrado que la combinación de biopolímeros en la elaboración de películas presenta mejores características que de forma individual. Tal es el caso de películas elaboradas con quitosano para el almacenamiento de aguacate, donde el quitosano presenta buena barrera al oxígeno y al dióxido de carbono; sin embargo, al adicionarle glicerol y cera a las películas, mejoran sus propiedades mecánicas de elongación y fuerza de tensión, así como la permeabilidad al agua (Miranda *et al.,* 2003). Por otro lado, Anchundia *et al*., (2016) mencionan que películas elaboradas a partir de cascara de plátano son un buen material a para la elaboración de películas ya que tiene importantes cantidades de almidón y amilosa sin embargo presenta baja solubilidad y poder de hinchamiento. Cada película, dependiendo de su formulación, tendrá propiedades diferentes.

En la Tabla 1 se presenta la aplicación de uno y varios tipos de materiales en la formación de biopelículas para frutas selectas. Como puede observarse, los materiales que sean utilizados para la formación de la película determinaran el tipo de barreras que presente cada película, ya sea al O_2, CO_2, agua, entre otras.

Tabla 1. Diferentes materiales para la formación de biopelículas y su función de barrera en aplicaciones alimenticias selectas (adaptada de Lin y Zhao, 2007)

PRODUCTO	MATERIALES	FUNCIÓN DE BARRERA Vs.
Manzana	Caseinato; proteína aislada de suero	O_2
Manzana (recién cortada)	HPMC	O_2/agua
	Alginato; gelatina; CMC	O_2/CO_2 /agua
	Zeína	O_2 /CO_2/agua
	Carragenina; proteína concentrada de suero	O_2/agua
	Metilcelulosa	O_2/CO_2/ agua
Zanahoria (pelada)	Caseinato de Ca; WPI; pectina; CMC	Agua
	Alginato	Agua
	Caseinato	O_2/CO_2/agua
Kiwi	Base de alginatos	O_2/ CO_2
Champiñón	Cera, CMC	Agua

HPMC=Hidroxipropilmetilcelulosa, CMC=Carboximetilcelulosa,

En la Figura 6 se puede observar el uso de biopelículas como agente de protección contra diferentes factores extrínsecos que pueden comprometer la estabilidad de un alimento.

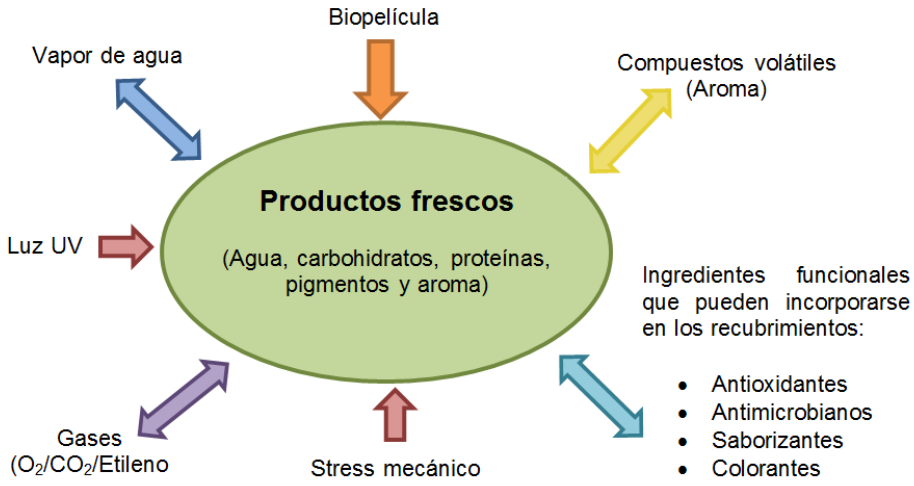


Figura 6. Biopelículas vs. Factores extrínsecos de deterioro

2.1.3 Proceso de elaboración de películas

La elaboración de una biopelícula requiere que su proceso de fabricación y aplicación se lleven a cabo de manera correcta. Las sustancias formadoras de películas crean una estructura continua mediante interacciones entre moléculas, bajo la acción de un tratamiento químico o físico. Por tal motivo la formación de una película implica uno de los siguientes procesos (Morales, 2011).

a) Coacervación simple: formación de la película a partir de cambios de fase o precipitación de un hidrocoloide en disolución acuosa mediante cambios en propiedades del solvente, por ejemplo, el pH.
b) Coacervación compleja: formación de la película mediante la combinación de dos soluciones de hidrocoloides con cargas opuestas ocasionando la precipitación de la mezcla de polímeros.
c) Gelificación: formación de la película mediante el calentamiento de la macromolécula, provocando su desnaturalización, seguida de una gelificación o precipitación, provocando una transición gel-sol.
d) Eliminación del disolvente: la formación de la película sólida se lleva a cabo gracias a la evaporación del solvente en el que se aplica (agua, etanol, ácido acético) (Solano *et al.,* 2018).
e) Fusión y solidificación: formación de la película mediante el calentamiento de la sustancia por encima de su punto de fusión y su posterior enfriamiento.

Para la elaboración y obtención de una biopelícula se lleva a cabo el siguiente procedimiento, que se resume gráficamente en la Figura 7:

a. Dispersión: Es el sistema fisicoquímico formado por dos o más fases, una fluida (líquido) y otra dispersa, en forma de partículas generalmente sólidas muy finas (biopolímeros en polvo).
b. Hidratación: Se produce la incorporación total de agua a las partículas sólidas.

c. Solubilización: Se eleva la temperatura y se mantiene la dispersión con agitación constante, en este proceso se forma y se estabiliza una estructura molecular por interacciones físicas y químicas.
d. Vaciado en placa (cajas Petri): Se vacía la mezcla en cajas Petri.
e. Secado: Se elimina el disolvente (liquido), con lo que se forma una capa delgada que se seca, durante determinado tiempo y temperatura.
f. Desmolde: Se desprende la biopelícula de la caja Petri.

2.1.4 Métodos de formación o aplicación

Existen distintos métodos para la formación de películas y recubrimientos con biopolímeros, incluyendo los de vaciado en placa o casting, inmersión y aspersión (Del Valle, 2012). Sin embargo, el método de aplicación a utilizar depende en gran medida del tipo de alimento que se desee recubrir.

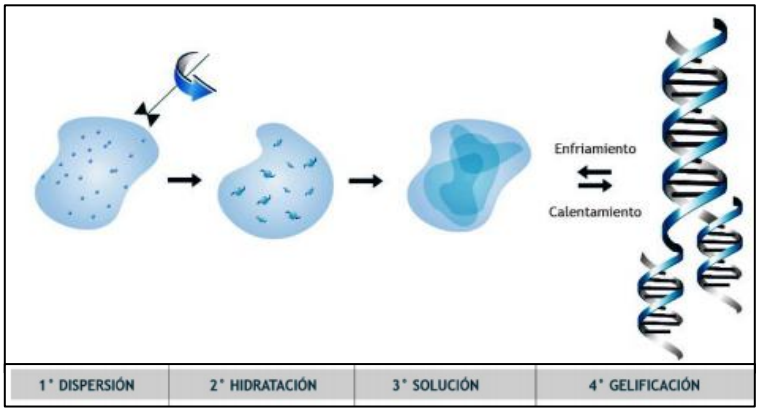


Figura 7. Proceso de elaboración de una biopelícula

El método de vaciado en placa o *casting* (Figura 9) es uno de los más utilizados y consiste en colocar la solución en recipientes con un área conocida y perfectamente nivelada, para que posteriormente puedan ser sometidas a un tiempo de secado. Los parámetros principales que influyen en el secado son el tiempo y la temperatura, influyendo en la apariencia cristalina y propiedades mecánicas de la película. El vaciado en placa también puede llevarse a cabo llevando un control del espesor de la película.

Por otra parte, el proceso de inmersión (Figura 8) consiste en sumergir el alimento a conservar en una solución por determinado tiempo para posteriormente escurrirse y someterse al proceso de secado. Este método es el más utilizado para el recubrimiento de frutas, verduras y hortalizas, debido a que su superficie es irregular y esta técnica les proporciona una capa uniforme y mejores resultados en su protección (Morales, 2011).

Figura 8. Método de inmersión

Figura 9. Método casting

Las películas generadas mediante el proceso de aspersión (Figura 10) son aplicadas en capas uniformes y delgadas, donde el líquido sale por una boquilla con un alto potencial eléctrico. La ventaja de este método es que las gotas que se obtienen son tan pequeñas que el tamaño de su partícula llega a medir incluso nanómetros, y la carga y el tamaño pueden controlarse en cierta medida por medios eléctricos. La aspersión es más utilizada cuando se requiere proteger al alimento con más de una capa en la superficie de éste.

Figura 10. Método de aspersión

2.2 Técnicas para modificar propiedades en polímeros degradables

La formación de biopelículas involucra entrecruzamientos que pueden ser inter o intramoleculares entre las cadenas de los biopolímeros, las cuales forman una red de estructura semirrígida que atrapa el solvente, donde el grado de cohesión depende de la estructura del biopolímero o varios biopolímeros, el tipo de solvente y la temperatura. Por esta situación se han llevado a cabo diversas técnicas que ayudan a la modificación en propiedades y mezclas de biopolímeros para lograr una mejor interacción entre estas. Dentro de las técnicas que se han utilizado para la modificación de propiedades de los biopolímeros se encuentran los tratamientos térmicos, hidrólisis, tratamiento con ácidos o álcalis, adición de iones metálicos, sales, agentes esterificantes, alta presión, irradiación, ultrasonido de potencia y algunos otros. Sin embargo, se ha demostrado que los resultados reportados en el ultrasonido de potencia son de gran impacto y por lo tanto debido a esto y a su bajo casto fue el utilizado en el presente trabajo.

2.2.1 Ultrasonido de potencia

El ultrasonido de potencia es una alternativa de gran impacto para la modificación en mezclas de biopolímeros ya que actúa homogéneamente y es relativamente económico. La pieza principal los aparatos de ultrasonido es el transductor, un dispositivo electromecánico encargado de generar los ultrasonidos, mediante la transformación de las oscilaciones eléctricas en vibraciones mecánicas.

El principal objetivo de la aplicación de ultrasonidos a las reacciones químicas es mejorar su velocidad y rendimiento y/o inducir una reactividad química específica. El ultrasonido consta de ondas elásticas cuya frecuencia se transmite sobre el umbral del oído humano (Romero *et al.*, 2016). Su principal efecto en un sistema liquido está relacionado con el fenómeno de cavitación (ver Figura 11), el cual inicia cuando las ondas de sonido de baja frecuencia entran a este sistema y se propagan como una vibración compuesta por compresiones y expansiones que al alcanzar condiciones óptimas de temperatura, volumen y composición del medio

producen un incremento en la presión, generando gran cantidad de burbujas las cuales al alcanzar un tamaño critico colapsan de forma inmediata, provocando ruptura celular, destrucción de microestructuras o generación de radicales libres. Por tal motivo el tratamiento de ultrasonido ofrece la oportunidad de desarrollar nuevos productos con propiedades únicas, como es el caso de las biopelículas.

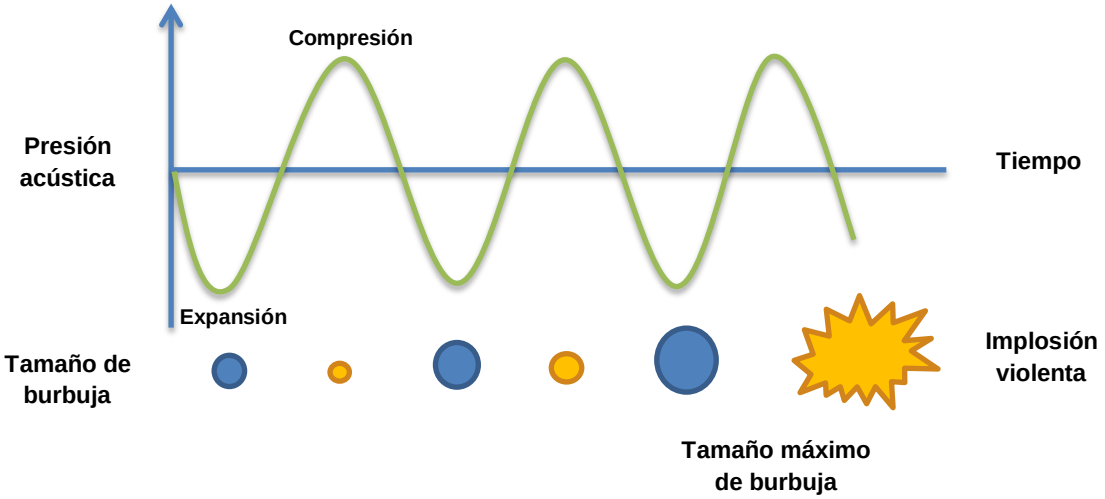


Figura 11. Fenómeno de cavitación durante un tratamiento de ultrasonido de potencia

2.2.1.1 Tipos de ultrasonido

El ultrasonido se clasifica en dos tipos, dependiendo del rango de frecuencia que sea utilizado, en ultrasonido de baja intensidad y de alta intensidad. El primero opera a una frecuencia mayor a 100 kHz y es utilizado principalmente con fines de diagnóstico; mientras tanto, el segundo puede emplearse para procesamiento de alimentos, dado que es capaz de provocar cambios estructurales y fisicoquímicos en la matriz alimenticia tratada.

Los mecanismos de acción que presenta el ultrasonido a su vez se clasifican en térmicos y no térmicos; los mecanismos térmicos son aquellos que generan una energía mecánica y calórica, esto debido a que la propagación de la onda decrece con la distancia al ser aplicado en un material, traduciéndose en calor la porción absorbida. Sin embargo, los no térmicos exhiben distintos

fenómenos como la cavitación, donde se produce una remoción mecánica por irrupción o atrapamiento a través de burbujas, localizadas con altas presiones y temperaturas (Delgado, 2012). Otros fenómenos observados es la formación de radicales libres y los choques micro mecánicos, el primero siendo originado debido a la sonólisis del agua, produciendo iones (OH-), (H+) y/o peróxido de hidrógeno, mientras que los choques micro mecánicos ocasionan disrupción de las células y disminución del grosor de paredes celulares.

Algunas de las aplicaciones del ultrasonido pueden inducir fenómenos de despolimerización; en el caso de los de baja potencia normalmente solo ocasionan una disminución en la viscosidad de líquidos poliméricos, mientras que los de alta potencia generan una despolimerización y cambios indelebles en la reología final del líquido o mezcla tratado, permitiendo generar productos con características tecnológico-funcionales diferentes. A demás de esto, el ultrasonido puede mejorar la viscosidad y textura del líquido tratado, como es el caso de la emulsificación y encapsulación, obteniendo grandes ventajas como el requerimiento de menos energía para promover la emulsión, lo cual lo convierte en un método más económico que los convencionales.

2.2.1.2 Equipos de ultrasonido

Hoy en día existen tres tipos de equipos diseñados para la aplicación de tratamientos por ultrasonido, siendo estos el baño de ultrasonido, bocina (cup horn) y el sonicador, además del de inmersión directa de la sonda de ultrasonido (Delgado, 2012).

El baño de ultrasonido (Figura 12) es un recipiente de acero inoxidable, en el cual los transductores están colocados en la base del baño lleno de agua. Los baños de ultrasonidos trabajan con frecuencias entre 30 y 50 kHz y las mezclas a tratar se pueden invertir en el mismo baño o en un matraz aparte, sin embargo, la primera opción normalmente no se hace ya que puede haber problemas de corrosión en las paredes del baño debido por la carencia de contención de posibles vapores y gases liberados durante la reacción. Por lo tanto, el uso normal

es con un matraz de vidrio conteniendo la mezcla a tratar, el cual implica su inmersión dentro del baño, permitiendo una distribución uniforme de energía en el medio de reacción.

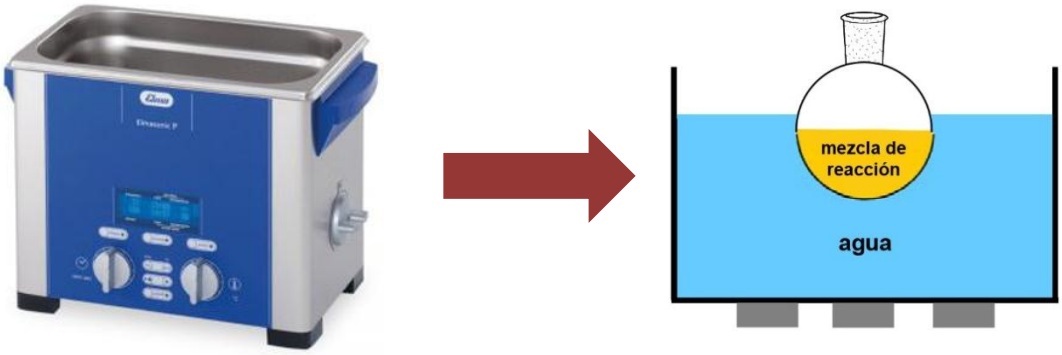


Figura 12. Baño de ultrasonido, equipo y esquema de uso

Una bocina ultrasónica (*cup horn*) ofrece sonicación indirecta y funciona como un baño de agua ultrasónico de alta intensidad. El *cup horn* (Figura 13) se monta dentro de una copa acrílica y la copa se llena con agua a un nivel fijo; en este equipo se pueden procesar múltiples muestras en tubos sellados los cuales se colocan en un estante a una distancia fija por encima de la bocina ultrasónica. Por otro lado, la cavitación se produce en el agua, mientras que la sonicación genera calor, por lo que las entradas para el enfriamiento se encuentran a cada lado de la taza. Una gran cualidad de este equipo es el bajo ruido de sonicación en comparación con otros dispositivos generadores de USP.

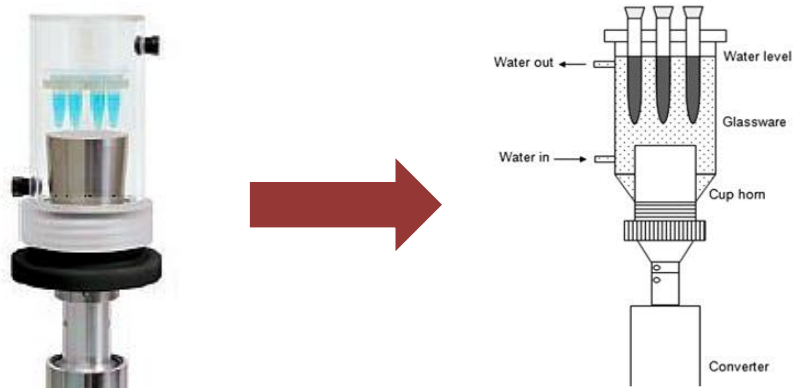


Figura 13. Bocina ultrasónica, equipo y esquema de uso

El tercer tipo de equipo disponible es el ultrasonicador de sonda (Figura 14). La utilización de sondas ultrasónicas permite introducir la energía acústica directamente en el interior de la mezcla de reacción, ya que este tipo de equipos utiliza una sonda metálica la cual transmite al medio líquido la vibración generada en el transductor, con lo cual se puede aumentar la cantidad de potencia ultrasónica disponible para la reacción. La potencia aplicada a la mezcla dependerá de la amplitud de vibración en la punta de la sonda que se controlará según la potencia eléctrica suministrada por el equipo. Las sondas ultrasónicas son más caras que los baños, además de que a consecuencia de la cavitación se va produciendo una erosión de la punta de la sonda, provocando contaminación de la mezcla de reacción por partículas metálicas de la sonda y/o pérdida de eficiencia por el acortamiento físico de la sonda.

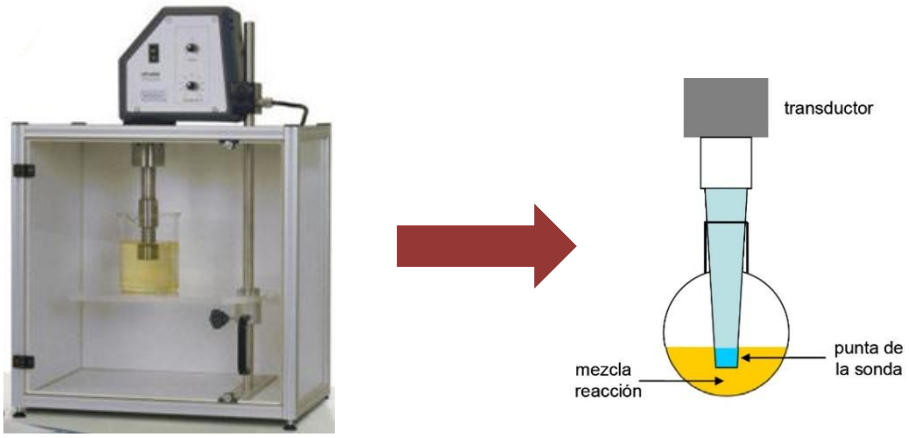


Figura 14. Ultrasonido con sonda, equipo y esquema de uso

2.2.1.3 Uso de ultrasonido de potencia para modificación de biopolímeros y elaboración de películas

El tratamiento con ultrasonido de potencia para la modificación de biopolímeros representa una estrategia interesante para mejorar la apariencia de biopelícula. Por ejemplo; en el caso de la formulación de películas de almidón, la cavitación produce un impacto sobre la estructura de los gránulos de almidón

debido al colapso de las burbujas, afectando sus propiedades físicoquímicas; este efecto en los gránulos depende, además de la temperatura y tiempo de tratamiento, de la potencia y frecuencia de sonicación, ya que esta última ataca principalmente la región amorfa de los gránulos de almidón, liberándose la amilosa al medio acuoso y debido a esta pérdida de amilosa fuera de los gránulos existe un aumento de solubilidad. De acuerdo con Jambrak *et al* (2010), tratamientos selectos de ultrasonido de potencia son capaces de provocar una realineación de los puentes de hidrógeno al interior de la molécula de almidón, en particular en la fracción de amilopectina, lo cual puede favorecer cambios en sus propiedades tecnológicas y puede facilitar las interacciones con otros sistemas poliméricos. Las interacciones fisicoquímicas entre kappa carragenina y almidón han sido exploradas previamente (Huc *et al*., 2014); la carragenina tiende a adsorberse en la superficie de los gránulos de almidón o penetrar parcialmente en los mismos (sin importar que se trate de almidones nativos o modificados), dependiendo de si se agrega antes o después de que el gránulo se empiece a hinchar por efecto de la aplicación de alta temperatura y/o algún otro factor como ultrasonido (Lascombes *et al*., 2017). Romero *et al.*, (2016) observaron un incremento en la capacidad de hinchamiento del almidón de maíz cuando se le era aplicada una temperatura por encima de los 20°C y un aumento de potencia o intensidad de ultrasonido, esto debido a la ruptura de los enlaces intermoleculares, rompimiento de la estructura molecular cristalina y a la unión de moléculas de agua a grupos hidroxilo libres de amilosa y amilopectina. Así mismo, Cheng *et al.,* (2010) descubrieron que las dispersiones de almidón de maíz gelatinizado tratadas por ultrasonido tienen una disminución apreciable de viscosidad, además de producir una película muy transparente y mostrar un aumento en la solubilidad. Por otro lado, Banerjee *et al.,* (1996) examinaron los efectos de la frecuencia de ultrasonido en concentrado de proteína de suero y caseinato de sodio, dando como resultado un mejoramiento en las resistencias mecánicas de las películas de proteína de leche.

