



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**EVALUACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES ADICIONADAS
CON MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS (BAL)**

**TESINA PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALIDAD EN TECNOLOGÍA E INOCUIDAD DE LOS
ALIMENTOS**

PRESENTA

Q.F.B. JULIO CÉSAR PÉREZ PÉREZ

**D.C. RAÚL ÁVILA SOSA SÁNCHEZ
DIRECTOR DE TESIS**

**D.C. ADDI RHODE NAVARRO CRUZ
ASESOR DE TESIS**

PUEBLA PUE., AGOSTO 2017

ÍNDICE

Índice general.....	i
Índice de tablas.....	iii
Índice de figuras.....	iv
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES.....	1
1.1 Películas comestibles.....	1
1.2 Componentes de las películas comestibles.....	2
1.3 Ventajas de las películas comestibles.....	4
1.4 Requisitos de las películas comestibles.....	4
1.5 Incorporación de BAL.....	5
2. JUSTIFICACIÓN.....	7
3. OBJETIVOS.....	8
3.1 Objetivo general.....	8
3.2 Objetivos específicos.....	8
4. DIAGRAMA DE TRABAJO.....	9
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
6. METODOLOGÍA.....	12
6.1 Evaluación de la viabilidad de las BAL.....	12

6.2 Adición de BAL a la solución formadora de películas.....	13
6.3 Formación de las películas comestibles adicionadas con BAL.....	13
6.4 Evaluación de la supervivencia de BAL en las películas.....	14
6.5 Análisis físico.....	14
6.6 Análisis estructural (Microscopía de fuerza atómica).....	15
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
7.1 Formación y supervivencia de las BAL adicionadas a películas comestibles de almidón.....	16
7.2 Espesor.....	16
7.3 Firmeza y color.....	18
7.4 Análisis estructural.....	20
8. CONCLUSIONES.....	22
9. SUGERENCIAS.....	23
10. BIBLIOGRAFÍA.....	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Equipos Utilizados	10
Tabla 2.	Métodos y Referencias	11
Tabla 3.	Evaluación de firmeza de películas comestibles de almidón adicionadas con BAL	18
Tabla 4.	Evaluación de color de películas comestibles de almidón adicionadas con BAL	18

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Recuperación de BAL	12
Figura