2.3 Aplicación de biopelículas para la protección de productos cárnicos

La carne es considerada como uno de los alimentos más perecederos dentro de la industria de los alimentos y por lo mismo deben tomarse medidas de conservación con el objetivo de retrasar o prevenir ciertos cambios que puedan afectar sus características de calidad. Dentro de los cambios que determinan la pérdida de calidad de la carne se encuentran los físicos, químicos y microbiológicos, los cuales a su vez son imprescindibles para prolongar la vida útil de la carne, puesto que, su vida útil es una mezcla de factores intrínsecos (contenido de nutrientes, pH, actividad de agua) y extrínsecos (tiempo de almacenamiento, temperatura, humedad relativa) (Cruz, 2018).

En los últimos años se ha estudiado la elaboración y aplicación de biopelículas en la industria de los alimentos. En la industria cárnica es una gran alternativa para prevenir su deterioro y obtener alimentos con mayor duración y resistencia ante los tratamientos que sufren durante su transformación y comercialización, además de ser de gran utilidad para conservar las características sensoriales y apariencia de la carne, proporcionando alimentos seguros y de alta calidad. En la Figura 15 se muestra un ejemplo de biopelícula comestible aplicada a productos cárnicos.

La elaboración de biopelículas se ha realizado principalmente mediante biopolímeros naturales como proteínas y carbohidratos con el objetivo de reducir la acumulación de sólidos residuales no biodegradables y plásticos, los cuales se han convertido en un problema ambiental. Las biopelículas deben presentar ciertas características funcionales que permitan controlar alguna alteración en el alimento a cubrir, por ejemplo, ser libres de tóxicos, ser fabricados mediante tecnologías simples, funcionar como protectores ante factores físicos, químicos y mecánicos, ser capaces de preservar su textura y de preferencia ser transparentes para no afectar la apariencia natural del alimento, además de presentar propiedades de barrera apropiadas para al producto a cubrir, en particular su naturaleza hidrofílica o hidrofóbica (Velázquez y Guerrero, 2014).

Algunas de las barreras más comunes en la carne contra el deterioro son contra el O_2 y humedad, además de ciertos cuidados como un almacenamiento en por debajo de 4ºC o cercano a los 0ºC. Del mismo modo el envasado al vacío de la carne elimina bacterias de la descomposición aerobia y tiene un impacto significativo en la ampliación de la vida útil. Finalmente, y no menos importante que las anteriores los niveles de higiene tanto de fábrica y de personal son de gran importancia para su adecuada conservación (Reséndiz *et al.,* 2013).

Las biopelículas tienen un gran potencial como material de protección para un alimento, cubriendo la superficie externa del mismo, separándolo del ambiente exterior o actuando como envoltura. Por lo mismo, Véronique (2008) propone que, en lugar de mezclar compuestos antimicrobianos directamente con la carne, podrían ser incorporados en biopelículas permitiendo localizar el efecto funcional en la superficie de la carne, donde se encuentra principalmente el crecimiento microbiano.

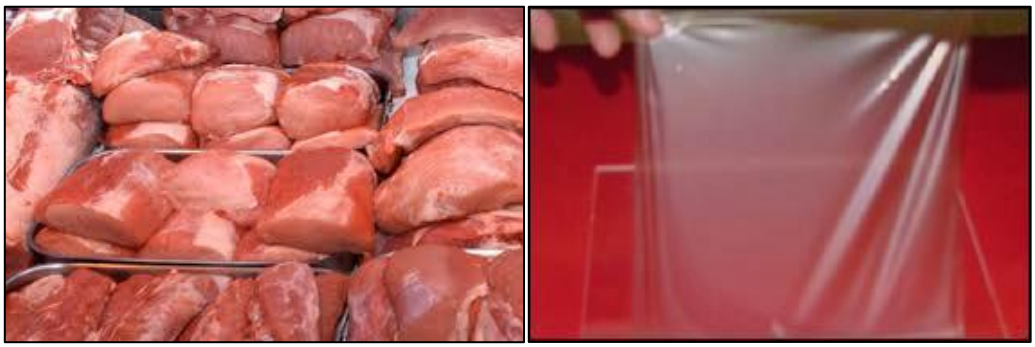


Figura 15. Biopelícula para carne de cerdo

En otros estudios se ha reportado la disminución de la carga bacteriana en trozos de carne a través de biopelículas de aislado de proteína de suero de leche o almidones modificados con la adición de bacteriocinas. A demás, se ha buscado inhibir reacciones de oxidación y de desarrollo antimicrobiano, mediante la incorporación de bacteriocinas o antioxidantes en biopelículas para la protección salchichas, debido a su alto contenido de grasa (López *et al.,* 2013). Del mismo

modo, Guzmán *et al.,* (2015) afirman que las características sensoriales y funcionales de un filete de carne de cerdo no se alteran cuando se le aplica una película de colágeno/nisina (bacteriocina empleada con frecuencia en alimentos procesados) almacenada en refrigeración, además de conservar su calidad microbiológica (Figura 17); por otra parte, Hernández y Ríos (2019) elaboraron biopelículas de almidón de malanga (Figura 16), la cuales, mediante la adición de diferentes compuestos bioactivos en la película, permiten obtener una disminución en la degradación proteica y lipídica de la carne, lo que permite alargar su vida útil. Sin embargo, aún no se han reportado estudios sobre el uso kappa carragenina y almidón modificado para la elaboración de una biopelícula aplicada en un producto cárnico, ya sea sola o en combinación con otros materiales poliméricos.

Figura 17. Biopelícula de almidón de malanga.

Figura 16. Biopelícula de colágeno en filete de cerdo.

2.3.1 Problemas asociados al uso de empaques plásticos en cárnicos

Los materiales utilizados en el envasado de alimentos generalmente son polímeros derivados del petróleo. Los materiales poliméricos para empacar productos cárnicos deben poseer buenas características de barrera para el O_2 y baja permeabilidad contra la humedad; los más comunes incluyen poliamidas, polietileno, polipropileno, polietileno de baja densidad, cloruro de polivinilo y poliestireno (Aracil, 2008). Ejemplos de películas plásticas típicas para empacar productos cárnicos frescos se muestran en la Figura 18.

Figura 18. Empaques utilizados en la industria cárnica.

La elección de la película para empacar productos cárnicos depende en gran medida del tiempo que el alimento debe permanecer empacado, además de las condiciones de almacenamiento, tales como temperatura y humedad. La calidad de los alimentos empacados está influenciada parcialmente por las propiedades de los materiales que forman parte de éstos, como las películas plásticas y la composición de las charolas de poliestireno. Algunos materiales plásticos típicamente empleados en el empacado de alimentos y sus características generales se describen a continuación (Becerra, 2001).

- Polietileno tereftalato (PET)

El PET es un polímero de cadena repetitiva de etileno perteneciente a la familia de los termoplásticos; está compuesto de átomos de C e H y se caracteriza por tener propiedades químicas y mecánicas sobresalientes, destacándose su lubricidad, resistencia al impacto y abrasión, y por ser químicamente inerte.

- Polietileno de alta densidad (HDPE)

El HDPE *(High Density Polyethylene)* es un polímero termoplástico conformado por unidades repetitivas de etileno; es sólido, incoloro, translúcido y flexible, que se caracteriza principalmente por su excelente resistencia térmica, química y al impacto. Este material se utiliza, entre otras cosas, para fabricar envases plásticos desechables, como botellas de leche.

- Polietileno de baja densidad (LDPE)

El LDPE (*Low Density Polyethylene*). es utilizado en la industria alimenticia por sus buenas propiedades mecánicas, adecuada procesabilidad y resistencia al impacto, elongación y punzonado. El LPDE es utilizado para la elaboración de películas plásticas usadas en industria cárnica y botellas flexibles.

- Cloruro de polivinilo (PVC)

El PVC estructuralmente es similar al polietileno, con la diferencia que cada dos átomos de carbono, uno de los átomos de hidrógeno está sustituido por un átomo de cloro. Algunas de las características que lo conforman es que es estable, inerte, resistente al agua y a la corrosión. Además de lo anterior este polímero contiene un amplio rango de durezas, sin embargo, se vuelve flexible y moldeable mediante la adición de plastificantes; generalmente se usa para fabricar películas para emplayado de alimentos.

- Polipropileno (PP)

El PP es un termoplástico parcialmente cristalino obtenido por la polimerización del propileno. El polipropileno se puede clasificar en tres tipos: homopolímero, copolímero aleatorizado y copolímero de alto impacto, los cuales pueden ser modificados y adaptados para determinados usos. Este plástico se caracteriza por su versatilidad, buena procesabilidad, excelente barrera conta el vapor de agua y buenas propiedades sensoriales, químicas, de resistencia y transparencia. El PP es comúnmente utilizado en tapones de botellas, popotes, hieleras portátiles, entre otras

- Poliestireno (PS)

Estructuralmente, el PS es una cadena larga de carbono e hidrógeno, con un grupo fenilo unido cada dos átomos de carbono. El PS es un plástico versátil usado para fabricar una amplia variedad de productos de consumo, a temperatura ambiente, el poliestireno es un sólido termoplástico que puede ser derretido a altas temperaturas para posteriormente moldearlo; debido a que es un plástico duro y

sólido, se usa frecuentemente en productos que requieren transparencia, tales como envases de alimentos, vasos térmicos, hueveras, bandejas de comida, relleno para embalaje, envases de yogur, perchas, aislantes, entre otros.

El plástico es uno de los materiales más utilizados hoy en día. Sin embargo, tarda mucho tiempo en degradarse y como consecuencia provocan contaminación en agua, tierra y atmósfera. Asimismo, y como ya se había mencionado, el plástico proviene del petróleo y para su fabricación es necesario de procesos químicos que también contaminan la atmósfera, además de que para deshacerse de los plásticos suelen ser quemados, lo que deriva una contaminación más grande (Perdomo, 2002). Además, al haberse identificado problemas de contaminación asociados a su uso, se ha renovado el interés hacia el uso de polímeros biodegradables en la elaboración de empaques alimenticios, minimizando de esta manera el impacto ambiental mientras se explora la posibilidad de incrementar la vida útil en los alimentos.

Capítulo 3. Marco metodológico

3.1 Plan de investigación

La investigación se dividió en tres etapas, descritas a continuación.

- Etapa 1, Pruebas preliminares: En la primera etapa se evaluaron diferentes razones (1:3, 1:4, 2:9, 1:5, 1:6 y 2:15) de mezclas de KC: AM, analizando las características tecnológicas de las mismas a través de pruebas informales con películas elaboradas con éstas, incluyendo facilidad para desmoldar de la superficie de elaboración, fracturabilidad y opacidad (Abdou y Sorour, 2014), seleccionando aquellas películas con la razón KC:AM que cumpliera con todos los criterios siguientes: que estuviera completamente secas al finalizar el periodo de formación en estufa (38°Cm 12 h), que pudiera despegarse con facilidad de la superficie de formación, que no sufriera rupturas al desmoldarse y que fuera completamente claras, considerando el tipo de películas plásticas comúnmente usadas en cárnicos frescos inyectados.
- Etapa 2 Selección de tratamiento ultrasónico y película a evaluarse: Una vez seleccionada la razón KC: AM más apropiada, en esta etapa se realizó un tratamiento ultrasónico selectivo de los componentes de la mezcla. El tratamiento ultrasónico por implementar se estableció de acuerdo con los resultados de pruebas preliminares. Se definieron los componentes que se someterían a sonicación de acuerdo con la clave mostrada en la Tabla 2, se elaboraron 4 lotes de películas por triplicado mediante el método de *casting* (38°C, 12 h), con y sin tratamiento ultrasónico de sus componentes, a la razón KC: AM elegida. Más tarde, se realizaron pruebas texturales (Elongación y Esfuerzo de tracción a la ruptura), ópticas (colorimetría y opacidad) y funcionales (permeabilidad y solubilidad) en las películas elaboradas para definir aquella más apropiada para aplicarse en un cárnico fresco.

Tabla 2. Tratamiento ultrasónico de componentes de mezcla polimérica para elaboración de películas

Dispersión de KC: AM	Tratamiento ultrasónico	
	Kappa carragenina	**Almidón modificado**
A	No	No
B	No	Si
C	Si	No
D	Si	Si

- Etapa 3. Aplicación de película en carne fresca: La carne se colocó en una charola la cual se recubrió con la película seleccionada y se analizó su comportamiento en almacenamiento refrigerado, donde se evaluaron cambios en su apariencia y pérdida de peso de la carne.

3.2 Materiales

Se empleó almidón modificado (AM) de maíz céreo (HI-CAP100®, Ingredion, Inglaterra), donado por Ingredion México; éste exhibe excelente resistencia a la oxidación, es apto para producción de películas, posee un contenido de humedad residual del 5% y una T de gelatinización> 60°C. La modificación se realiza por sustitución química con anhídrido octenil succínico (OSA, por sus siglas en inglés), un grupo lipofílico que produce un almidón anfotérico. La kappa carragenina refinada (HX Gel RP 1000) (KC) empleada fue proporcionada por Peisa Foods S.A. de C.V.; este polisacárido se caracteriza por formar geles con características físicas y funcionales específicas. Asimismo, se empleó glicerol (GL) grado alimenticio (Droguería Medina, Puebla, Pue.) el cual funciona como un agente plastificante para obtener películas menos frágiles y más flexibles. Para el acondicionamiento de las biopelículas previo al análisis de textura se utilizó nitrato de magnesio Mg $(NO_3)_2$, una sal inorgánica soluble en agua y en alcohol, que ajusta la humedad relativa al 53%. Finalmente, como referencia de comparación

de la pérdida de peso y cambio de color en la carne empacada con las películas elaboradas se utilizó una película comercial de polietileno de baja densidad (LDPE), material plástico usualmente empleado como película de empaque en la industria cárnica por sus características de transparencia y resistencia mecánica (Robertson, 2013).

3.3 Métodos

3.3.1 Preparación de dispersiones

Para la elaboración de la dispersión de almidón modificado con glicerol se ocupó el método propuesto por Meneguin *et al.*, (2014), mientras que para kappa carragenina se empleó el método descrito por Abdou y Sorour (2014).

El almidón modificado (HI-CAP 100) se preparó al 0.75 % (p/v) en 600 mL de agua destilada, adicionándole glicerol al 40% (p/p) del total de los sólidos formadores de película con agitación constante durante 20 min a 80°C (Soukoulis *et al.,* 2017). La k-carragenina se preparó al 0.75% (p/v) en 200 mL de agua destilada, durante 1 h a temperatura ambiente y agitación constante. Posteriormente la dispersión se calentó a 70°C con agitación constante durante 30 min de acuerdo con el método descrito por Teixeira y Vicentea (2011). Ambas dispersiones fueron mezcladas en proporciones específicas, dejándolas en agitación constante durante 5 min. Para la Etapa 1 se emplearon las razones kappa-carragenina-almidón modificado indicados en la Tabla 3 y mientras que en el resto de las etapas se preparó la mezcla de polímeros en la razón seleccionada en la Etapa 1.

3.3.2 Tratamientos con y sin ultrasonido de potencia

El tratamiento con ultrasonido de potencia es uno de los métodos físicos utilizado para la modificación estructural de productos líquidos, para modular sus propiedades. Las dispersiones poliméricas fueron sometidas a un tratamiento de ultrasonido de potencia en un equipo Hielscher UP400s (Hielsher Ultrasonics,

Teltow., Alemania) con una sonda de titanio de 22 cm a una potencia nominal de salida de 400 W; este equipo opera a 24 KHz de frecuencia. La sonda se introdujo a una profundidad de inmersión de 2.5 cm en un vaso de precipitado de 250mL conteniendo 180 mL de dispersión, que se procesó por 2 min, sin control externo de temperatura; se determinó la temperatura inicial y final en cada tratamiento con un registrador de temperatura digital (Steren, PC-LINK., México).

Tabla 3. Concentración (g/100g) de Kappa carragenina (KC) y almidón modificado (AM) en dispersiones acuosas para preparación de biopelículas.

Kappa carragenina (g/100g)	**Almidón modificado (g/100g)**	**Razón (KC:AM)**
0.250	0.750	1:3
0.200	0.800	1:4
0.182	0.818	2:9
0.166	0.833	1:5
0.143	0.857	1:6
0.118	0.882	2:15

3.3.3 Calibración calorimétrica

La energía neta entregada por el sistema se calculó de acuerdo con una calibración calorimétrica con base a las temperaturas sondeadas como función del tiempo en los tratamientos de ultrasonido a los que fueron sometidas las dispersiones de Kappa carragenina y almidón modificado. La estimación de poder acústico (W) se calculó por medio de la ecuación 1 (Tlahuiz, 2015).

$$P = m \cdot Cp \cdot \left(\frac{dT}{dt}\right)_{t=0} \quad \textbf{(Ec. 1)}$$

Dónde:

m = Masa del líquido sonicado (g).

C_p= Calor especifico a una presión constante $\left(\frac{\mathrm{KJ}}{\mathrm{Kg}\,^{\circ}\mathrm{C}}\right)$

$\left(\frac{dT}{dt}\right)_{t=0}$ =Pendiente en el origen de la curva.

Para el cálculo de C_p de cada tratamiento se utilizó la ecuación de Choi y Okos (Singh y Heldman, 2001).

$$C_p = 1.424X_h + 1.549X_P + 1.675X_f + 0.837X_a + 4.187X_w \quad \textbf{(Ec. 2)}$$

Donde cada Xi factor representa la fracción másica de X_h= Carbohidratos, X_P=Proteínas, X_f= Grasa, X_a= Ceniza, X_w= Agua

3.3.4 Preparación y acondicionamiento de biopelículas

Las películas se prepararon de acuerdo al método de *casting* (Marzo, 2010). Se mezclaron las dispersiones de KC y AM-GL en las proporciones indicadas manteniendo constante el pH de la mezcla en el rango de 5.48-5.63. Por su parte, para las Etapas 1 y 2 se colocaron 30 mL de mezcla en placas Petri de 90x15mm, mientras que para la etapa 3 se vertieron 260 mL de mezcla en charolas metálicas con cubierta autoadherible, dejándolas secar a 38°C durante 12 h. Previo a las mediciones realizadas y descritas en la sección siguiente, las películas se pre-acondicionaron a 25±2°C y 53±2% de humedad relativa (HR) por 48 h en una cámara de control de temperatura ETS 5533 (Electrotech Systems, Perkasie, PA) y nitrato de magnesio como sal de control que brinda una HR~53 %.

3.3.5 Pruebas de caracterización de películas

Estas pruebas mecánicas, ópticas y de desempeño tecnológico se realizaron por triplicado a las 4 formulaciones de películas y/o mezclas con sus respectivos tratamientos de ultrasonido.

3.3.5.1 Propiedades ópticas

3.3.5.1.1 Color

Cuando se clasifican los colores estos se pueden expresar en términos de matiz (color), luminosidad (brillo) y saturación (vividez). Al crear escalas para éstos atributos, podemos expresar en forma precisa el color (Ver Figura 19).

El espacio de color L*a*b* se define se la siguiente manera:

- L*=luminosidad
- a*= coordenadas rojo/verde (+a indica rojo, -a indica verde)
- b* = coordenadas amarillo/azul (+b indica amarillo, -b indica azul)

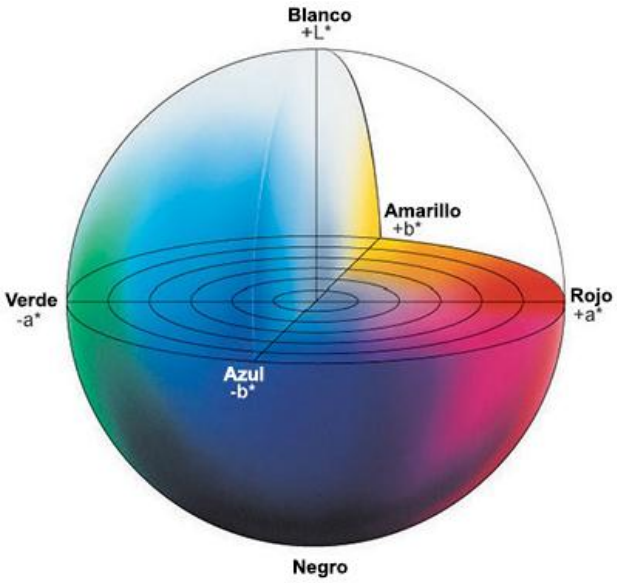


Figura 19. Espacio de color CIE LAB

La determinación de color triestímulo se realizó por medio de un colorímetro (HunterLabColorFlex, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA). Para ello se colocaron las películas enteras, tomándoles lectura de acuerdo a los parámetros de color de CIE LAB (L*, a*, b*) con un estándar de color (L*= 0.10, a*= 0.06, b*= -0.03) (Yánez, 2016). Esta determinación se realizó por triplicado y con base a los

datos obtenidos fueron calculados los parámetros chroma y hue, de acuerdo a las Ecuaciones 3 y 4 (Mathias-Rettig y Ah-Hen, 2014).

$$c *_{ab} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{\frac{1}{2}} \quad \textbf{(Ec. 3)}$$

$$h_{ab} = \arctan(\frac{b^*}{a^*}) \quad \textbf{(Ec. 4)}$$

3.3.5.1.2 Opacidad

La opacidad o transparencia es una de las propiedades ópticas más importantes en la apreciación del color y aspecto de un producto recubierto. Un material presenta transparencia cuando deja pasar fácilmente la luz y es opaco cuando no deja pasar apreciablemente la luz (Ver Figura 20).

La transparencia se cuantifica como transmitancia, porcentaje de intensidad lumínica que atraviesa la muestra. Para esto se utiliza un colorímetro o un espectrofotómetro (Miramont, 2012).

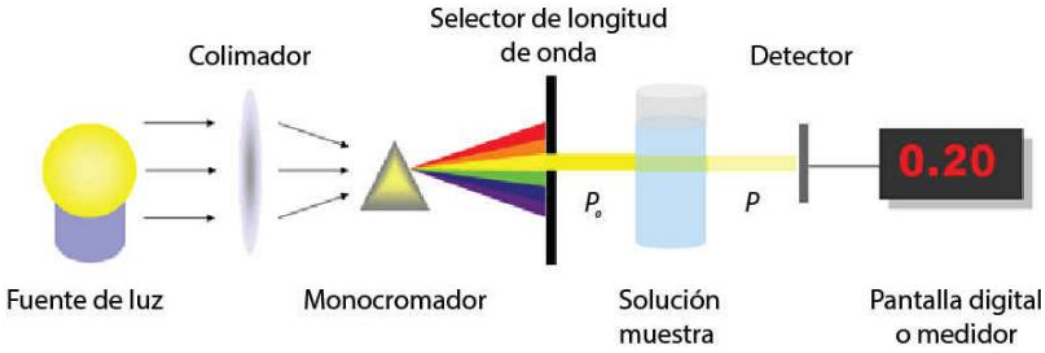


Figura 20. Análisis de una muestra por medio de un espectrofotómetro

La opacidad se determinó usando un espectrofotómetro UV-Visible (ThermoScientific, Genesys 10S., Alemania) para lo cual se cortaron 3 tiras por cada formulación del mismo tamaño que la cara de la celda para espectro (1x4 cm), en el cual se medió la transmisión de luz y transparencia de cada muestra a

una longitud de onda de 650 nm (Márquez, 2010). La opacidad se determinó por la Ec. 5 (Anchundia *et al*., 2016).

$$0 = \frac{\mathrm{A_{bs650}}}{\mathrm{x}} \qquad \textbf{(Ec.5)}$$

Dónde:

O= Opacidad

A_{bs650} = Valor de absorbancia a 650 nm

X = Espesor de la película (mm)

3.3.5.2 Propiedades físicas y mecánicas

3.3.5.2.1 Espesor

Se denomina espesor al grosor de algún objeto, es decir, qué tan grueso, abultado o ancho es. El espesor de la película fue calculado con el promedio de 7 puntos aleatorios de la película (extremos y parte central), para ello se utilizó un micrómetro digital (Luzeren Pro1002195) de 0-25 mm x 0.01 mm (Anchundia *et al.,* 2016) (Ver Figura 21).

Figura 21. Micrómetro manual

3.3.5.2.2 Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR)

Las propiedades mecánicas de las biopelículas son de gran importancia debido a que deben proteger la integridad física del alimento. El esfuerzo de tracción a la ruptura es la fuerza máxima por área que una biopelícula puede resistir antes de romperse. Por otro lado, la elongación es el porcentaje de cambio máximo en longitud de la biopelícula antes de romperse, mostrando una menor flexibilidad si el porcentaje de elongación es bajo (Domínguez y Jiménez, 2012).

En la Figura 22 se muestra un ejemplo del montado de las muestras para las pruebas de ETR y de elongación en los diferentes tratamientos realizados.

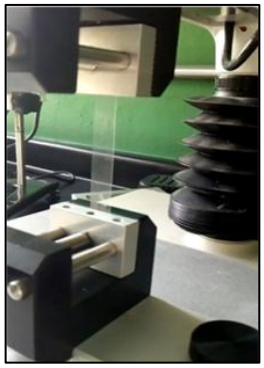


Figura 22. Prueba de ETR y Elongación en biopelícula formada por KC-AM.

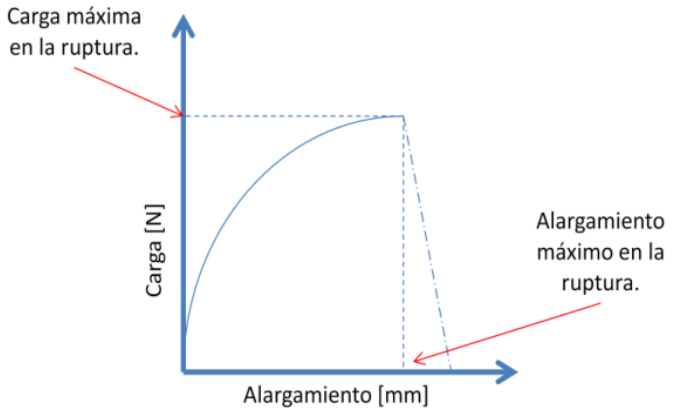


Figura 23. Gráfica ETR vs Elongación de películas

Una vez trascurridas 48 h de acondicionamiento se llevó a cabo la prueba de textura, en el texturómetro Texture Analyser TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Reino Unido) con una celda de 50 N. Para el análisis, se recortaron tiras de 1 cm x 5 cm de cada película, colocándolas entre dos pinzas de tensión (A/TG 35x35 mm) con una separación de 3 cm y generando una curva de carga vs elongación (Ver Figura 23). Para el cálculo de esfuerzo de tracción en la ruptura (ETR) y área transversal (AR) se aplicaron las ecuaciones 6 y 7 (Savé, 2011).

$$\mathrm{ETR} = \frac{\mathrm{C}}{\mathrm{AR}} \quad \textbf{(Ec. 6)}$$

Dónde:

ETR = Esfuerzo de tracción en la ruptura (MPa).

C= Carga máxima en la ruptura de la película (N).

AR =Área transversal inicial de la película (mm^2).

$$AR = \varepsilon * A \quad \textbf{(Ec. 7)}$$

Dónde:

AR= Área transversal inicial de la película (mm^2)

ε =Espesor de la película (mm)

A= Ancho de la película (mm)

3.3.5.3 Propiedades funcionales

3.3.5.3.1 Permeabilidad de películas

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) es una de las propiedades más importantes en la caracterización de biopelículas, ya que de esta depende en gran medida conservar las propiedades de algunos alimentos. Una biopelícula tiene como objetivos principales evitar o reducir al mínimo esta transferencia, en donde primero, el vapor de agua se condensa y se deposita en el lado de alta concentración de agua de la superficie de la película., posteriormente, las moléculas de agua se mueven a través de la película., y finalmente, el agua se evapora desde el otro lado de la película (Sánchez *et al.,* 2015).

La permeabilidad al vapor de agua de las películas se determinó de acuerdo con la norma ASTM E 96-90 (Santiago, 2015). Las películas se acondicionaron previamente a 25±2 °C y 53±2% de HR durante 48 h; esta última se obtuvo con $Mg(NO_3)_2$ que brinda una HR de 53%. Se pusieron 3 frascos redondos de área conocida con 4.2 mL de agua destilada cada uno; posteriormente; cada película se colocó en la boca de cada frasco y se fijaron a su contorno. Los frascos se colocaron en una cámara de temperatura controlada, con HR controlada con 30g dispersos de $Mg(NO_3)_2$ (Ver Figura 24); se registró el peso de los frascos cada 30 min durante 4 h manteniendo la T y HR constantes.

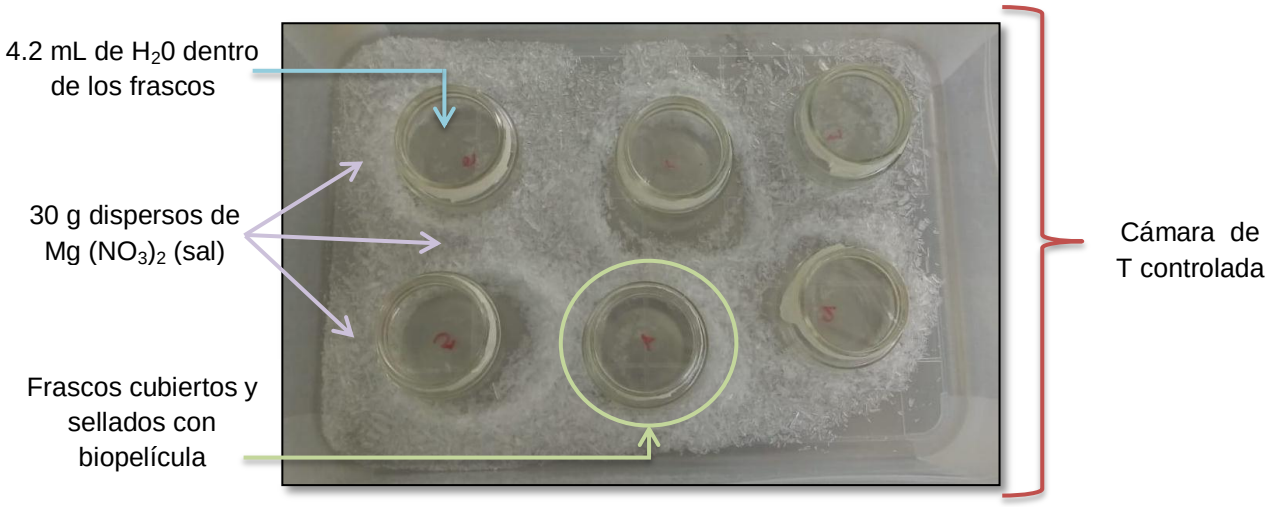


Figura 24. Frascos en cámara de temperatura controlada.

La velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) se calculó mediante la siguiente ecuación (Santiago, 2015):

$$\mathrm{VTVA} = \frac{\Delta w}{\Delta t \cdot A} \quad \textbf{(Ec. 8)}$$

Dónde:

Δw = Pérdida de peso del frasco durante un tiempo Δt con un área constante.

El valor de VTVA se utilizará para determinar la permeabilidad al vapor de agua (PVA):

$$\mathrm{PVA} = \frac{\mathrm{VTVA}}{\Delta P} \cdot L \quad \textbf{(Ec. 9)}$$

Dónde:

Δp= gradiente de presión de vapor entre los lados de la película.

L= espesor de la película.

3.3.5.3.2 Solubilidad de películas

La solubilidad es de gran importancia para determinar la funcionalidad de la biopelícula; dependiendo del alimento que se vaya a cubrir, una alta solubilidad es indeseable, dado que puede perderse el recubrimiento; mientras tanto, en otros

productos una alta solubilidad de la biopelícula es deseada cuando ésta será consumida simultáneamente con el alimento (Miramont, 2012).

Se cortaron por triplicado rectángulos de 2x3 cm de biopelícula, dejándolas secar por 2 h a 105 °C en una estufa; posteriormente se pesaron y colocaron en vasos de precipitado de 100 mL con 80 mL de agua destilada (un rectángulo por vaso, como se observa en la Figura 25) durante 24h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo los trozos de película restante se recuperaron filtrando el contenido de cada vaso a través de un papel filtro y a su vez dejándolo secar durante 2 h a la misma temperatura (González, 2017) (Figura 26).

Figura 25. Películas en agua destilada

Figura 26. Recuperación de películas por medio de papel filtro

Para determinar el porcentaje de solubilidad se empleó la Ecuación 10:

$$\%\ \text{Solubilidad} = \frac{\text{Peso seco inicial} - \text{Peso seco final}}{\text{Peso seco final}} \cdot 100 \quad \textbf{(Ec. 10)}$$

3.3.6 Aplicación de película en un producto cárnico fresco inyectado y evaluación de cambios en el producto durante el almacenamiento

Se llevó a cabo la aplicación de los cuatro tipos de biopelículas elaboradas en un cárnico fresco inyectado. El inyectado de cárnicos se refiere al proceso mediante el cual a través de agujas (inyectores) se incorpora a la carne una salmuera, que puede contener diferentes ingredientes y aditivos (sal, fosfatos,

aromas, especias, entre otros) con la finalidad de agregar valor a la carne mejorando sus características sensoriales (textura, jugosidad, sabor y apariencia) e incrementando su rendimiento, generando un aumento en su vida de anaquel debido a una mejor retención de humedad. Desde hace varios años, los cárnicos inyectados con salmuera constituyen una de las categorías de productos frescos vendidos al menudeo de mayor crecimiento en Norteamérica (Uttaro *et al*., 2011) y por ello se optó por probar las películas en productos de este tipo. El producto seleccionado fue pierna de cerdo inyectado al 25% para refrigeración, utilizando el conservador KS10 para 5 L de salmuera, sumergiendo previamente la carne en ácido láctico durante 12 s. Se cortaron 4 trozos de carne por tratamiento (A, B, C, D y un plástico comercial) de 180 g cada uno, los cuales posteriormente fueron colocados en frascos de plástico (un frasco por cada carne, como se muestra en la Figura 27) completamente cerrados a excepción de la parte superior, donde fue colocada la biopelícula sellándola alrededor de la boquilla con una liga.

El almacenamiento se llevó a cabo en condiciones de refrigeración durante 8 días. La comparación de pérdida de peso y cambio de color se realizó con un plástico comercial (Wu *et al*., 2000).

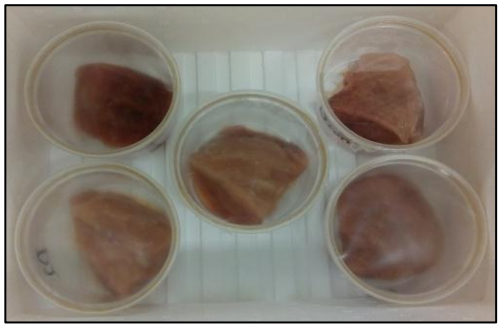


Figura 27. Uso de biopelícula en recipiente contenedor de carne.

La determinación de color se realizó por medio de un colorímetro (HunterLab ColorFlex, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston VA). Para ello se colocaron las piezas de carne almacenadas durante 8 días, determinando su color triestímulo por los cuatro lados de la pieza en los días 2, 4, 6 y 8 (Ver Figura 28). La lectura se expresó mediante los parámetros de color de CIE LAB (L*, a*, b*)

(Yánez, 2016). Esta determinación se realizó por duplicado y con base a los datos obtenidos fueron calculados los parámetros *chroma* y *hue*, de acuerdo con las Ecuaciones 11 y 12 (Mathias-Rettig y Ah-Hen, 2014).

$$c *_{ab} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{\frac{1}{2}} \quad \textbf{(Ec. 11)}$$

$$h_{ab} = \arctan(\frac{b^*}{a^*}) \quad \textbf{(Ec. 12)}$$

Figura 28. Medición de color en carne fresca

La evaluación de la pérdida de peso en el cárnico fresco se realizó con la finalidad de obtener datos de un sistema más controlado que simulara las condiciones de almacenamiento de la carne en presencia de una película plástica, simulando un proceso real a como se encuentran comercialmente.

Las muestras se pesaron a los días 1 (peso inicial), 2, 4, 6 y 8 (Ver Figura 29). Para determinar la variación en pérdida de peso de la carne con la aplicación de los distintos tratamientos se utilizó la Ecuación 13 (Tosne *et al.,* 2014).

$$\%\boldsymbol{PP} = \frac{\boldsymbol{Pi - Pf}}{\boldsymbol{Pi}} * \boldsymbol{100} \quad \textbf{(Ec. 13)}$$

Dónde:

%PP = Porcentaje pérdida de peso

Pi = Peso inicial (g)

Pf= Peso final (g)

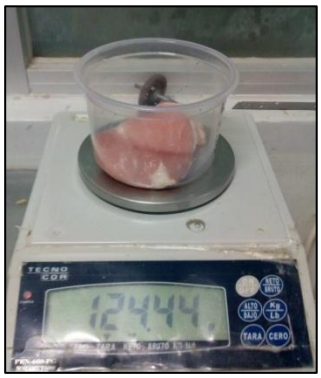


Figura 29. Ejemplo de pesado de la carne

3.3.7 Diseño experimental y análisis de datos

Para la determinación de la razón KC: AM a utilizar en las etapas subsecuentes de la tesis se hicieron pruebas experimentales con las razones indicadas en la Tabla 3, eligiendo subjetivamente aquellas películas cuya integridad física quedara intacta después del *casting* y permitieran un manejo apropiado de las mismas. Para la determinación del efecto del USP en la formación de las películas se llevaron a cabo pruebas experimentales con la razón KC: AM preseleccionada en la etapa previa, de acuerdo con un diseño completamente aleatorizado, con los experimentos indicados en la Tabla 2, midiendo parámetros texturales (ETR, elongación), ópticos (color triestímulo y opacidad) y tecno funcionales (permeabilidad y solubilidad). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza de una solo vía seguido de una prueba de Tukey para comparación de medias, utilizando un nivel de significancia de p=0.05. Mediante el análisis estadístico se seleccionó aquella película que presentó los parámetros evaluados más adecuados (menor permeabilidad, mayor resistencia a la ruptura y elongación y menor opacidad, con color más neutro). Se comparó el desempeño de la película resultante vs una película comercial (LDPE) empleando un corte de carne inyectado y almacenado en refrigeración, de acuerdo con un diseño experimental completamente aleatorizado, analizando los resultados por ANOVA con comparación de medias por Tukey (p=0.05). Todos los experimentos se hicieron con una réplica y todas las mediciones experimentales de las variables dependientes se hicieron por duplicado. Los análisis estadísticos se realizaron en un software especializado Minitab 16.0 (State College, Penn).

Capítulo 4. Resultados y discusión

4.1 Selección de la razón kappa carragenina: almidón modificado

En la primera etapa de la presente investigación se evaluaron distintas razones (1:3, 1:4, 2:9, 1:5, 1:6 y 2:15) de mezclas de KC: AM, analizando sus características tecnológicas y su viabilidad para emplearlas como componentes de la mezcla para elaboración de películas. En la Figura 30 se pueden observar las películas elaboradas a las diferentes razones indicadas; estas fueron evaluadas de manera informal en función de la formación de una película sólida y traslúcida, la facilidad de desmoldado y la resistencia mecánica al desmoldarse. Así, pudo observarse que la razón 1:3 se percibía resistente, fue fácil de desmoldar y presentó mayor claridad; por su parte, las razones 1:4, 2:9,1:5 y 1:6 (ver Figura 30, con excepción de la razón 1:6, que no es mostrada) exhibieron transparencia apropiada, pero se mostraron quebradizas y poco maleables, con formación de rasgaduras y fracturas al momento de desmoldarse. Por otra parte, la razón 2:15 generaba películas con facilidad para desmoldarse, pero eran mucho más opacas en comparación con las otras películas.

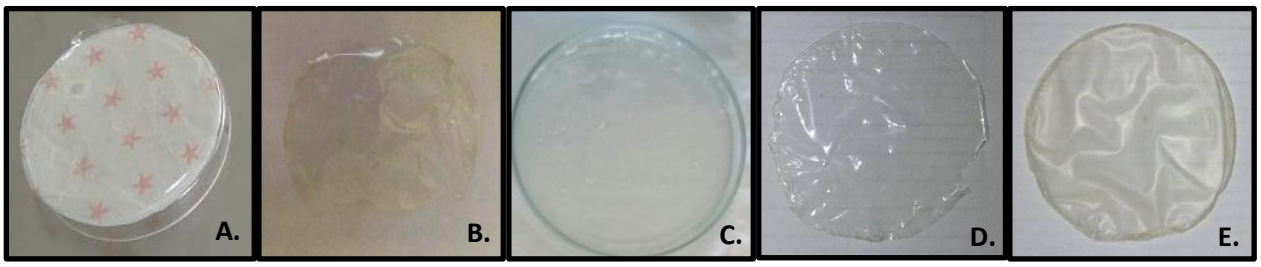


Figura 30. Películas elaboradas a diferentes razones KC: AM

A. 1:3; **B**. 1:4; **C**. 2:9; **D**. 1:5; **E**. 2:15

Tomando en cuenta las observaciones anteriores, la razón KC: AM seleccionada fue la 1:3, dado que las películas elaboradas eran fácilmente manipulables, no exhibían fracturas en su matriz y poseían un grado de claridad apropiado. Esta formulación se empleó posteriormente para ser sometida a los diferentes tratamientos de ultrasonido y finalmente para servir como material base

para elaborar las películas que serían empleadas en un producto cárnico. De acuerdo con los cálculos previos, la mezcla seleccionada se elaboró al 0.75 % (p/v) en 800 mL de agua destilada, con 0.1875% KC y 0.5625% AM, es decir, la concentración polimérica total de la mezcla fue de 6 g (1.5 g de KC, 4.5 g de AM).

4.2 Tratamientos con y sin ultrasonido de potencia

En la segunda etapa, una vez seleccionada la razón 1:3 de KC: AM, se realizó un tratamiento ultrasónico selectivo de los componentes de la mezcla. Las dispersiones de los biopolímeros fueron sometidas a un tratamiento ultrasónico a una potencia nominal de salida de 400 W y 24 KHz de frecuencia; sin embargo, la potencia real efectiva aplicada a las dispersiones fue calcula a partir de una calibración calorimétrica, como se muestra a continuación.

Para calcular la potencia real efectiva aplicada a las dispersiones de Kappa carragenina y almidón modificado primero se obtuvo el Cp de cada componente con las Ecuaciones a y b mostradas en el Anexo 1, mientras que para la estimación de poder acústico se utilizó la Ecuación 1. En la Tabla 4 se muestra el Cp calculado de cada uno de los componentes:

Tabla 4. Calor especifico de cada componente de la dispersión. *

Componentes	Cp (KJ /kg °C)
Agua	4.19
Almidón	1.65
Kappa Carragenina	1.65

*Medida a temperatura promedio de proceso ultrasónico (65°C para KC, 72.5°C para AM)

La potencia real efectiva obtenida para las dispersiones de 0.75% K-carragenina y 0.75% almidón modificado fue de 54 W y 33 W respectivamente, mientras que la densidad de potencia del ultrasonido en el AM fue de 8.68 $\frac{\mathrm{W}}{\mathrm{cm}^2}$ y en KC de 14.21 $\frac{\mathrm{W}}{\mathrm{cm}^2}$. En el Anexo 1 se muestran los cálculos realizados la

obtención de potencia real efectiva. Las pérdidas energéticas del proceso ultrasónico en forma de calor suelen ser muy importantes; en este caso, dado que la potencia nominal era de 400 W, la pérdida de energía como calor fue del 85 al 90%, lo cual refleja una baja eficiencia del proceso en comparación con otros trabajos previos realizados en el mismo grupo de investigación con el mismo equipo. Así, Caro-Gasca (2018) reportó una potencia efectiva en el rango de 62 a 82 W para el tratamiento de leche entera con 100% de amplitud y, previamente, Albores (2017) reportó una potencia efectiva en el rango de 74.5- 85.9 W en leche entera sonicada (24 KHz, 90% de amplitud, 1 y 5 min respectivamente). Las diferencias observadas pueden atribuirse a cambios en la matriz alimenticia tratada o en los tiempos y temperaturas de operación del equipo.

4.3 Caracterización de películas

4.3.1 Propiedades ópticas

4.3.1.1 Color

En numerosos reportes previos, la determinación de color en películas comestibles es una propiedad poco evaluada por considerarse que la traslucidez/opacidad es mucho más útil. Sin embargo, dependiendo del material con el que se fabrican pueden existir variaciones en el color de las películas en particular, durante el transcurso de su vida útil (p.e. algunas pueden desarrollar una coloración amarillenta). Además, el proceso al que se le somete puede causar modificaciones en este atributo y no hay información suficiente sobre el posible efecto del USP sobre el color de los polímeros empleados en la elaboración de las películas; tomando en cuenta lo anterior, se estimó necesario determinar posibles cambios en el color de las películas fabricadas, aun cuando por la traslucidez de las muestras, los parámetros individuales de color (L, a, b) carecen de significado por sí mismos, pues varían dependiendo del color de contraste de fondo empleado durante la medición; por ello, en la Tabla 5 y de manera análoga a como es reportado por Vicentini *et al* (2005), se presentan únicamente los datos de los parámetros de color (hue, chroma, ΔE) calculados a partir de éstos. De acuerdo

con el análisis estadístico se puede observar que existe una disminución en el parámetro *chroma* en todas las películas elaboradas con pretratamiento ultrasónico en al menos uno de los componentes de la mezcla con respecto al control (biopelícula A), aunque esta diferencia es sólo significativa ($p<0.05$) entre este último y la biopelícula D (AM y KC sonicados), donde A presenta el valor máximo en Chroma (1.39) y D presenta el valor mínimo (0.82). Por otra parte, los datos observados en Hue no presentan diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) entre todos los tratamientos.

Tabla 5. Chroma, Hue y cambio neto de color de biopelículas elaboradas con polímeros selectos tratados por ultrasonido de potencia

Biopelícula	Chroma	Hue	ΔE
A	1.39 ± 0.04 [a]	1.33 ± 0.04 [a]	*
B	1.19 ± 0.08 [ab]	0.44 ± 1.73 [a]	2.72 ± 1.11 [a]
C	1.15 ± 0.03 [ab]	1.17 ± 0.21 [a]	2.29 ± 2.52 [a]
D	0.82 ± 0.09 [b]	0.99 ± 0.33 [a]	1.81 ± 0.86 [a]

[ab] Medias con letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa (Tukey = 0.05) ± error estándar. **A:** Tratamiento control; **B:** Tratamiento con AM sonicado; **C:** Tratamiento con KC sonicada; **D:** Tratamiento con AM Y KC sonicados.

Chroma que también es llamado saturación, representa la pureza o intensidad de un color particular, y simboliza la viveza o palidez de este, mientras que *hue*, también conocido como tonalidad, representa la longitud de onda dominante del color que observamos (color en estado puro) (Reséndiz *et al.,* 2013). De acuerdo con Solano *et al.,* (2018) las películas elaboradas a partir de almidón, además de presentar excelentes propiedades mecánicas, suelen ser inodoras, insípidas e *incoloras*. En artículos relacionados con la elaboración de películas comestibles no se cuenta con información sobre la variación del color en

hue y *chroma* debido a que, al ser traslúcidas, la determinación de color puede resultar innecesaria, a menos que se observara un cambio en este atributo por efecto del proceso previo, incluyendo un pretratamiento ultrasónico. Gul *et al.,* (2018) observaron cambios importantes en parámetros de color de películas elaboradas con proteína de avellana y un aceite esencial al aplicar un tratamiento ultrasónico previo; en términos generales se detectó un incremento en la luminosidad y una disminución del parámetro *a*, sin cambios apreciables en el parámetro *b*, cambios asociados con la disminución del tamaño de partícula del material polimérico por efecto de la cizalla generado por el ultrasonido de potencia.

Por otro lado, la diferencia neta de color en B, C y D presentó cambios mínimos con respecto al control (con valores absolutos de diferencia en el rango de 1.8 a 2.7); además no se observaron variaciones significativas ($p<0.05$) en este parámetro para los tres tratamientos ultrasónicos implementados; esto nos indica que el tratamiento de USP no afectó el color neto percibido de las biopelículas de KC: AM; una variación mínima de color entre las películas experimentales y el color es positivo. Normalmente este parámetro se calcula como una herramienta para tomar decisiones de aceptación o rechazo si el cambio de color sobrepasa un nivel máximo de variación preestablecido por el mismo fabricante.

4.3.1.2 Opacidad

La opacidad es una propiedad crítica para evaluar en películas comestibles, ya que, dependiendo de su magnitud (traslucidez, opacidad) nos permite definir la aplicación que se le dará a la biopelícula, dependiendo de las características del alimento a recubrir. La claridad de las películas como material de empaque es esencial en ciertos productos alimenticios como los cárnicos frescos pues se desea demostrar la apariencia, color o brillo característico del producto al cliente potencial, dando a conocer las condiciones en las que se encuentra el producto, facilitando con ello la decisión de compra.

Los datos de opacidad de las películas elaboradas comparados con el respectivo control se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Opacidad reflejada en las biopelículas

Biopelícula	Opacidad (mm^{-1})
A	2.89 ± 0.87 [a]
B	2.01 ± 0.20 [a]
C	2.75 ± 0.05 [a]
D	1.82 ± 0.26 [a]

[ab] Medias con letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa (Tukey = 0.05) ± error estándar. **A:** Tratamiento control; **B:** Tratamiento con AM sonicado; **C:** Tratamiento con KC sonicada; **D:** Tratamiento con AM Y KC sonicados.

Como puede observarse en la tabla previa, no existen diferencias significativas ($p<0.05$) en los valores de opacidad de las biopelículas elaboradas. Sin embargo, es posible observar que la biopelícula A (control) presenta un valor promedio de opacidad ligeramente mayor en comparación con las biopelículas elaboradas con uno o más componentes que se sometieron a USP.

Una reducción en la opacidad de biopelículas elaboradas con polímeros ultrasonicados se ha observado en otros trabajos publicados en la literatura. Así, Cheng *et al*., (2010) elaboraron películas con almidón de maíz tratado y no tratado por ultrasonido de potencia, indicando que la transmisión de luz a través de las películas resultantes tratadas por ultrasonido de potencia es mucho mejor que a través de la película de almidón de maíz nativo, debido a la disminución de tamaño de partículas grandes de este polisacárido (los denominados "fantasmas" de almidón) y la eliminación de burbujas de aire en dispersiones formadoras de película. Estos autores atribuyeron esto a que el USP facilita la desintegración de gránulos de almidón y la formación de una dispersión homogénea del mismo. De manera similar, pero en películas elaboradas a base de gluten, Marcuzzo *et al.,* (2010) reportaron que el número y el tamaño de agregados de proteínas se reducen al aumentar el tiempo de exposición de USP (de 0 a 10 min), atribuyéndolo a una mayor cantidad de energía disponible para descomponer los agregados. Debido a lo anterior, puede deducirse que el efecto del USP es similar

en sus respectivas aplicaciones, a pesar de que sea empleado en componentes de diferente origen.

En un *review* reciente que explora las técnicas de modificación estructural de almidones para elaboración de películas comestibles Shah *et al.,* (2016) consideran que el ultrasonido es una importante técnica verde para lograr cambios en el almidón en dispersión acuosa, permitiendo la reducción del tiempo de proceso, la ruptura de estructuras cristalinas en el polisacárido y la solubilización de almidón residual; todos estos cambios pueden impactar la transparencia de las películas elaboradas. Asimismo, Tavassoli *et al.,* (2016) consideran que es posible mejorar las propiedades tecnológicas de las películas elaboradas por un solo componente mediante el uso de tratamientos físicos como el USP. Sin embargo, concluyeron que la funcionalidad de la película puede mejorar con la combinación de más componentes (otros polisacáridos, proteínas, etc.) debido a que se puede conseguir un efecto sinérgico de las características y/o cualidades de cada material, ayudando a mejorar la transparencia de la biopelícula. Como se verá más adelante, la aplicación de USP en dispersiones formadoras de películas comestibles produce una película no sólo con buena transparencia si no con una estructura reforzada.

En la Figura 31 puede observarse la transparencia que presentaron las películas elaboradas con o sin pretratamiento ultrasónico de uno o más de los componentes; se puede apreciar que, a simple vista, las películas se aprecian traslúcidas y, por tanto, apropiadas para usarse como barrera en productos cárnicos frescos, tal cual y como se acostumbra hoy en día en la venta de estos productos en supermercados y puntos de venta similares.

4.3.2 Propiedades físicas: Espesor

El espesor es una de las propiedades que contribuye en las propiedades de barrera de las películas, esto debido a que esta propiedad determina la distancia que el vapor de agua y/o gases deben recorrer para estar en contacto con el producto alimenticio o el medio ambiente (Solis, 2016).

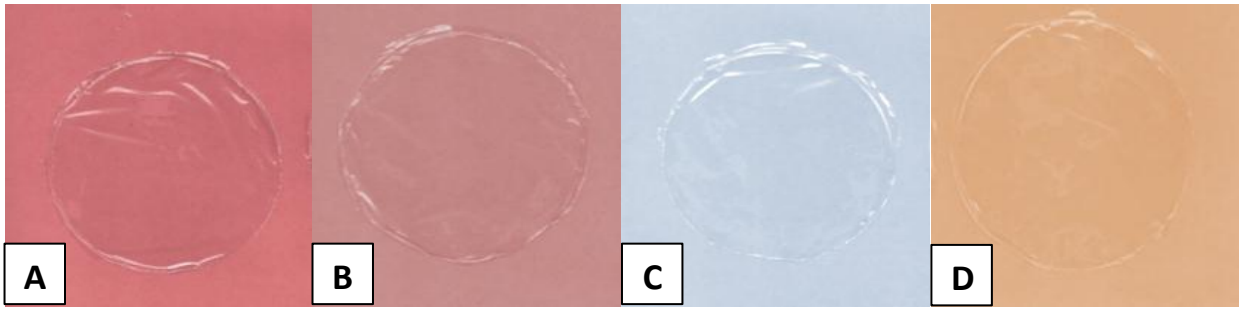


Figura 31. Transparencia de películas comestibles de KC: AM con y sin pretratamiento ultrasónico en uno o más polímeros.

A. Control **B.** AM sonicado **C.** KC sonicada **D.** KC y AM sonicados

Un espesor adecuado para una biopelícula no está estrictamente establecido; más bien su magnitud óptima depende del uso final que se le dé a esta, es decir, si se busca que la película sea fácil de degradar o como un agente protector, lo cual es la principal característica en el espesor que se buscó en el presente trabajo. Los datos de espesor de las películas elaboradas con polímeros pretratados con USP comparados con el control se presentan en la Tabla 7.

Tabla 7. Espesor calculado en cada tratamiento de biopelículas

Biopelícula	Espesor (mm)
A	0.03 ± 0.00 ^{c}
B	0.04 ± 0.00 ^{ab}
C	0.03 ± 0.00 ^{bc}
D	0.04 ± 0.00 ^{a}

^{ab} Medias con letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa (Tukey = 0.05) ± error estándar. **A:** Tratamiento control; **B:** Tratamiento con AM sonicado; **C:** Tratamiento con KC sonicada; **D:** Tratamiento con AM Y KC sonicados.

A través del análisis estadístico mostró un incremento significativo ($p<0.05$) en el espesor de las películas USP en comparación con la biopelícula A (control), con excepción de la biopelícula C, que mantuvo un espesor similar al reportado por el control. La magnitud de los valores observados de espesor se asemeja a

los valores reportados por Vázquez y Guerrero (2017) quienes produjeron películas elaboradas con mezclas de quitosano y glicerol, adicionadas de un aceite esencial, reportando valores en un rango de 0.03-0.1 mm, dependiendo de la concentración de quitosano, ya que en películas con 1% se obtuvieron espesores de 0.03 mm y 0.04 mm, mientras que en películas con 3% del mismo polímero se obtuvieron valores de espesor superiores a 0.07 mm, atribuyendo esta diferencia al aumento de concentración de soluto en un área de concentración constante. Por otra parte, Gounga *et al.,* (2007) trabajando con películas de aislado de proteína de suero reportaron un incremento en el espesor de películas de 0.017 mm a 0.023 mm al elevar la concentración del aislado de 5% a 7%. Estos autores también reportan que la incorporación de glicerol a la formulación de la película genera un aumento de espesor; afectando la cinética de secado y aumentando la permeabilidad al vapor de agua de la película.

A diferencia de lo aquí observado, trabajos previos indican que la aplicación de USP a dispersiones poliméricas mantiene o disminuye el espesor de biopelículas fabricadas con éstos; tal es el caso de lo reportado por Gul *et al.,* (2018) quienes fabricaron películas elaboradas con proteína de harina de avellana pretratada por USP y adicionadas con un aceite esencial, observando que el espesor y la solubilidad de la película disminuyeron al tratar la proteína con USP y esa disminución fue inversamente proporcional a la energía acústica aplicada. Al contrario, Banerjee *et al.,* (1996) no observaron cambios significativos en el espesor de películas de caseinato de sodio y proteína concentrada de leche con un pretratamiento ultrasónico leve (5.22W de potencia), el cual fluctuó entre 0.109 y 0.115 mm; las películas con proteínas ultrasonicadas exhibieron un valor promedio de espesor ligeramente mayor que el del control, lo cual indica que el efecto del USP sobre el espesor de las películas puede variar con la naturaleza del material tratado. En términos generales, la variación en el espesor entre los cuatro tratamientos de biopelículas es baja, lo cual, como lo destacan Banerjee *et al.,* (1996) resulta esencial para garantizar la confiabilidad de las siguientes propiedades evaluadas y descritas en los apartados siguientes.

4.3.3 Esfuerzo de tracción a la ruptura (ETR) y Elongación

Las propiedades mecánicas en películas comestibles son factores críticos para evaluar la efectividad de la película para funcionar como recubrimiento de un alimento, debido a que es necesario que estas posean una fuerza mecánica y elongación suficientes para garantizar la integridad y manejo del producto. Estas propiedades dependen principalmente de los materiales poliméricos utilizados para la formación de la matriz, así como la adición de otros agentes estructurales como los plastificantes (p.e. glicerol), los cuales ayudan a reducir su rigidez (Domínguez y Jiménez, 2012). De igual manera, la aplicación de tratamientos emergentes como USP puede modificar las propiedades funcionales de materiales poliméricos, entre ellas, su capacidad de formación de películas y las características que estas exhiben. Los datos de ETR y elongación de las biopelículas elaboradas se presentan en la Tabla 8, comparados con su respectivo control (biopelícula A).

Tabla 8. Esfuerzo de tracción a la ruptura y Elongación de las biopelículas

Biopelícula	ETR (MPa)	Elongación (mm)
A	3.34 ± 0.80 ^{c}	23.39 ± 6.17 ^{c}
B	8.36 ± 1.03 ^{a}	42.87 ± 1.40 ^{b}
C	4.46 ± 0.62 ^{bc}	43.88 ± 1.21 ^{b}
D	5.39 ± 0.31 ^{b}	77.58 ± 1.46 ^{a}

^{ab} Medias con letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa (Tukey = 0.05) ± error estándar. **A:** Tratamiento control; **B:** Tratamiento con AM sonicado; **C:** Tratamiento con KC sonicada; **D:** Tratamiento con AM y KC sonicados.

En la tabla anterior se puede observar que cada una de las biopelículas presentan cambios únicos en sus propiedades texturales. A partir de los datos de ETR se puede observar que la aplicación de USP en uno o más de los polímeros incrementó la firmeza de las películas con relación al control, aunque sólo se

observaron efectos significativos ($p<0.05$) en aquellas donde el AM se sometió a ultrasonicación (B, D); los valores máximos de firmeza de película se obtuvieron con las biopelículas B (AM sonicado) con ETR promedio de 8.39 MPa, seguido del tratamiento D (AM y KC sonicados, con un valor promedio de 5.39 MPa); en ambos casos el incremento en firmeza en comparación con el control fue significativo ($p<0.05$). Por su parte el mínimo de ETR de las películas elaboradas con pretratramiento USP se obtuvo con la biopelícula C (KC sonicada, 4.46 MPa), la cual no presentó una diferencia significativa ($p<0.05$) con el control (3.34 MPa). Es evidente entonces que el tratamiento ultrasónico del almidón es el que controla la firmeza de las películas y genera incrementos importantes en su magnitud. Lafargue *et al.,* (2007), trabajando con sistemas poliméricos mixtos de almidón modificado de chícharo con carragenina observaron que la mezcla de estos polímeros genera cambios importantes en su comportamiento reológico y capacidad gelificante en comparación con aquellos del almidón solo, no así en su capacidad de formación de películas, dado que las propiedades de las películas elaboradas con mezclas de estos polímeros no diferían de aquellas fabricadas con almidón solamente. Se presume entonces que el USP de AM y/o de KC modifica el tipo de interacciones moleculares entre estos polímeros, afectando las propiedades mecánicas de las películas elaboradas con éstos.

Los resultados de ETR de esta investigación se asemejan a los reportados por Cheng *et al.,* (2010) quienes elaboraron biopelículas con almidón nativo tratado por USP y sin plastificante observando un reforzamiento en la textura (incremento de firmeza) al incrementarse el tiempo de sonicación, siendo en todos los casos mayor a las películas elaboradas con el almidón nativo sin tratar. Estos autores asumen que el reforzamiento de textura puede atribuirse a cambios en las interacciones intermoleculares de los biopolímeros que conforman la mezcla, así como a la destrucción de fantasmas y, a su vez a la liberación de amilosa después del tratamiento, ya que el aumento en la concentración de amilosa en la dispersión de almidón permite la formación de películas más fuertes. Del mismo modo, el USP mejora la movilidad de los polímeros en las dispersiones de almidón, lo que

disminuye drásticamente su viscosidad y aumenta la solubilidad. De igual manera, Wang *et al.,* (2020) observaron un incremento significativo en ETR en películas fabricadas a una razón 2:1 con mucílago de camote con almidón al aplicar un USP de 300 W por 1 h, con un aumento del valor promedio de 0.79 MPa a 0.98 MPa.

En la Tabla 8 también se presentan los valores de elongación de las biopelículas fabricadas con uno o más biopolímeros ultrasonicados vs el control; como puede observarse, el pretratamiento USP de mezclas poliméricas produjo un incremento significativo ($p<0.05$) de este parámetro en todas las películas elaboradas, en magnitudes de hasta 3.3 veces la magnitud promedio del control. El valor máximo de elongación se obtuvo con la biopelícula D (AM y KC sonicadas), seguidas de los tratamientos B (AM sonicado) y C (KC sonicada) con valores de elongación de 42.87 mm y 43.88 mm respectivamente, sin diferencia significativa ($p<0.05$) entre ellas, mientras que el control (biopelícula A) exhibió un valor de elongación de 23.39 mm. El efecto del USP sobre la elongación es similar al que produce la aplicación de plastificantes y emulsificantes; así, Solano *et al.,* (2018) y Kang y Min (2010) establecen que una mayor cantidad de plastificante aumenta la flexibilidad de la película, así como su permeabilidad al vapor de agua.

La mayoría de los reportes previos exploran los efectos del USP sobre la elongación de películas basadas en proteínas mientras que los estudios con películas basadas en carbohidratos son escasos. Kang y Min (2010) reportan mejoras en la formación de películas de cáscara de papa pretratada por diferentes tecnologías emergentes, como homogeneización a alta presión, irradiación y USP. Aunque la aplicación de USP permitió la elaboración de películas partiendo de esta materia prima, no fue posible obtener superficies homogéneas, por lo que fueron descartadas; por otra parte, Chaichi *et al.,* (2017) propusieron la elaboración de películas de pectina (3%p/p) con celulosa nanocristalina (2,5,7% p/p) en una proporción 3:2, donde la celulosa fue sonicada (24 KHz, 30 min, 80% amplitud, 200 W de potencia nominal), incorporada a la dispersión de pectina y la mezcla fue de nuevo sonicada por 25 min a condiciones identicas. La adición de la

celulosa USP incrementó la elongación de las películas, obteniendo un aumento superior al 50 y 100% con la adición de 2 y 5% de celulosa.

Diversas investigaciones previas (Wang *et al.,* 2007; Turhan y Sahbaz, 2004) reportan que hay una correlación entre ETR y elongación en películas, donde generalmente aquellas con valores de elongación más altos poseen una menor ETR; esta relación no se observa en el presente trabajo, dado que la película con menor ETR (control) también exhibe la menor elongación; mientras tanto, la de mayor ETR (biopelícula B) presenta una elongación intermedia y la de mayor elongación (biopelícula D) exhibe una ETR intermedia; es claro entonces que el USP genera películas con propiedades texturales únicas.

4.3.4 Propiedades funcionales

4.3.4.1 Permeabilidad al vapor de agua

El estudio de la permeabilidad de una película al vapor de agua es de gran interés debido a que muestra la capacidad que poseen las biopelículas para controlar el transporte de vapor de agua a través de su estructura, disminuyendo o aumentando el deterioro en la calidad de los alimentos a cubrir. Las películas a base de polisacáridos son barreras efectivas al transporte de O_2 y CO_2 pero presentan una mayor permeabilidad al vapor de agua debido a su gran capacidad hidrofílica (Sánchez *et al.,* 2015). Los resultados de permeabilidad al vapor de agua pueden ser útiles para comprender los posibles mecanismos de transferencia de masa y soluto a partir de las interacciones poliméricas de los componentes que conforman las biopelículas (Bertuzzi *et al.,* 2007). Los datos de permeabilidad de las películas elaboradas con polímeros pretratados con USP comparados con el respectivo control se presentan en la Tabla 9. Se observa que la biopelícula B (AM sonicado) no presenta una diferencia significativa ($p<0.05$) de permeabilidad con el control (biopelícula A, 6.24 $x10^{-9}$ g/h*m*Pa); mientras tanto las películas C (KC sonicada) y D (AM y KC sonicadas) presentaron, respectivamente una disminución (5.58 $x10^{-9}$ g/h*m*Pa) y un aumento (7.44 $x10^{-9}$ g/h*m*Pa) significativo ($p<0.05$) en esta propiedad.

Tabla 9. Permeabilidad al vapor de agua de las biopelículas

Biopelícula	Permeabilidad (g/h*m*Pa)
A	$6.24 \times 10^{-9} \pm 0.15$ [b]
B	$6.57 \times 10^{-9} \pm 0.38$ [b]
C	$5.58 \times 10^{-9} \pm 0.09$ [c]
D	$7.44 \times 10^{-9} \pm 0.26$ [a]

[ab] Medias con letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa (Tukey = 0.05) ± error estándar. **A:** Tratamiento control; **B:** Tratamiento con AM sonicado; **C:** Tratamiento con KC sonicada; **D:** Tratamiento con AM Y KC sonicados.

Cheng *et al.* (2010) elaboraron películas con dispersiones pregelatinizadas de almidón nativo de maíz (5,10% p/p) tratadas por USP (0-30 min, 20 kHz, 63°C) observando que la permeabilidad se incrementaba con la concentración de AM empleada en las muestras no sonicadas y que el pretratamiento ultrasónico tendía a reducir la permeabilidad de las películas, en particular a tiempos de proceso superiores a los 5 min y de manera independiente a la concentración de AM; de acuerdo a estos autores, la permeabilidad de películas basadas en almidón está en función de factores intrínsecos (estructura química, grado de empacamiento, cristalinidad y razón amilosa: amilopectina del almidón, presencia de plastificante) y extrínsecos (humedad ambiental). En el caso de los tratamientos realizados en este proyecto tanto las concentraciones de polímeros empleadas (0.1875% p/p de KC; 0.5625% de AM) como los tiempos de proceso ultrasónico (2 min) fueron sensiblemente más bajos que los empleados por Cheng *et al.,* (2010) y a diferencia de lo reportado por estos últimos únicamente las películas elaboradas con KC ultrasonicado presentaron una disminución en la magnitud de PVA, que indica un incremento en la resistencia a la humedad debido a una disminución en su carácter hidrofílico. Los incrementos de PVA en las películas con AM sonicado (B, no significativo) y D (significativo) también difieren de lo reportado por Liu *et al.,* (2018) quienes trabajando con dispersiones ultrasonicadas de almidón de camote reportan disminuciones en permeabilidad de películas con variaciones

significativas con respecto a la amplitud del USP (20 KHz, 5 min), la cual, con respecto al control, se redujo progresivamente hasta 40% de amplitud (-20%), para posteriormente aumentar de manera gradual hasta el 70% de amplitud, aunque sin alcanzar el nivel observado en control (-13%). La respuesta observada entonces puede estar en función de otros factores.

Independientemente del tratamiento ultrasónico, la variación de permeabilidad observada puede estar relacionada con otras propiedades de la película. Bertuzzi *et al.,* (2002) reporta que la permeabilidad al vapor de agua aumenta a medida que aumenta el contenido de plastificante, esto debido al carácter hidrofílico del glicerol, sin embargo, en el presente trabajo el contenido de glicerol no varió. Estudios previos han mostrado relaciones similares entre el espesor de la película y las propiedades de permeabilidad en compuestos hidrofílicos (McHugh *et al.,* 1993), observado que existe un aumento en la permeabilidad al vapor de agua cuando el grosor de las biopelículas es más elevado, tal es el caso de películas elaboradas con base de quitosano y diferentes plastificantes (Solano *et al.,* 2018). Esta información concuerda con los datos obtenidos en la Tabla 6 donde el mayor espesor se presentó en los tratamientos B y D, los cuales del mismo modo presentaron la mayor permeabilidad. Asimismo, esto puede ser atribuido a la hinchazón de la película como el resultado de las fuerzas atractivas entre la película y el vapor de agua (McHugh *et al.,* 1993).

4.3.4.2 Solubilidad

La solubilidad de una película comestible nos permite conocer su facilidad de degradación en medio acuoso, es decir, su resistencia al estar en contacto con el agua y a la vez evaluar si puede conservar la integridad del alimento que se desea recubrir (García *et al.,* 2016). En la Tabla 10 se muestran los datos de solubilidad obtenidos de las películas elaboradas con polímeros pretratados con USP comparados con el respectivo control.

Tabla 10. Solubilidad en cada tratamiento de biopelículas

Biopelícula	Solubilidad (%)
A	86.67 ± 4.20 [a]
B	95.42 ± 3.75 [a]
C	48.84 ± 14.00 [b]
D	95.10 ± 7.74 [a]

[ab] Medias con letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa (Tukey = 0.05) ± error estándar. **A:** Tratamiento control; **B:** Tratamiento con AM sonicado; **C:** Tratamiento con KC sonicada; **D:** Tratamiento con AM Y KC sonicados.

En la Tabla 10 puede observarse que la solubilidad de las películas sonicadas no exhibe una diferencia significativa (α=0.05) con respecto al control, con la notable excepción del tratamiento C, el cual, a pesar de presentar una alta variabilidad presentó una disminución significativa (de casi 40 puntos porcentuales) con respecto a la biopelícula A. El valor máximo de solubilidad se obtiene con la biopelícula B (AM sonicado) con un porcentaje de 95.42%, seguido de la película D (95.1%); estos incrementos en solubilidad con respecto al control, sin embargo, no son significativos.

La solubilidad de las películas es afectada por numerosos factores, entre ellos la presencia y concentración de plastificante empleado (Solís, 2016) y la composición polimérica de la película. En este sentido, Thakur *et al.,* (2016) determinaron la solubilidad de películas compuestas de almidón de arroz y KC a diferentes razones (desde 1:1 hasta 8:1), observando que la solubilidad de las películas resultantes estaba en un rango del 42 al 62%, la cual disminuía al incrementarse la proporción de almidón empleada; una de las formulaciones propuestas por estos investigadores (almidón: KC en proporción 3:1 con 30% de glicerol añadido) se asemeja a la utilizada como control en la presente investigación, pero el valor de solubilidad que reportan (aproximadamente 55%) es sensiblemente menor al aquí obtenido (86.67%). Una reducción en el valor de

solubilidad de una película, la cual es una medida de su resistencia contra el agua, indica cambios en el grado de entrecruzamiento y el grado de compactación entre las moléculas, que permiten una reducción en la interacción con el agua; dado que la película C fue la única que disminuyó significativamente su solubilidad, se presume que el tratamiento de la carragenina con USP permitió incrementar el número y la intensidad de las interacciones entre ésta y el almidón, generando una película adecuada para emplearse en productos de base acuosa.

Los resultados obtenidos con las películas B y D en términos de un leve incremento en solubilidad concuerda con lo reportado por Cheng *et al.,* (2010) aunque la magnitud del cambio es sensiblemente menor; estos autores elaboraron biopelículas de dispersiones de almidón nativo de maíz al 3-10% (p/p) pretratadas por USP (20 KHz, 63°C, 0-30 min) observaron que su solubilidad aumentó significativamente aun a tiempos de sonicación cortos (t<5 min), especialmente a concentraciones bajas de almidón; así, al 3% de polímero la solubilidad aumentó de 40% a 70% y 83% tras 2.5 y 5 min de tratamiento, respectivamente. Este fenómeno se atribuyó al efecto del USP sobre la ruptura de *fantasmas*, esto debido a que la fracción no solubilizada de los gránulos gelatinizados está intacta, pero cuando se trata con USP se disocian gradualmente. La diferencia en el comportamiento de estos sistemas se puede atribuir al tipo de almidón tratado en cada caso (nativo vs. modificado).

4.3.5 Selección de película para pruebas con producto alimenticio

La selección de la película para aplicar en el producto cárnico se hizo de acuerdo con las propiedades determinadas en esta sección 4.3. En la Tabla 11 se muestra un resumen de las características más notables de cada película. Como puede observarse, cada película USP (B, C y D) presenta un rasgo distintivo que la diferencia del control; así, la película B es notablemente más firme que el control y más elástica; la película C es más elástica, pero significativamente menos permeable y notablemente menos soluble, mientras que la película D es significativamente más firme y permeable y considerablemente más elástica que el

control. Debido a que cada tratamiento presento características destacables, ya sea texturales y/o funcionales y dado que no se observaba una clara ventaja (o desventaja) de usar alguna de las películas y no había evidencia previa de como funcionarían al emplearse con el tejido cárnico, se consideró más factible evaluar las tres películas experimentales y el control en el producto cárnico fresco.

Tabla 11. Resumen de características de biopelículas de KC: AM con o sin pretratamiento USP de componentes selectos

Película	ETR	Elongación	Opacidad	Permeabilidad	Solubilidad
B	++	+	SD	SD	SD
C	SD	+	SD	-	--
D	+	++	SD	+	SD

SD: Sin diferencia significativa con el control; los signos positivos y negativos indican diferencia significativa con el control y la dirección de la diferencia; a mayor número de signos, mayor es la magnitud de la diferencia. **B:** Tratamiento con AM sonicado; **C:** Tratamiento con KC sonicada; **D:** Tratamiento con AM Y KC sonicados.

4.4 Aplicación de película en un producto cárnico fresco inyectado

4.4.1 Color

El color es uno de sus factores de calidad más importantes en cárnicos, ya que se le considera un indicador de frescura y representa una de las características críticas para tomar una decisión de compra. En la sección 4.3.1.2 se evaluó la traslucidez de las películas empleadas, observándose que ninguna de ellas impedía la observación clara del color y la apariencia en general de productos que se recubrieran con ella. Sin embargo, se consideró relevante analizar el color del producto empacado también, debido a que posibles cambios en su apariencia durante el almacenamiento pueden definir si las películas USP varían su efectividad como barrera con el tiempo o si difieren en su desempeño en comparación con una película plástica estándar. Los datos de luminosidad*, hue* y

chroma en la carne cubierta con el control (A), las películas elaboradas con componentes sonicados (B-D) y con una película plástica de referencia (P) durante 8 días de almacenamiento refrigerado se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12. Cambio en parámetros de color de carne de cerdo almacenada 8 días en refrigeración con películas USP vs control

Luminosidad				
Película	**Tiempo (d)**			
	2	**4**	**6**	**8**
A	46.85 ± 0.07	42.56 ± 5.26	48.85 ± 3.40	41.83 ± 2.27
B	47.73 ± 0.52	48.54 ± 1.31	48.99 ± 2.93	44.32 ± 0.24
C	46.78 ± 4.10	36.65 ± 0.61	47.30 ± 3.29	43.99 ± 1.59
D	41.92 ± 3.24	40.06 ± 0.98	40.83 ± 1.68	39.72 ± 0.78
P	45.86 ± 12.04	38.31 ± 0.19	43.31 ± 1.14	43.38 ± 1.81
Hue				
Tiempos	**Tiempo**			
	2	**2**	**2**	
A	1.18 ± 0.00	1.04 ± 0.14	1.26 ± 0.13	1.05 ± 0.06
B	1.29 ± 0.01	1.33 ± 0.04	1.39 ± 0.02	1.22 ± 0.10
C	1.18 ± 0.12	0.89 ± 0.01	1.17 ± 0.15	1.13 ± 0.10
D	1.03 ± 0.17	0.92 ± 0.00	1.03 ± 0.11	1.08 ± 0.08
P	1.14 ± 0.29	1.00 ± 0.04	1.17 ± 0.08	1.13 ± 0.08
Chroma				
Película	**Tiempos**			
	2	**4**	**6**	**8**
A	14.04 ± 0.06	15.26 ± 0.84	13.54 ± 0.83	14.56 ± 0.09
B	13.21 ± 0.49	12.20 ± 0.95	11.64 ± 0.24	13.09 ± 1.24
C	13.94 ± 3.55	16.01 ± 0.10	16.08 ± 3.50	16.13 ± 2.20
D	13.62 ± 0.81	16.60 ± 0.02	15.14 ± 2.21	15.21 ± 4.29
P	14.28 ± 0.65	15.45 ± 0.04	13.91 ± 0.35	14.68 ± 0.69

[ab] Medias con letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa (Tukey = 0.05) ± error estándar. **A:** Tratamiento control; **B:** Tratamiento con AM sonicado; **C:** Tratamiento con KC sonicada; **D:** Tratamiento con AM Y KC sonicados, **P:** Plástico comercial (HDPE)

A través del análisis estadístico (ver Anexo 2) se pudo determinar que no existían diferencias significativas en luminosidad, *hue* y c*hroma* de carne

recubierta con los distintos tipos de películas procesadas por USP durante su almacenamiento refrigerado, lo que implica que ninguna de las películas de KC:AM con o sin componentes sonicados modifican el color de la carne de manera diferente al plástico comercial usualmente empleado (LDPE). Los datos de color obtenidos se asemejan a otros previamente reportados para carne de cerdo empacada en películas plásticas; así, Olivas *et al.,* (2017) presentaron datos similares en L* y C* obtenidos en cortes de carne de cerdo mantenidos en refrigeración durante su exposición para venta en supermercados; sin embargo, los valores de *hue* que reportan (74.5) difieren notoriamente de los aquí calculados (los cuales estuvieron en el rango de 0.89 a 1.39); esto puede atribuirse al tipo de corte de carne de cerdo analizada en cada caso (en esta investigación se empleó pierna de cerdo) o a las condiciones de almacenamiento (T, concentración de O_2) las cuales pueden afectar el color, particularmente en el componente de color triestímulo asociado con tonos rojos (a+) (Olivera *et al*., 2013). A pesar de ello, los valores promedio de L, hue y chroma obtenidos indican la presencia de colores con tonalidades rosas tenues, de acuerdo con un generador en línea de colores en escala HCL (http://hclwizard.org/), que es un color típico y aceptable en este tipo de cortes de cerdo ya que se asocia con un producto fresco y de buena calidad.

Los trabajos publicados que evalúan cambios en color en carne recubierta con películas comestibles son escasos, con el énfasis de muchos estudios centrado en las modificaciones de color de las películas. De acuerdo con Olivera *et al.,* (2013) los cambios de color en carnes rojas durante su almacenamiento refrigerado están asociados con procesos de oxigenación y oxidación de mioglobina; por tanto, un cambio en el material de recubrimiento como el propuesto en este proyecto pudiera impactar negativamente la evolución del color en carne, probablemente relacionado con la permeabilidad en cada tipo de película. En la Figura 32 se presenta la evolución de la apariencia de carne tras 8 días de almacenamiento refrigerado, recubierta con las distintas películas.

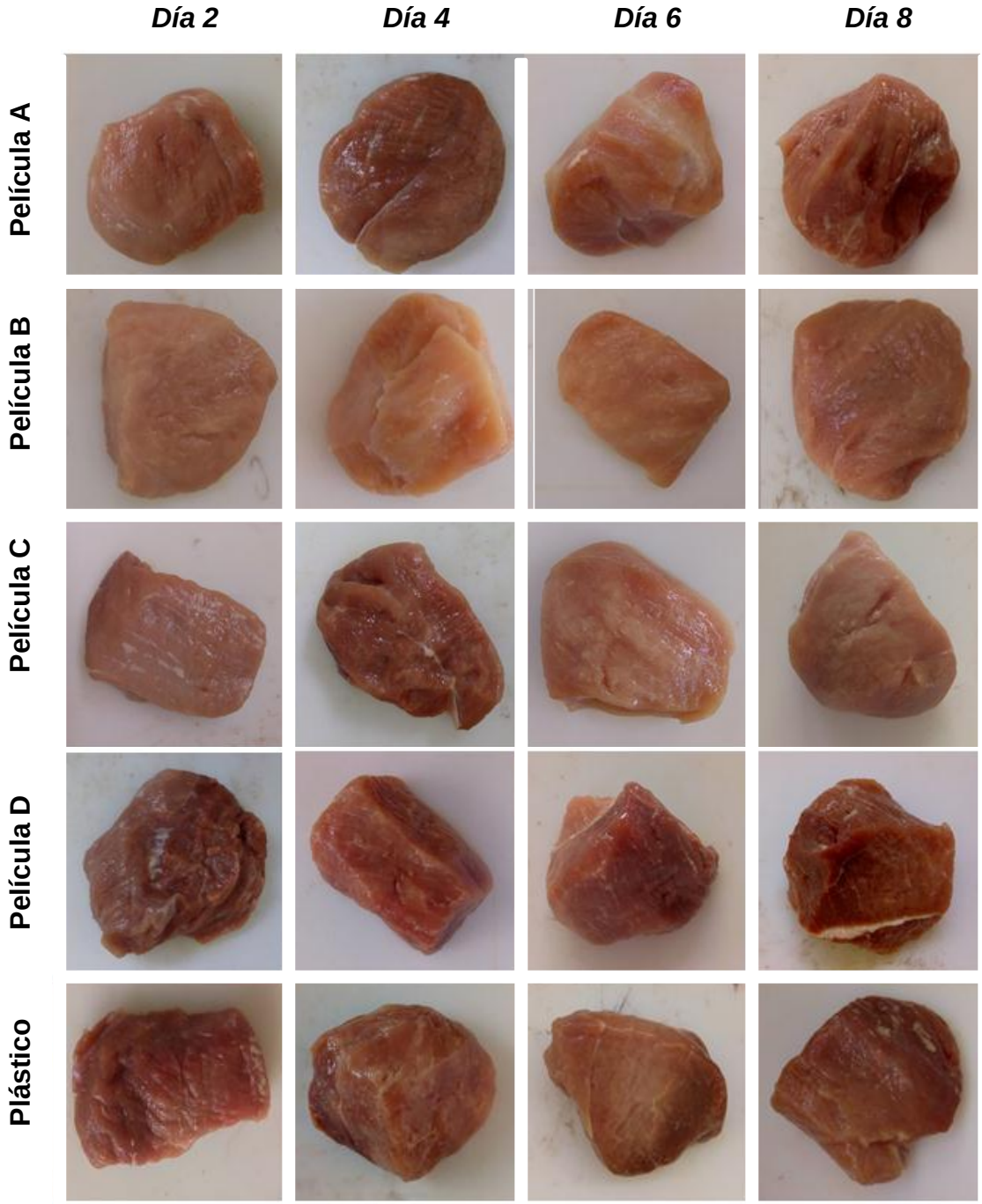


Figura 32. Evolución de la apariencia de la carne durante almacenamiento refrigerado en películas de biopolímeros vs. plástico comercial**.**

La aplicación de una biopelícula en un producto alimenticio puede o no contribuir en los cambios de color del alimento, dependiendo de las propiedades barreras de la película y en ocasiones hasta del color de éstas, tal y como ha sido reportado en distintos trabajos que exploraron el color de matrices alimenticias diversas empacadas con películas comestibles (Pérez *et al.,* 2003; Galietta *et al.,* 2005; Ordoñez *et al.,* 2014). Como se puede observar en las imágenes mostradas en la Figura 32, no existieron diferencias apreciables en la carne de cerdo empacada con diferentes películas comestibles y en plástico comercial a lo largo de su almacenamiento refrigerado lo que refuerza lo que refuerza lo discutido anteriormente con relación a los parámetro HCL mostrados en la Tabla 12 y nos indica una buena estabilidad oxidativa de las piezas de carne a lo largo del tiempo de seguimiento, de manera independiente al tipo de película empleada como protección. En este proyecto no se evaluaron cambios microbiológicos o índices de deterioro químico en la carne (compuestos de oxidación, pH); estudios de este tipo usualmente se realizan con películas a las que se le han incorporado agentes antimicrobianos (Supardan *et al*., 2016; Guzmán *et al.,* 2015) o compuestos antioxidantes (Bojorges *et al*., 2020). Sin embargo, en investigaciones posteriores pueden incluirse pruebas de este tipo, especialmente si se desea alargar la vida útil de la carne más allá de los 8 días de almacenamiento refrigerado.

4.4.2 Pérdida de peso

Las películas comestibles poseen características hidrofílicas o hidrofóbicas según la naturaleza de los polímeros empleados en su elaboración. Las películas utilizadas en cárnicos frescos regularmente emplean en su fabricación materiales de naturaleza hidrofóbica, debido al alto contenido de agua de estos alimentos; sin embargo, si el producto es colocado en charolas para emplayar, las biopelículas elaboradas pueden poseer característicamente hidrofílicas, dado que no están en contacto directo con el cárnico, pero si como parte del empaque para protegerlo y evitar su deshidratación. Los datos del peso de cortes de cerdo emplayado con las distintas biopelículas con ingredientes USP y la película plástica control obtenidos

a lo largo de 8 d de almacenamiento refrigerado se presentan en la Figura 33 y el cambio neto de peso tras ese mismo periodo de tiempo se muestran en la Tabla 13; en el Anexo 3 se presentan de manera independiente las pérdidas de peso ± desviación estándar para que las barras de error no impidan visualizar adecuadamente la tendencia de las gráficas de pérdida de peso.

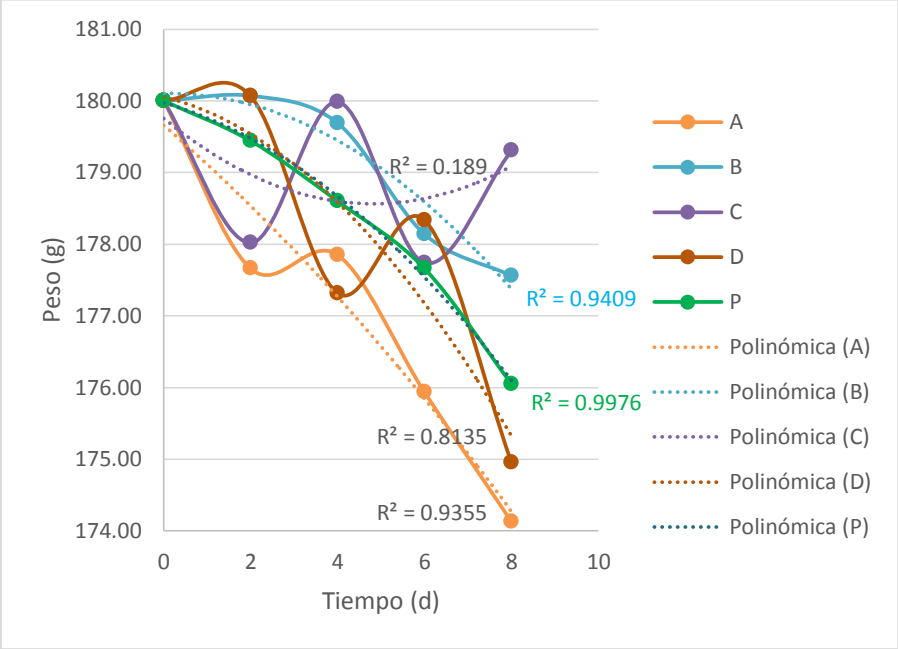


Figura 33. Cambios en peso de carne con películas USP vs control durante almacenamiento refrigerado.
Las líneas punteadas indican regresiones polinomiales de segundo grado

Tabla 13. Cambio de peso en carne de cerdo almacenada 8 días en refrigeración con películas USP vs control

Película	Peso de carne a 8 d (g)	% de cambio de peso total tras 8d
A	174.13 ± 0.07 ^{D}	-3.26 ± 0.04
B	177.56 ± 0.34 ^{B}	-1.36 ± 0.19
C	179.31 ± 0.57 ^{A}	-0.38 ± 0.32
D	174.96 ± 0.22 ^{CD}	-2.80 ± 0.12
P	176.05 ± 0.07 ^{C}	-2.19 ± 0.04

AB Medias con letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa (Tukey = 0.05) ± error estándar. A: Tratamiento control; B: Tratamiento con AM sonicado; C: Tratamiento con KC sonicada; D: Tratamiento con AM Y KC sonicados y P: Plástico

La pérdida de peso en carne fresca es de gran importancia ya que esta es vendida por peso y la cantidad de agua que pierde durante el almacenamiento afecta su rendimiento y valor económico. Además, se ha investigado la elaboración de biopelículas para su aplicación en carnes, aves y mariscos, sin embargo, estos han presentado ciertas deficiencias, por lo que se ha recomendado una profunda investigación de biopolímeros para la formación de películas principalmente formadas por más de un componente (Khan *et al*., 2013).

Como puede observarse en la Figura 33, las cinéticas de pérdida de peso de carne empacada exhibieron un comportamiento muy variable dependiendo del tipo de película empleada como recubrimiento. Las películas A y B se comportaron de forma similar a la película plástica control P; para todas ellas pudo observarse una reducción progresivas en el peso de la carne mientras que valores de los coeficientes cuadrático de correlación (r^2) de regresiones polinomiales de segundo grado eran muy considerablemente altos (r^2>0.93) (ver Figura 33); por su parte, las películas C y D presentaron un comportamiento muy irregular, provocando alternadamente incrementos y decrementos de peso con lo cual la regresión polinomial presentó un ajuste deficiente; esto fue particularmente cierto para la carne recubierta por la película C (r^2=0.19).

En cuanto al peso de la carne tras 8 días de almacenamiento refrigerado en recipientes cubiertos por las diferentes biopelículas la carne emplayada (Tabla 13) puede observarse que se presentó una disminución de peso el rango de -0.38% (película C) a -3.26% (película A); para la película C, el peso final de la carne tras 8 días de almacenamiento no presentó una diferencia significativa (p=0.05) de peso con el del producto al inicio del almacenamiento refrigerado; por su parte, la pérdida de peso en la película D no presentó una diferencia significativa con aquella de la película plástica control (P) ni con la película A.

Tomando en cuenta lo anterior, se considera que la película B fue la que exhibió un mejor comportamiento como barrera del cárnico, generando una pérdida de peso de la carne significativamente menor que el control, impidiendo que la carne perdiera peso hasta el cuarto día después de empacada, sin permitir

ganancia de peso durante el almacenamiento (fenómeno que indicaría que la película permite entrada de humedad del medio ambiente e incumple con sus características como empaque) y permitiendo una cinética de pérdida de peso muy parecida a la de la película plástica empleada como control.

Al comparar los datos anteriores con aquellos de permeabilidad de las películas ultrasonicadas (Tabla 9) se observa una correspondencia directa entre los valores de permeabilidad y el desempeño de las películas; la película con menor permeabilidad (C) permitió la menor pérdida de peso en carne, mientras que aquella con mayor permeabilidad (D) presentó junto con la película A la pérdida más importante de peso de carne (-2.80%), mientras que la película B, con permeabilidad intermedia, permitió una pérdida intermedia de humedad de la carne; el único comportamiento discordante, fue observado en la película A, con la mayor pérdida de humedad de carne y un valor intermedio de permeabilidad. Esta diferencia observada puede atribuirse a posibles cambios en el comportamiento de los materiales poliméricos a las diferentes temperaturas a las que se llevó a cabo cada prueba (temperatura ambiente vs. refrigeración); de manera similar, Miranda *et al*. (2003) elaboraron películas de quitosano para el almacenamiento de aguacate, observando que valores de permeabilidad a 4ºC eran mayores a aquellos determinados a 24ºC, atribuyendo este comportamiento a un posible incremento en la sorción de agua debido a las disminución de la temperatura o a un posible cambio en la estructura de la película en el rango de temperatura de 5°C y –10°C que pudiera afecta su permeabilidad.

Las biopelículas a base de almidón se asemejan a las películas de plástico en sus propiedades (inodoras, insípidas, incoloras y no tóxicas), siendo semipermeables al dióxido de carbono, buena barrera al oxígeno y algunas de estas resistentes a grasas y aceites. Las películas formadas por polisacáridos presentan buenas propiedades barreras a los gases y una efectiva resistencia a las grasas y aceites; sin embargo, su gran naturaleza hidrofílica los hace pobres barreras de vapor de agua. Es por eso que en algunas investigaciones se menciona que el uso de biopelícula con base en estos materiales ha ayudado en

la prolongación de la vida útil de productos cárnicos y avícolas, retrasando la deshidratación, ranciedad oxidativa y el dorado de la superficie. Asimismo, se han recubierto filetes de res, chuletas de cerdo y muslos de pollo sumergiéndolos en una dispersión de alginato o almidón de maíz y posteriormente en una solución de cloruro de calcio, mostrando buena efectividad para la reducción de perdida de humedad, proporcionándoles una mejor textura, jugosidad, olor y color a los productos. No obstante, el cloruro de calcio aportó un sabor amargo (Ustunol, 2009).

La relevancia del uso conjunto de sistemas poliméricos mixtos se ha explorado en publicaciones previas. González *et al.,* (2016) reportan que en biopelículas elaboradas a base de k-carragenina y gelana de alto acilo se puede observar que el aumento en la concentración de k-carragenina (0, 25, 75 y 100) en este sistema disminuye los valores de PVA de las películas; por otra parte, Vásquez (2019) elaboró una película de carragenina adicionada de diferentes concentraciones de extracto etanólico de propóleos (0,01; 0,05 y 0,1%) aplicada en lonjas de carne de 45-50 g de carne bovina , almacenándose a 4°C por 12 días en recipientes de poliestireno, envueltos en cloruro de polivinilo. Los cortes de carne se pesaron a 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 días, siendo el tratamiento con 0.1% de propóleos el que presenta un menor porcentaje de pérdida de peso al octavo día de conservación (1.9%). Este resultado se asemeja al obtenido en el tratamiento B del presente trabajo (1.36%).

De acuerdo con los valores de permeabilidad de diferentes películas sintéticas reportados por Bertuzzi *et al.,* (2002) las biopelículas elaboradas en esta investigación exhibieron valores de PVA en el orden de magnitud de películas de LDPE (polietileno de baja densidad), el cual presenta excelentes propiedades ópticas, buena resistencia de carga, punzado, rasgado y estiramiento y son ampliamente usadas en industria cárnica. El LDPE presenta una permeabilidad en el rango de 2.628 – 3.492 $x10^{-9}$ g/(m*h*Pa) mientras que la biopelícula B (que permitió la menor pérdida de peso en carne sin intercambiar humedad con el entorno, presenta una permeabilidad de 6.570 $x10^{-9}$ g/(m*h*Pa), esto es,

aproximadamente 2.5 veces mayor que el valor de PVA de LDPE lo que la haría menos adecuada para el empacado del cárnico. Sin embargo, la biopelícula B presenta ventajas importantes en comparación con el LDPE y alternativa ya que presentó una tendencia similar de pérdida de peso de carne en comparación con el plástico comercial, aunque con un porcentaje de pérdida de peso menor; adicionalmente, las películas preparadas están constituidas por materiales comestibles y biodegradables.

De acuerdo con los resultados de las pruebas preliminares realizadas con producto, se considera que la película B es la más promisoria, dado que no propicia cambios de color en carne en el periodo evaluado, A pesar de las ventajas de emplear las películas elaboradas con uno más polisacáridos sonicados en una mezcla basada en almidón, para un mejor uso y mayor efectividad de biopelículas es recomendable añadir otros biomateriales que modulen algunas de sus características, así como también es deseable considerar el uso de antimicrobianos en la misma matriz o ser utilizada como sustituta de alguna capa en otro bioplástico o material plástico con la finalidad de reducir el material residual dañino para el medio ambiente.

Capítulo 5. Conclusiones y trabajo futuro

A partir de los resultados y discusiones presentadas previamente, es posible concluir lo siguiente:

- La aplicación del ultrasonido de potencia como pretratamiento en mezclas de dispersiones de κ-carragenina y almidón modificado presenta cambios en sus características tecnológico-funcionales, ya que las biopelículas obtenidas a partir de las mezclas tratadas presentan diferencias significativas en comparación con la mezcla sin tratamiento.
- La evaluación de razones selectas de mezclas de κ-carragenina: almidón modificado fue de gran utilidad para determinar la razón más apropiada para la formación de biopelículas con estos materiales (razón 1:3) debido a que en comparación con las otras razones estas presentaban facilidad para desmoldarse de la superficie de elaboración, estabilidad a no quebrarse y mayor claridad en la superficie.
- Las biopelículas elaboradas de la razón KC: AM seleccionada, con y sin un pretratamiento de ultrasonido de potencia presentaron características particulares según cada tratamiento, siendo así, cualquiera de estas funcional según la necesidad para el tipo de alimento que se desee recubrir. Sin embargo en este caso el tratamiento más apropiado para el producto cárnico fue el tratamiento B.
- La determinación de las propiedades mecánicas (Elongación y Esfuerzo de tracción a la Ruptura) presento mejores resultados en las biopelículas donde la mezcla de KC: AM fue sometida a tratamiento de ultrasonido de potencia en comparación a las no tratadas, aumentando el Esfuerzo de tracción a la Ruptura desde 3.34 MPa hasta 8.36 MPa., mientras que la elongación aumento de 23.39 mm a 77.58 mm con tratamiento ultrasónico, es decir casi tres veces mayor al tratamiento control.

  Por otra parte, las propiedades ópticas (color triestímulo, opacidad) no presentaron diferencias significativas, sin embargo si hubo una ligera

disminución en *chroma (únicamente entre A y D si hay una diferencia significativa), hue* y opacidad con respecto al control, mostrando una mayor trasparencia y claridad en la biopelícula.

- La permeabilidad al vapor de agua de las películas elaboradas presento un aumento en la mayoría de los tratamientos con excepción de tratamiento C (KC sonicada) donde hubo una disminución en comparación con el tratamiento A (control), reduciendo su permeabilidad de 6.24 g/h*m*Pa a 5.58 g/h*m*Pa. Sin embargo, en el tratamiento D la permeabilidad aumento drásticamente hasta 7.44 g/h*m*Pa. Por otro lado, la solubilidad de las biopelículas siempre presento un alto porcentaje, en un rango de 86.67 % (control) - 95.42 % (biopelículas tratadas con USP) con excepción del tratamiento C (KC sonicada) con un porcentaje de 48.84, lo que nos indica que el USP le proporcionó una mayor resistencia en contacto con el agua.
- De acuerdo con las propiedades evaluadas y la funcionalidad que presentó cada una de las películas, la biopelícula B es la que presento mejores características texturales, además de exhibir una mayor similitud con la cinética de pérdida de peso de carne emplayada con el plástico comercial (LDPE), con una pérdida de peso menor a obtenida con este último, lo que la convierte en una alternativa promisoria para su aplicación como material de empaque de un producto cárnico fresco inyectado refrigerado.

Trabajo a futuro

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente proyecto, se visualizan las siguientes alternativas de investigación para desarrollar en proyectos posteriores o para complementar el presente trabajo.

- Realizar pruebas fisicoquímicas de caracterización de las películas elaboradas, que permitan elucidar cambios estructurales (por ejemplo, espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier acoplado a un análisis mutivariado; calorimetría diferencial de barrido) o funcionales

(pruebas reométricas en polímeros y mezclas de polímeros) atribuibles al tratamiento ultrasónico.

- Evaluar la evolución de la calidad microbiológica en el producto cárnico fresco inyectado durante su almacenamiento refrigerado a través de pruebas de determinación de microorganismos indicadores; posteriormente, incorporar agentes antimicrobianos en películas elaboradas con la misma mezcla de ingredientes para establecer si es posible alargar la vida útil del producto emplayado.
- Evaluar la capacidad de termosellado de las biopelículas elaboradas, con la finalidad de combinar técnicas de conservación y utilizarlas para procesos de empaque al vacío o con atmosferas modificadas como barreras adicionales.
- Aplicar este tipo de recubrimiento con otro sistema alimenticio diferente, en particular uno de naturaleza hidrofóbica para evaluar su efectividad como material de empaque.
- Se propone trabajar con la misma mezcla de materiales poliméricos (KC: AM) pero ahora empleando otras tecnologías emergentes como pretratamiento de los polímeros empleados como la alta presión para comparar posibles cambios en sus propiedades mecánicas y/o de barrera.
- Evaluar otro tipo de biopolímeros con diferentes propiedades de barrera (como proteínas o lípidos) con la finalidad de generar nuevas interacciones poliméricas y así obtener biopelículas con otras características tecno-funcionales deseables para otro tipo de producto.
- Añadir o sustituir la matriz polimérica (KC: AM) con otros biopolímeros más resistentes a la permeabilidad al vapor de agua (menos hidrófilos y más hidrofóbicos, p.e: lípidos), especialmente para la aplicación en cárnicos frescos y/o alimentos con alto contenido de agua con el objetivo de obtener una barrera más fuerte contra la PVA.

Capítulo 6. Referencias

Abdou, E. S., & Sorour, M. A. (2014). Preparation and characterization of starch/carrageenan edible films. *International Food Research Journal*, *21*(1), 189.

Aguilar, M. (2005). *Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate* (Tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional, Área de alimentos.

Alarcón, Y. (2003). *Evaluación del uso de carragenina en bebidas lacteas fermentadas* (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias.

Albores Alfaro, P. A. (2017). *Efecto de procesos asistidos con ultrasonido de potencia en leche bovina adicionada con bacterias ácido lácticas sobre el perfil fermentativo, tasa de crecimiento y componentes de la leche* (Tesis de maestría). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería Química.

Anchundia, K., Santacruz, S., & Coloma, J. (2016). Caracterización física de películas comestibles a base de cáscara de plátano (Musa Paradisiaca). *Revista chilena de nutrición*, *43*(4), 394-399.

Angiolini, A. (2013). Los hidrocoloides, aditivos de alta funcionalidad. Tecnifood. *La revista de la tecnología alimentaria,* 97-99.

Antonio, R., González, O., Hernández, M., Alberto, C., Pereira, P., & Valencia, M. (2016). Películas biodegradables a base de almidón: propiedades mecánicas, funcionales y biodegradación. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, *7*(1), 065-093.

Aracil, I. (2008). *Formación de contaminantes y estudio cinético en la pirolisis y combustión de plásticos (PE, PVC, PCP)* (Tesis doctoral). Universidad de Alicante, Departamento de Ingeniería Química.

Arifin,B.,Sugita,P.y Masyudi, DE. (2016). Chitosan and lauric acid addition to corn starch-film based effect:physical properties and antimicrobial activity study.*International Journal of Chemical Sciences, 14*(2), pp. 529-544.

Arrieta, Á. A., & Palencia, M. S. (2016). Estudio electroquímico de un biopolímero compuesto PPy/almidón de cassava. *Revista latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, *36*(1), 26-35.

Banerjee, R., Chen, H., & Wu, J. (1996). Milk protein-based edible film mechanical strength changes due to ultrasound process. *Journal of Food Science*, *61*(4), 824-828.

Becerra, S. (2001). *Bioenvases y películas comestibles de quitosan en tomate (Lycopersicon esculentum mil)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Bernal, L., & Barajas, E. M. (2006). Una nueva visión de la degradación del almidón. *Revista del Centro de Investigación. Universidad La Salle*, *7*(25), 77-90. Revista para quiarme 2

Bertuzzi, M. A., Armada, M., Gottifredi, J. C., Aparicio, A. R., & Jiménez, P. (2002). Estudio de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos. In *Congreso Regional de Ciencia y Tecnología NOA* (pp. 1-10).

Bertuzzi, M. A., Vidaurre, E. C., Armada, M., & Gottifredi, J. C. (2007). Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of food engineering*, *80*(3), 972-978.

Bojorges, H., Ríos-Corripio, M. A., Hernández-Cázares, A. S., Hidalgo-Contreras, J. V., & Contreras-Oliva, A. (2020). Effect of the application of an edible film with turmeric (Curcuma longa L.) on the oxidative stability of meat. *Food Science & Nutrition*, *8*(8), 4308-4319.

Bósquez, E. (2003). *Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (citrus latifolia tanaka)*(Tesis doctoral). Universidad Autónoma Metropolitana, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Bourtoom, T. (2008). Edible films and coatings: characteristics and properties. *International food research journal*, *15*(3), 237-248.

Caro-Gasca, V.H. 2018. *Termosonicación de leche entera bovina para elaboración de kéfir: efecto en características de fermentación y factores de calidad de producto terminado* (Tesis de Maestría). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México.

Cervera, M. F., Heinämäki, J., Krogars, K., Jörgensen, A. C., Karjalainen, M., Colarte, A. I., & Yliruusi, J. (2004). Solid-state and mechanical properties of aqueous chitosan-amylose starch films plasticized with polyols. *Aaps Pharmscitech*, *5*(1), 109.

Chaichi, M., Hashemi, M., Badii, F., & Mohammadi, A. (2017). Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. *Carbohydrate polymers*, 157, 167-175.

Cheng, W., Chen, J., Liu, D., Ye, X., & Ke, F. (2010). Impact of ultrasonic treatment on properties of starch film-forming dispersion and the resulting films. *Carbohydrate Polymers*, *81*(3), 707-711.

Chung, K. M., Moon, T. W., Kim, H., & Chun, J. K. (2002). Physicochemical properties of sonicated mung bean, potato, and rice starches. *Cereal chemistry*, *79*(5), 631-633.

Cruz, N. (2018). *Efecto de la ultrasonicación de carne de cerdo envasada al vacío refrigerada a 4 ° C sobre algunos parámetros físicos y microbiológicos* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

De Ancos, B., González-Peña, D., Colina-Coca, C., & Sánchez-Moreno, C. (2015). Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de iv y v gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, *16*(1), 8-17.

Del Valle, M. (2012). *Aplicación de recubrimientos comestibles para mantener la calidad de frutillas congeladas* (Tesis doctoral). Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ingeniería Química.

Delgado, J. O. (2012). Aplicación del Ultrasonido en la Industria de los Alimentos. *Publicaciones e Investigación*, *6*, 141-152.

Domínguez, M., & Jiménez, M. (2012). Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, *6*(2), 110-121.

Galietta, G., Harte, F., Molinari, D., Capdevielle, R., & Diano, W. (2005). Aumento de la vida útil poscosecha de tomate usando una película de proteína de suero de leche. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, *6*(2), 117-123.

García, M. P. M., Gómez-Guillén, M. C., López-Caballero, M. E., & Barbosa-Cánovas, G. V. (Eds.). (2016). *Edible films and coatings: fundamentals and applications*. Crc Press.

González, C.R.E., Morón A.L.B., y Taron D.A.A. (2016). Caracterización físico mecánica de biopelículas comestibles binarias a base de k – carragenato y gelana de alto acilo*. Vitae, 23*(1), pp. 185-189.

González, P.P. (2017). *Efecto de la concentración de glicerol sobre las propiedades reológicas de soluciones filmo-génicas de almidón de manzana para la producción de películas biodegradables* (Tesis de Licenciatura). Instituto Tecnológico Superior de la Sierra Norte de Puebla. Zacatlán, Pue. México.

Gounga, M. E., Xu, S. Y., & Wang, Z. (2007). Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering*, 83(4), 521-530.

Gul, O., Saricaoglu, F. T., Besir, A., Atalar, I., & Yazici, F. (2018). Effect of ultrasound treatment on the properties of nano-emulsion films obtained from hazelnut meal protein and clove essential oil. *Ultrasonics Sonochem*, *41*, 466-474.

Guzmán, L. E., Acevedo, D., Romero, L., & Estrada, J. (2015). Elaboración de una película comestible a base de colágeno incorporado con nisina como agente antimicrobiano. *Información tecnológica*, *26*(3), 17-24.

Hernández C.A.S., y Rios, C.M.A. (2019). Desarrollo de películas y recubrimientos comestibles aplicados a productos cárnicos. Recuperado el 4 de abril de 2019, de Colegio de Postgraduados Website: https://www.colpos.mx/wb/index.php/notas-informativas/desarrollo-de-peliculas-y-recubrimientos-comestibles-aplicados-a-productos-carnicos

Huber, K.C. & BeMiller, J.N. (2017). Carbohydrates. *En*: Damodaran, S. & Parkin, K. L., (Eds.). *Fennema's Food Chemistry. 5th Ed*. CRC Press. Boca Raton, FL.

Huc, D., Matignon, A., Barey, P., Desprairies, M., Mauduit, S., Sieffermann, J. M., & Michon, C. (2014). Interactions between modified starch and carrageenan during pasting. Food Hydrocolloids, 36, 355–361.

Jambrak, A. R., Herceg, Z., Šubarić, D., Babić, J., Brnčić, M., Brnčić, S. R., Gelo, J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers,* 79(1), 91–100

Jambrak, AR (2017). Propiedades físicas de los productos sonicados: una nueva era para nuevos ingredientes. En *Ultrasonido: avances en el procesamiento y la conservación de alimentos* (págs. 237-265). Prensa Académica.

Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2012). Effect of sodium caseinate on properties and ageing behaviour of corn starch-based films. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 265-271.

Kang, H. J., & Min, S. C. (2010). Potato peel-based biopolymer film development using high-pressure homogenization, irradiation, and ultrasound. *LWT-Food Science and Technology*, *43*(6), 903-909.

Karbowiak, T., Hervet, H., Léger, L., Champion, D., Debeaufort, F., & Voilley, A. (2006). Effect of plasticizers (water and glycerol) on the diffusion of a small molecule in iota-carrageenan biopolymer films for edible coating application. *Biomacromolecules*, *7*(6), 2011-2019.

Kaur, B., Ariffin, F., Bhat, R., & Karim, A. A. (2012). Progress in starch modification in the last decade. *Food hydrocolloids*, *26*(2), 398-404.

Khan, MI, Adrees, MN, Tariq, MR y Sohaib, M. (2013). Application of edible coating for improving meat quality: A review. *Pakistan Journal of Food Sciences*, *23* (2), 71-79.

Lafargue, D., Lourdin, D., & Doublier, J. L. (2007). Film-forming properties of a modified starch/κ-carrageenan mixture in relation to its rheological behaviour. *Carbohydrate Polymers*, *70*(1), 101-111.

Lascombes, C., Agoda-Tandjawa, G., Boulenguer, P., Le Garnec, C., Gilles, M., Mauduit, S., Barey, P., Langendorff, V. (2017). Starch-carrageenan interactions in aqueous media: Role of each polysaccharide chemical and macromolecular characteristics. Food Hydrocolloids, 66, 176–189.

Leiva, E.M.A. (2007). Conceptos de bioquímica básica [archivo PDF]. Recuperado de http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Conceptosdebioquimicabasica.pdf

Lin, D., & Zhao, Y. (2007). Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. Comprehensive reviews in food science and food safety, 6(3), 60-75.

Liu, P., Wang, R., Kang, X., Cui, B., & Yu, B. (2018). Effects of ultrasonic treatment on amylose-lipid complex formation and properties of sweet potato starch-based films. *Ultrasonics Sonochemistry*, *44*, 215-222.

López, L. H., Braña, D., & Hernández, I. (2013). Estimación de la vida de anaquel de la carne. *Libro Técnico Nª1. SAGARPA. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Querétaro-México*.

Mancilla, J. (2012). *Factibilidad técnica-económica de una planta de carragenina kappa I* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de ingeniería.

Marcuzzo, E., Peressini, D., Debeaufort, F., & Sensidoni, A. (2010). Effect of ultrasound treatment on properties of gluten-based film. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *11*(3), 451-457.

Márquez, Y. (2010). *Formulación y caracterización de recubrimientos comestibles a base de proteína de suero de leche y almidones modificados* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química.

Martínez, L. (2007). *Obtención y caracterización de almidones de malanga, arroz y maíz ceroso modificados por extrusión termoplástica para su uso como encapsulantes de aceite esencial de naranja* (Tesis doctoral). Universidad Veracruzana, Instituto de ciencias básicas.

Marzo, R.I. (2010). *Efecto del tipo y contenido de aceites esenciales sobre las propiedades mecánicas y barrera de películas comestibles basadas en zeína* (Tesis de pregrado). Universidad Pública de Navarra, Escuela técnica superior de ingenieros agrónomos.

Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, K. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro sur*, *42*(2), 57-66.

McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., & Krochta, J. M. (1993). Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of food science*, *58*(4), 899-903.

Meneguin, A. B., Cury, B. S. F., & Evangelista, R. C. (2014). Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery. *Carbohydrate polymers*, *99*, 140-149.

Miramont, S. (2012). R*ecubrimientos elaborados a partir de biopolímeros para el soporte de sustancias con actividad antimicrobiana: carvacrol y sorbatos* (Tesis de maestría). Escuela de Posgrado, Buenos Aires.

Miranda, S. P., Cárdenas, G., López, D., & Lara-Sagahon, A. V. (2003). Comportamiento de películas de quitosán compuesto en un modelo de almacenamiento de aguacate. *Revista de la Sociedad Química de México*, *47*(4), 331-336.

Montalvo, C., López-Malo, A., & Palou, E. (2012). Películas comestibles de proteína: características, propiedades y aplicaciones. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, *2*, 32-46.

Montes, F. M., Vázquez, J. P. P., & Rosas, H. R. (2018). *Bioquímica de Laguna y Piña*. Manual Moderno.

Morales, M. (2011). *Generalidades y aplicación de películas y recubrimientos comestibles en la cadena hortofrutícola* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, División de Ciencia Animal, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Nielsen, MW, Sternberg, C., Molin, S. y Regenberg, B. (2011). Pseudomonas aeruginosa and Saccharomyces cerevisiae Biofilm in Flow Cells. *Journal of Visualized Experiments,* (47), 1-5.

O’Sullivan, J. J., Park, M., Beevers, J., Greenwood, R. W., & Norton, I. T. (2016). Applications of ultrasound for the functional modification of proteins and nanoemulsion formation.

Olivas, J. A., Díaz-Tenorio, L. M., Munguía-Xóchihua, J., Molina-Barrios, R. M., & Hernández-Chávezi, J. F. (2017). Quality indicators in pork meat from different commercial center of Ciudad Obregón, Sonora (México). *Nacameh*, *11*(2), 50-57.

Olivera, D. F., Bambicha, R., Laporte, G., Cárdenas, F. C., & Mestorino, N. (2013). Kinetics of colour and texture changes of beef during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 50(4), 821-825.

Ordoñez Bolaños, D. Y., Zuñiga Camacho, D., Hoyos Concha, J. L., Mosquera Sánchez, S. A., & Mosquera Sánchez, L. P. (2014). Efecto de recubrimiento de almidón de yuca modificado y aceite de tomillo aplicado al pimiento (*Capsicum annuum*). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *5*(5), 795-805.

Perdomo, G. A. (2002). Plásticos y medio ambiente. *Revista Iberoamericana*, *3*, 1-13.

Pérez - Gago, MB, Serra, M., Alonso, M., Mateos, M. y Río, MD (2003). Effect of Solid Content and Lipid Content of Whey Protein Isolate-Beeswax Edible Coatings on Color Change of Fresh-cut Apples. *Journal of Food Science*, *68* (7), 2186-2191.

Pranoto, Y., Salokhe, V. M., & Rakshit, S. K. (2005). Physical and antibacte rial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food research international*, *38*(3), 267-272.

Ramos-García, M. D. L., Romero-Bastida, C., & Bautista-Baños, S. (2018). Almidón modificado: Propiedades y usos como recubrimientos comestibles para la conservación de frutas y hortalizas frescas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, *19*(1), 30-44.

Renata, C. B., Bozena, R., Salah, L., Piotr, U., & Janusz, M. R. (2005). Degradation of chitosan and starch by 360-kHz ultrasound. *Carbohydrate Polymers*, *60*(2), 175-184.

Reséndiz-Cruz, V., Ramírez-Bribiesca, E., & Guerrero-Legarreta, I. (2013). Empaque para la conservación de carne y productos cárnicos. *AGRO*.

Robertson, G. L. (2013). Food packaging: principles and practice. 3rd Ed. CRC Press. Boca Raton, FL.

Robles-Ozuna, L. E., & Ochoa-Martínez, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 13*(2), 109-122.

Rodríguez, E., & Sandoval, A. (2003). Hidrocoloides naturales de origen vegetal. Investigaciones recientes y aplicaciones en la industria de alimentos. *Tecnura*, *7*(13), 4-13.

Romero, E. A. R., Martínez, L. A. O., & Castro, J. M. (2016). Efecto del tratamiento con ultrasonido sobre las propiedades funcionales y estructurales de almidón procedente de diversas fuentes: una revisión. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, *18*(2), 16-23.

Sánchez Aldana, D., Contreras-Esquivel, JC, Nevárez-Moorillón, GV y Aguilar, CN (2015). Caracterización de películas comestibles a partir de extractos pécticos y aceite esencial de lima mexicana.

Santiago, M. (2015). *Elaboración y caracterización de películas biodegradables obtenidas con almidón nanoestructurado* (Tesis de maestría). Universidad Veracruzana, Instituto de ciencias básicas.

Sasmal, A., Sahoo, D., Nanda, R., Nayak, P., Nayak, P. L., Mishra, J. K., ... & Yoon, J. Y. (2009). Biodegradable nanocomposites from maleated polycaprolactone/soy protein isolate blend with organoclay: preparation, characterization, and properties. *Polymer composites*, *30*(6), 708-714.

Savé, P. (2011). *Elaboración de nano partículas de quitosano e incorporación en películas de quitosano-quínoa (chenopodium quinoa willd)* (Tesis de pregrado). Universidad de chile, Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas.

Shah, U., Naqash, F., Gani, A., & Masoodi, F. A. (2016). Art and science behind modified starch edible films and coatings: a review. *Comprehensive reviews in Food science and food safety*, *15*(3), 568-580.

Sifuentes-Nieves, I., Hernández-Hernández, E., Neira-Velázquez, G., Morales-Sánchez, E., Mendez-Montealvo, G., & Velázquez, G. (2019).

Hexamethyldisiloxane cold plasma treatment and amylose content determine the structural, barrier and mechanical properties of starch-based films. *International journal of biological macromolecules*, 124, 651-658.

Singh, R. y Heldman, D. (2001). Introduction to Food Engineering. San Diego, CA: Academic Press.

Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., & Jiménez-Martínez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, *21*(2), 30-42.

Solis, S. (2016). *Elaboración y caracterización de películas comestibles elaboradas con hidroxipropilmetilcelulosa (hpmc)*(Tesis de pregrado). Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química.

Soukoulis, C., Behboudi-Jobbehdar, S., Macnaughtan, W., Parmenter, C., & Fisk, I. D. (2017). Stability of Lactobacillus rhamnosus GG incorporated in edible films: Impact of anionic biopolymers and whey protein concentrate. *Food hydrocolloids*, *70*, 345-355.

Supardan, M. D., Annisa, Y., Arpi, N., Satriana, S., & Wan Mustapha, W. A. (2016). Cassava starch edible film incorporated with lemongrass oil: characteristics and application. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, *6*(2), 216-220.

Sutariya, S., Sunkesula, V., Kumar, R., & Shah, K. (2018). Emerging applications of ultrasonication and cavitation in dairy industry: a review. *Cogent Food & Agriculture*, *4*(1), 1549187.

Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H. y Masoudpour-Behabadi, M. (2016). Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers, 137* , 360-374.

Teixeiraa, J. A., & Vicentea, A. A. (2011). Rheological characterization of-carrageenan/galactomannan and xanthan/galactomannan gels: Comparison of galactomannans from non-traditional sources with conventional galactomannans. *Carbohydrate Polymers*, *83*, 392-399.

Thakur, R., Saberi, B., Pristijono, P., Golding, J., Stathopoulos, C., Scarlett, C. & Vuong, Q. (2016). Characterization of rice starch-ı-carrageenan biodegradable edible film. Effect of stearic acid on the film properties. International journal of biological macromolecules, 93, 952-960.

Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science and Technology, 14*(3), 71-78.

Tlahuiz, M. (2015). *Cambios en características sensoriales y funcionales de helado duro elaborado con mezcla termosonicada* (Tesis de Maestría). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México, Facultad de Ingeniería Química.

Tongdeesoontorn, W., Mauer, L. J., Wongruong, S., Sriburi, P., & Rachtanapun, P. (2011). Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. *Chemistry Central Journal*, *5*(1), 1-8.

Tosne, Z. L., Sanchez, S. A. M., & Castillo, H. S. V. (2014). Efecto de recubrimiento de almidón de yuca y cera de abejas sobre el chontaduro. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, *12*(2), 30-39.

Turhan, K. N., & Şahbaz, F. (2004). Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films. *Journal of Food Engineering*, *61*(3), 459-466.

Ustunol, Z. (2009). Edible films and coatings for meat and poultry. In *Edible films and coatings for food applications* (pp. 245-268). Springer, New York, NY.

Uttaro, B., Badoni, M., Zawadski, S., & Gill, C. O. (2011). Effects of the pressure, flow rate and delivered volume of brine on the distributions of brine and bacteria in brine-injected meat. Food control, 22(2), 180-185.

Valenzuela, G. C. (2016). *Efecto del ultrasonido de alta intensidad sobre las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de carne de bovino* (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de zootecnia y ecología.

Vásquez-Valle, M. (2019). Efecto del extracto etanólico de propóleos en una película de carragenina sobre la vida de anaquel de carne de vacuno. Revista Ciencia y Tecnologia, 15(2), 17-26.

Vázquez-Briones, M. D. C., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Efecto del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* sobre propiedades fisicoquímicas en películas de quitosano. *Scientia Agropecuaria*, *8*(4), 401-409.

Velázquez-Moreira, A., & Guerrero, J. (2014). Algunas investigaciones recientes en recubrimientos comestibles aplicados en alimentos. *Temas Selectos Ing. Alimentos.(México)*, *8*(2), 5-12.

Véronique, COMA (2008). Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Science*, *78* (1-2), 90-103.

Versino, F., Lopez, O. V., Garcia, M. A., & Zaritzky, N. E. (2016). Starch-based films and food coatings: An overview. *Starch-Stärke*, *68*(11-12), 1026-1037.

Vicentini, N. M., Dupuy, N., Leitzelman, M., Cereda, M. P., & Sobral, P. J. A. (2005). Prediction of cassava starch edible film properties by chemometric analysis of infrared spectra. *Spectroscopy Letters*, 38(6), 749-767.

Villada, H., Acosta, H., & Velasco, R. (2007). Biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables. *Temas Agrarios*, *12*(2), 5-19.

Viroben, G., Barbot, J., Mouloungui, Z., & Guéguen, J. (2000). Preparation and characterization of films from pea protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(4), 1064-1069.

Wang, R., Li, X., Liu, L., Chen, W., Bai, J., Ma, F.& Kang, W. (2020). Preparation and characterization of edible films composed of *Dioscorea opposita* Thunb. mucilage and starch. *Polymer Testing*, 90, 106708.

Wang, L. Z., Liu, L., Holmes, J., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. (2007). Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International journal of food science & technology*, *42*(9), 1128-1138.

Wu, Y., Rhim, J. W., Weller, C. L., Hamouz, F., Cuppett, S., & Schnepf, M. (2000). Moisture loss and lipid oxidation for precooked beef patties stored in edible coatings and films. *Journal of food science*, *65*(2), 300-304.

Yánez, A. (2016). *Evaluación de diferentes polímeros biodegradables de origen vegetal como recubrimientos comestibles en frutas para prolongar su*

conservación (Tesis de pregrado). Universidad técnica estatal de Quevedo, Facultad ciencias de la ingeniería.

Zamudio-Flores, P. B., Ochoa-Reyes, E., Ornelas-Paz, J. D. J., Tirado-Gallegos, J. M., Bello-Pérez, L. A., Rubio-Ríos, A., & Cárdenas-Felix, R. G. (2015). Caracterización fisicoquímica, mecánica y estructural de películas de almidones oxidados de avena y plátano adicionadas con betalaínas. *Agrociencia*, *49*(5), 483-498.

ANEXO 1. Calibración calorimétrica

La energía neta entregada por el sistema se calculó de acuerdo con una calibración calorimétrica con base a las temperaturas sondeadas como función del tiempo en los tratamientos de ultrasonido a los que fueron sometidas las dispersiones de Kappa carragenina y almidón modificado. A continuación, se muestran las gráficas de las temperaturas sondeadas en función del tiempo de las dispersiones tratadas.

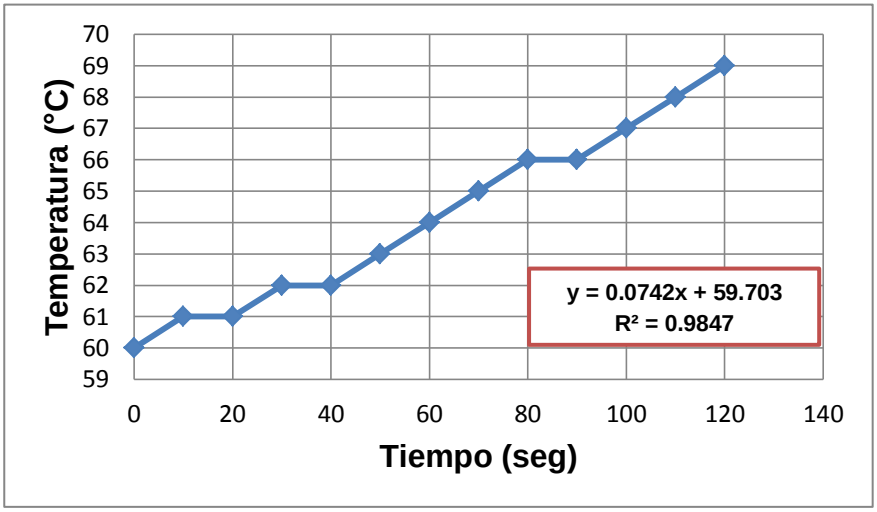


Ilustración 1. Gráfica de las temperaturas sondeadas en función del tiempo en kappa carragenina.

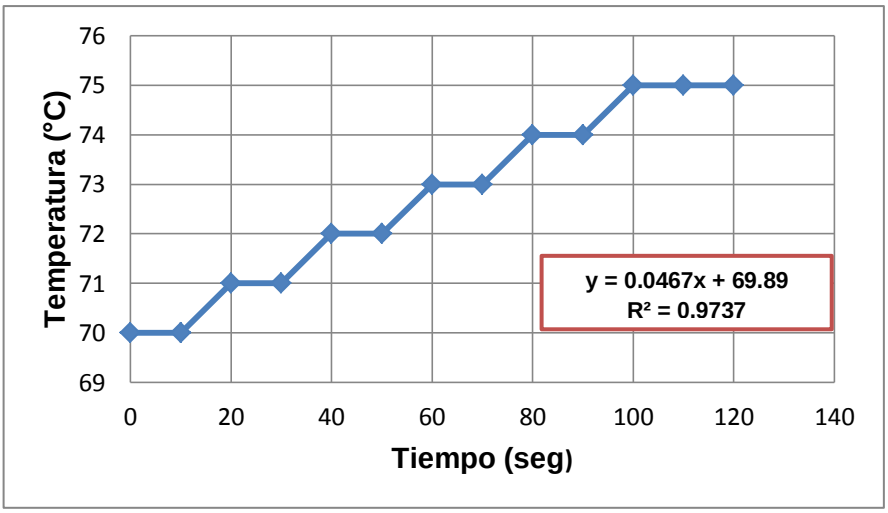


Ilustración 2. Grafica de las temperaturas sondeadas en función del tiempo en almidón modificado.

Para el cálculo de C_p de los diferentes tratamientos se utilizó la ecuación de Choi y Okos para agua y carbohidratos (Singh y Heldman, 2001).

$$Cp_{agua} = 4.1762-9.0864x10^{-5}(T) +5.4731x10^{-6}(T)^2 \quad \textbf{Ec. a}$$

$$Cp_{carbohidratos} = 1.5488+1.9625x10^{-3}(T)-5.9399x10^{-6}(T)^2 \quad \textbf{Ec. b}$$

Cálculos para la mezcla de kappa carragenina a T= 64.5 °C

$$Cp_{agua} = 4.1762-9.0864x10^{-5}(64.5) +5.4731x10^{-6}(64.5)^2 = 4.1931 \frac{KJ}{Kg\,°C}$$

$$Cp_{kc} = 1.5488+1.9625x10^{-3}(64.5)-5.9399x10^{-6}(64.5)^2 = 1.6506 \frac{KJ}{Kg\,°C}$$

$$Cp_{dispersion} = Cp_{agua} \times {}_{agua} + Cp_{kc} \times {}_{kc}$$

$$Cp_{dispersion} = (4.1931)\,(0.9925) + (1.6506)\,(0.0075) = \mathbf{4.1740\ \frac{KJ}{Kg\,°C}}$$

La estimación de poder acústico (W) se calculó por medio de la ecuación 1 (Tlahuiz, 2015).

$$P = m \cdot Cp \cdot \left(\frac{dT}{dt}\right)_{t=0} \quad \textbf{Ec. 1}$$

Dónde:

m = Masa del líquido sonicado (g).

C_p= Calor especifico a una presión constante $\left(\frac{KJ}{Kg°C}\right)$

$\left(\frac{dT}{dt}\right)_{t=0}$ =Pendiente en el origen de la curva.

Sustituyendo en la ecuación 1:

$$P= (0.176\ kg)\ (4.1740\ \frac{KJ}{Kg\,°C})\ (0.0742\frac{°C}{s}) = 0.054\ \frac{KJ}{s}$$

Convirtiéndolo a J:

$$\mathbf{P= 54\ \frac{J}{s} = 54\ W}$$

Cálculos para la mezcla de almidón modificado a T= 72.5 °C

$$Cp_{agua} = 4.1762-9.0864x10^{-5}(72.5) +5.4731x10^{-6}(72.5)^2 = 4.1983\ \frac{KJ}{Kg\,°C}$$

$$Cp_{AM} = 1.5488+1.9625x10^{-3}(72.5)-5.9399x10^{-6}(72.5)^2 = 1.6598\ \frac{KJ}{Kg\,°C}$$

$$Cp_{dispersion} = Cp_{agua}\ x_{agua} + Cp_{AM}\ x_{AM}$$

$$Cp_{dispersion} = (4.1983)\ (0.9925) + (1.6598)\ (0.0075) = \mathbf{4.1792\ \frac{KJ}{Kg\,°C}}$$

Sustituyendo en la ecuación 1:

$$P= (0.174\ kg)\ (4.1792\ \frac{KJ}{Kg\,°C})\ (0.0467\frac{°C}{s})) = 0.033\ \frac{KJ}{s}$$

Convirtiéndolo a J:

$$\mathbf{P= 33\ \frac{J}{s} = 33\ W}$$

ANEXO 2.

ANOVA DE ESFUERZO DE TRACCIÓN A LA RUPTURA DE LA BIOPELÍCULA

Modelo lineal general: RESISTENCIA ETR vs. TRATAMIENTO

```
Factor       Tipo  Niveles  Valores
TRATAMIENTO  fijo        4  A, B, C, D

Análisis de varianza para RESISTENCIA ETR, utilizando SC ajustada para
pruebas

Fuente       GL  SC Sec.  SC Ajust.  CM Ajust.      F      P
TRATAMIENTO   3   41.724     41.724     13.908  25.70  0.000
Error         8    4.329      4.329      0.541
Total        11   46.053


S = 0.735623   R-cuad. = 90.60%   R-cuad.(ajustado) = 87.07%


Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de
95.0%

TRATAMIENTO  N  Media  Agrupación
B            3    8.4  A
D            3    5.4    B
C            3    4.5    B C
A            3    3.3      C
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA DE ELONGACIÓN DE LA BIOPELÍOCULA

Modelo lineal general: EXTENSIBILIDAD vs. TRATAMIENTO

```
Factor       Tipo  Niveles  Valores
TRATAMIENTO  fijo        4  A, B, C, D

Análisis de varianza para EXTENSIBILIDAD, utilizando SC ajustada para
pruebas

Fuente       GL  SC Sec.  SC Ajust.  CM Ajust.       F      P
TRATAMIENTO   3   4557.5     4557.5     1519.2  139.16  0.000
Error         8     87.3       87.3       10.9
Total        11   4644.8

S = 3.30405   R-cuad. = 98.12%   R-cuad.(ajustado) = 97.41%

Observaciones inusuales de EXTENSIBILIDAD

                              EE de            Residuo
Obs  EXTENSIBILIDAD   Ajuste  ajuste  Residuo  estándar
  2         29.9000  23.3933  1.9076   6.5067      2.41 R
  3         17.6200  23.3933  1.9076  -5.7733     -2.14 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
D	3	77.6	A
C	3	43.9	B
B	3	42.9	B
A	3	23.4	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DE LA OPACIDAD DE LA BIOPELÍOCULA

Modelo lineal general: OPACIDAD vs. TRATAMIENTO

Factor	Tipo	Niveles	Valores
TRATAMIENTO	fijo	4	A, B, C, D

Análisis de varianza para OPACIDAD, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	2.5584	2.5584	0.8528	3.91	0.055
Error	8	1.7456	1.7456	0.2182		
Total	11	4.3041				

S = 0.467123 R-cuad. = 59.44% R-cuad.(ajustado) = 44.23%

Observaciones inusuales de OPACIDAD

Obs	OPACIDAD	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar	
2	2.04444	2.89259	0.26969	-0.84815	-2.22	R
3	3.78889	2.89259	0.26969	0.89630	2.35	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
A	3	2.9	A
C	3	2.8	A
B	3	2.0	A
D	3	1.8	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DEL ESPESOR DE LA BIOPELÍOCULA

Modelo lineal general: ESPESOR vs. TRATAMIENTO

```
Factor       Tipo  Niveles  Valores
TRATAMIENTO  fijo        4  A, B, C, D


Análisis de varianza para ESPESOR, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente       GL    SC Sec.  SC Ajust.  CM Ajust.     F      P
TRATAMIENTO   3  0.0002780  0.0002780  0.0000927  9.06  0.006
Error         8  0.0000818  0.0000818  0.0000102
Total        11  0.0003598


S = 0.00319734   R-cuad. = 77.27%   R-cuad.(ajustado) = 68.74%


Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de
95.0%

TRATAMIENTO  N  Media  Agrupación
D            3    0.0  A
B            3    0.0  A B
C            3    0.0    B C
A            3    0.0      C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.
```

ANOVA DE PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA DE LA BIOPELÍOCULA

Modelo lineal general: PVA AGUA vs. TRATAMIENTO

```
Factor       Tipo  Niveles  Valores
TRATAMIENTO  fijo        4  A, B, C, D

Análisis de varianza para PVA AGUA, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente       GL  SC Sec.  SC Ajust.  CM Ajust.      F      P
TRATAMIENTO   3   5.4252     5.4252     1.8084  30.33  0.000
Error         8   0.4771     0.4771     0.0596
Total        11   5.9023

S = 0.244199   R-cuad. = 91.92%   R-cuad.(ajustado) = 88.89%
Observaciones inusuales de PVA AGUA

                          EE de            Residuo
Obs  PVA AGUA   Ajuste   ajuste  Residuo  estándar
  4   6.97000  6.56667  0.14099  0.40333      2.02 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.
```

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
D	3	7.4	A
B	3	6.6	B
A	3	6.2	B
C	3	5.6	C

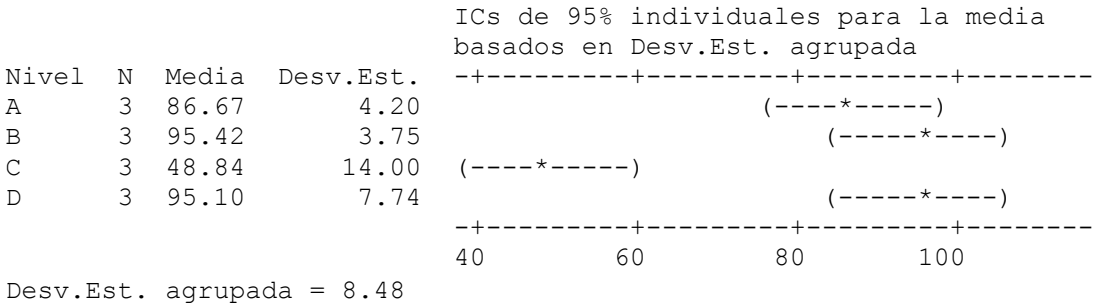
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DE SOLUBILIDAD DE LAS BIOPELÍCULAS

ANOVA unidireccional: SOLUBILIDAD vs. TRATAMIENTO

Fuente	GL	SC	CM	F	P
TRATAMIENTO	3	4415.7	1471.9	20.47	0.000
Error	8	575.3	71.9		
Total	11	4991.0			

S = 8.480 R-cuad. = 88.47% R-cuad.(ajustado) = 84.15%



Desv.Est. agrupada = 8.48

Agrupar información utilizando el método de Tukey

TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
B	3	95.420	A
D	3	95.100	A
A	3	86.670	A
C	3	48.843	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de TRATAMIENTO

Nivel de confianza individual = 98.74%

TRATAMIENTO = A restado de:

TRATAMIENTO	Inferior	Centro	Superior
B	-13.429	8.750	30.929
C	-60.005	-37.827	-15.648
D	-13.749	8.430	30.609

```
TRATAMIENTO    +---------+---------+---------+---------
B                              (------*-----)
C                  (-----*------)
D                              (-----*------)
               +---------+---------+---------+---------
             -70       -35         0        35
```

TRATAMIENTO = B restado de:

TRATAMIENTO	Inferior	Centro	Superior
C	-68.755	-46.577	-24.398
D	-22.499	-0.320	21.859

```
TRATAMIENTO    +---------+---------+---------+---------
C               (------*-----)
D                           (-----*-----)
               +---------+---------+---------+---------
             -70       -35         0        35
```

TRATAMIENTO = C restado de:

TRATAMIENTO	Inferior	Centro	Superior
D	24.078	46.257	68.435

```
TRATAMIENTO    +---------+---------+---------+---------
D                                        (-----*------)
               +---------+---------+---------+---------
             -70       -35         0        35
```

ANOVA DE CHROMA DE LA BIOPELÍOCULA

Modelo lineal general: CROMA vs. TRATAMIENTO

Factor	Tipo	Niveles	Valores
TRATAMIENTO	fijo	4	A, B, C, D

Análisis de varianza para CROMA, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	0.51111	0.51111	0.17037	7.75	0.009
Error	8	0.17579	0.17579	0.02197		
Total	11	0.68689				

S = 0.148233 R-cuad. = 74.41% R-cuad.(ajustado) = 64.81%

Observaciones inusuales de CROMA

Obs	CROMA	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar	
1	1.08240	1.39595	0.08558	-0.31354	-2.59	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
A	3	1.4	A
B	3	1.2	A B
C	3	1.2	A B
D	3	0.8	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DE HUE DE LA BIOPELÍOCULA

Modelo lineal general: HUE vs. TRATAMIENTO

Factor	Tipo	Niveles	Valores
TRATAMIENTO	fijo	4	A, B, C, D

Análisis de varianza para HUE, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	1.3447	1.3447	0.4482	0.57	0.651
Error	8	6.3037	6.3037	0.7880		
Total	11	7.6484				

S = 0.887675 R-cuad. = 17.58% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

Observaciones inusuales de HUE

Obs	HUE	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar	
6	-1.55440	0.44161	0.51250	-1.99601	-2.75	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

TRATAMIENTO	N	Media	Agrupación
A	3	1.3	A
C	3	1.2	A
D	3	1.0	A
B	3	0.4	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DE DIFERENCIA NETA DE COLOR EN BIOPELICULA

ANOVA unidireccional: ΔE vs. Película

```
Fuente    GL     SC    CM     F      P
Película   2   1.26  0.63  0.23  0.804
Error      6  16.63  2.77
Total      8  17.89

S = 1.665   R-cuad. = 7.02%   R-cuad.(ajustado) = 0.00%


                           ICs de 95% individuales para la media
                           basados en Desv.Est. agrupada
Nivel  N  Media  Desv.Est.  ----+---------+---------+---------+-----
B      3  2.724      1.109        (---------------*---------------)
C      3  2.287      2.519      (---------------*---------------)
D      3  1.810      0.860   (---------------*---------------)
                           ----+---------+---------+---------+-----
                             0.0       1.5       3.0       4.5
Desv.Est. agrupada = 1.665


Agrupar información utilizando el método de Tukey

Película  N  Media  Agrupación
B         3  2.724  A
C         3  2.287  A
D         3  1.810  A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Película

Nivel de confianza individual = 97.80%

Película = B restado de:

Película  Inferior  Centro  Superior
C           -4.609  -0.438     3.734
D           -5.086  -0.914     3.257

Película     +---------+---------+---------+---------
C              (---------------*----------------)
D            (---------------*----------------)
             +---------+---------+---------+---------
          -5.0      -2.5       0.0       2.5


Película = C restado de:

Película  Inferior  Centro  Superior
D           -4.648  -0.477     3.695
```

```
Película     +---------+---------+---------+---------
D              (-----------------*-----------------)
             +---------+---------+---------+---------
           -5.0      -2.5       0.0       2.5
```

Estadísticas descriptivas: ΔE

Variable	Película	N	N*	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.	Mínimo	Q1	
ΔE	B	3	0	2.724	0.640	1.109	1.627	1.627	2.702
	C	3	0	2.29	1.45	2.52	0.66	0.66	1.01
	D	3	0	1.810	0.497	0.860	1.116	1.116	1.541

Variable	Película	Q3	Máximo
ΔE	B	3.845	3.845
	C	5.19	5.19
	D	2.772	2.772

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Película	Tiempo	N	Media	Agrupación
B	2	2	180.1	A
D	2	2	180.1	A
P	1	2	180.0	A
D	1	2	180.0	A
C	1	2	180.0	A
B	1	2	180.0	A
A	1	2	180.0	A
C	4	2	180.0	A
B	4	2	179.7	A B
P	2	2	179.4	A B C
C	8	2	179.3	A B C D
P	4	2	178.6	B C D E
D	6	2	178.3	C D E F
B	6	2	178.1	D E F
C	2	2	178.0	E F
A	4	2	177.9	E F
C	6	2	177.7	E F
P	6	2	177.7	E F
A	2	2	177.7	E F
B	8	2	177.6	E F
D	4	2	177.3	F
P	8	2	176.0	G
A	6	2	175.9	G
D	8	2	175.0	G H
A	8	2	174.1	H

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DE LUMINOSIDAD DE CARNE

Modelo lineal general: luminosidad vs. Pelicula, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Pelicula	fijo	5	A, B, C, D, P
Tiempo	fijo	4	2, 4, 6, 8

Análisis de varianza para luminosidad, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Pelicula	4	204.70	204.70	51.17	4.09	0.014
Tiempo	3	162.56	162.56	54.19	4.34	0.017
Pelicula*Tiempo	12	142.98	142.98	11.92	0.95	0.519
Error	20	249.98	249.98	12.50		
Total	39	760.22				

S = 3.53537 R-cuad. = 67.12% R-cuad.(ajustado) = 35.88%

Observaciones inusuales de luminosidad

Obs	luminosidad	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar
33	37.3467	45.8617	2.4999	-8.5150	-3.41 R
34	54.3767	45.8617	2.4999	8.5150	3.41 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Pelicula	N	Media	Agrupación
B	8	47.4	A
A	8	45.0	A B
C	8	43.7	A B
P	8	42.7	A B
D	8	40.6	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
6	10	45.9	A
2	10	45.8	A
8	10	42.6	A B
4	10	41.2	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Pelicula	Tiempo	N	Media	Agrupación
B	6	2	49.0	A
A	6	2	48.8	A
B	4	2	48.5	A
B	2	2	47.7	A
C	6	2	47.3	A
A	2	2	46.8	A
C	2	2	46.8	A
P	2	2	45.9	A
B	8	2	44.3	A
C	8	2	44.0	A
P	8	2	43.4	A
P	6	2	43.3	A
A	4	2	42.6	A
D	2	2	41.9	A
A	8	2	41.8	A
D	6	2	40.8	A
D	4	2	40.1	A
D	8	2	39.7	A
P	4	2	38.3	A
C	4	2	36.6	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DE HUE DE LA CARNE

Modelo lineal general: Hue, Chroma vs. Película, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Película	aleatorio	5	A, B, C, D, P
Tiempo	aleatorio	4	2, 4, 6, 8

Análisis de varianza para Hue, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Película	4	0.36996	0.36996	0.09249	10.02	0.001
Película*Tiempo	12	0.11082	0.11081	0.00923	0.75	0.692
Tiempo	3	0.15361	0.15361	0.05120	5.54	0.013
Error	20	0.24680	0.24680	0.01234		
Total	39	0.88119				

S = 0.111086 R-cuad. = 71.99% R-cuad.(ajustado) = 45.39%

Observaciones inusuales de Hue

Obs	Hue	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar	
9	0.93000	1.13500	0.07855	-0.20500	-2.61	R
10	1.34000	1.13500	0.07855	0.20500	2.61	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Análisis de varianza para Chroma, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Película	4	42.884	42.884	10.721	8.97	0.001
Película*Tiempo	12	14.347	14.347	1.196	0.41	0.944
Tiempo	3	10.529	10.529	3.510	2.94	0.077
Error	20	58.788	58.788	2.939		
Total	39	126.547				

S = 1.71446 R-cuad. = 53.54% R-cuad.(ajustado) = 9.41%

Observaciones inusuales de Chroma

Obs	Chroma	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar	
5	11.4300	13.9400	1.2123	-2.5100	-2.07	R
6	16.4500	13.9400	1.2123	2.5100	2.07	R
25	13.6000	16.0750	1.2123	-2.4750	-2.04	R
26	18.5500	16.0750	1.2123	2.4750	2.04	R
37	18.2400	15.2100	1.2123	3.0300	2.50	R
38	12.1800	15.2100	1.2123	-3.0300	-2.50	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Modelo lineal general: Hue vs. Película, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Película	fijo	5	A, B, C, D, P
Tiempo	fijo	4	2, 4, 6, 8

Análisis de varianza para Hue, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Película	4	0.36996	0.36996	0.09249	7.50	0.001
Tiempo	3	0.15361	0.15361	0.05120	4.15	0.019
Película*Tiempo	12	0.11082	0.11082	0.00923	0.75	0.692
Error	20	0.24680	0.24680	0.01234		
Total	39	0.88119				

S = 0.111086 R-cuad. = 71.99% R-cuad.(ajustado) = 45.39%

Observaciones inusuales de Hue

Obs	Hue	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar	
9	0.93000	1.13500	0.07855	-0.20500	-2.61	R
10	1.34000	1.13500	0.07855	0.20500	2.61	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Película	N	Media	Agrupación
B	8	1.3	A
A	8	1.1	B
P	8	1.1	B
C	8	1.1	B
D	8	1.0	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
6	10	1.2	A
2	10	1.2	A B
8	10	1.1	A B
4	10	1.0	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Película	Tiempo	N	Media	Agrupación
B	6	2	1.4	A
B	4	2	1.3	A B
B	2	2	1.3	A B
A	6	2	1.3	A B
B	8	2	1.2	A B
A	2	2	1.2	A B
C	2	2	1.2	A B
P	6	2	1.2	A B
C	6	2	1.2	A B
P	2	2	1.1	A B
P	8	2	1.1	A B
C	8	2	1.1	A B
D	8	2	1.1	A B
A	8	2	1.0	A B
A	4	2	1.0	A B
D	6	2	1.0	A B
D	2	2	1.0	A B
P	4	2	1.0	A B
D	4	2	0.9	B
C	4	2	0.9	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DE CHROMA DE LA CARNE

Modelo lineal general: Chroma vs. Película, Tiempo

Factor	Tipo	Niveles	Valores
Película	fijo	5	A, B, C, D, P
Tiempo	fijo	4	2, 4, 6, 8

Análisis de varianza para Chroma, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
Película	4	42.884	42.884	10.721	3.65	0.022
Tiempo	3	10.529	10.529	3.510	1.19	0.337
Película*Tiempo	12	14.347	14.347	1.196	0.41	0.944
Error	20	58.788	58.788	2.939		
Total	39	126.547				

S = 1.71446 R-cuad. = 53.54% R-cuad.(ajustado) = 9.41%

Observaciones inusuales de Chroma

Obs	Chroma	Ajuste	EE de ajuste	Residuo	Residuo estándar	
5	11.4300	13.9400	1.2123	-2.5100	-2.07	R
6	16.4500	13.9400	1.2123	2.5100	2.07	R
25	13.6000	16.0750	1.2123	-2.4750	-2.04	R
26	18.5500	16.0750	1.2123	2.4750	2.04	R
37	18.2400	15.2100	1.2123	3.0300	2.50	R
38	12.1800	15.2100	1.2123	-3.0300	-2.50	R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Película	N	Media	Agrupación
C	8	15.5	A
D	8	15.1	A
P	8	14.6	A B
A	8	14.3	A B
B	8	12.5	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Tiempo	N	Media	Agrupación
4	10	15.1	A
8	10	14.7	A
6	10	14.1	A
2	10	13.8	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95.0%

Película	Tiempo	N	Media	Agrupación
D	4	2	16.6	A
C	8	2	16.1	A
C	6	2	16.1	A
C	4	2	16.0	A
P	4	2	15.4	A
A	4	2	15.3	A
D	8	2	15.2	A
D	6	2	15.1	A
P	8	2	14.7	A
A	8	2	14.6	A
P	2	2	14.3	A
A	2	2	14.0	A
C	2	2	13.9	A
P	6	2	13.9	A
D	2	2	13.6	A
A	6	2	13.5	A
B	2	2	13.2	A
B	8	2	13.1	A
B	4	2	12.2	A
B	6	2	11.6	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANOVA DE PESO DE LA CARNE

Modelo lineal general: Peso vs. Película, Tiempo

```
Factor    Tipo  Niveles  Valores
Película  fijo        5  A, B, C, D, P
Tiempo    fijo        5  1, 2, 4, 6, 8


Análisis de varianza para Peso, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente           GL   SC Sec.  SC Ajust.  CM Ajust.       F      P
Película          4   25.5756    25.5756     6.3939   72.40  0.000
Tiempo            4   77.5111    77.5111    19.3778  219.43  0.000
Película*Tiempo  16   36.9546    36.9546     2.3097   26.15  0.000
Error            25    2.2078     2.2078     0.0883
Total            49  142.2491

S = 0.297170   R-cuad. = 98.45%   R-cuad.(ajustado) = 96.96%


Observaciones inusuales de Peso

                          EE de            Residuo
Obs     Peso   Ajuste  ajuste  Residuo  estándar
 23  178.600  178.020   0.210    0.580      2.76 R
 24  177.440  178.020   0.210   -0.580     -2.76 R
 25  180.500  179.985   0.210    0.515      2.45 R
 26  179.470  179.985   0.210   -0.515     -2.45 R

R denota una observación con un residuo estandarizado grande.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de
95.0%

Película   N  Media  Agrupación
B         10  179.1  A
C         10  179.0  A
P         10  178.3    B
D         10  178.1    B
A         10  177.1      C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.


Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de
95.0%

Tiempo   N  Media  Agrupación
1       10  180.0  A
2       10  179.1    B
4       10  178.7    B
6       10  177.6      C
8       10  176.4        D
```

ANOVA DE % DE PERDIDA DE PESO DE LA CARNE

ANOVA unidireccional: % vs. PLCL

```
Fuente  GL       SC      CM      F      P
PLCL     4  11.3920  2.8480  88.75  0.000
Error    5   0.1604  0.0321
Total    9  11.5525

S = 0.1791   R-cuad. = 98.61%   R-cuad.(ajustado) = 97.50%

                            ICs de 95% individuales para la media
                            basados en Desv.Est. agrupada
Nivel  N   Media  Desv.Est.  ---------+---------+---------+---------+
A      2  3.3711     0.0420                              (---*--)
B      2  1.3744     0.1938           (---*--)
C      2  0.3881     0.3207  (--*--)
D      2  2.8837     0.1289                        (--*--)
P      2  2.2437     0.0411                    (--*---)
                            ---------+---------+---------+---------+
                                   1.0       2.0       3.0       4.0

Desv.Est. agrupada = 0.1791


Agrupar información utilizando el método de Tukey

PLCL  N   Media  Agrupación
A     2  3.3711  A
D     2  2.8837  A B
P     2  2.2437    B
B     2  1.3744      C
C     2  0.3881        D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.


Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de PLCL

Nivel de confianza individual = 98.98%


PLCL = A restado de:

PLCL  Inferior   Centro  Superior  ---------+---------+---------+-------+
B      -2.7149  -1.9967   -1.2785       (---*---)
C      -3.7011  -2.9829   -2.2647  (---*---)
D      -1.2056  -0.4874    0.2308              (---*--)
P      -1.8456  -1.1274   -0.4092           (--*---)
                                  ---------+---------+---------+-------
                                        -2.0       0.0       2.0     4.0

PLCL = B restado de:
```

```
PLCL  Inferior   Centro  Superior  ---------+---------+---------+-------+
C      -1.7045  -0.9862   -0.2680            (---*---)
D       0.7911   1.5093    2.2275                      (---*--)
P       0.1511   0.8693    1.5875                    (--*---)
                                   ---------+---------+---------+-------+
                                         -2.0       0.0       2.0     4.0
```

PLCL = C restado de:

```
PLCL  Inferior  Centro  Superior  ---------+---------+---------+--------+
D       1.7774  2.4956    3.2138                             (--*---)
P       1.1374  1.8556    2.5738                           (--*---)
                                  ---------+---------+---------+--------+
                                        -2.0       0.0       2.0      4.0
```

PLCL = D restado de:

```
PLCL  Inferior   Centro  Superior  ---------+---------+---------+-------+
P      -1.3582  -0.6400    0.0782             (---*--)
                                   ---------+---------+---------+-------+
                                          -2.0       0.0       2.0    4.0
```

ANEXO 3. Datos promedios ± desviación estándar de pérdida de peso en carne emplayada con películas biodegradables ultrasonicadas vs. control

Peso (g)					
Película	**Tiempos**				
	1	**2**	**4**	**6**	**8**
A	180 ± 0.00	177.66 ± 0.02	177.85 ± 0.07	175.94 ± 0.09	174.13 ± 0.07
B	180 ± 0.00	180.07 ± 0.03	179.69 ± 0.06	178.14 ± 0.20	177.56 ± 0.34
C	180 ± 0.00	178.02 ± 0.82	179.99 ± 0.73	177.74 ± 0.51	179.31 ± 0.57
D	180 ± 0.00	180.07 ± 0.05	177.32 ± 0.12	178.34 ± 0.12	174.96 ± 0.22
P	180 ± 0.00	179.44 ± 0.14	178.60 ± 0.14	177.66 ± 0.34	176.05 ± 0.07

A: Tratamiento control; B: Tratamiento con AM sonicado; C: Tratamiento con KC sonicada; D: Tratamiento con AM Y KC sonicados y P: Plástico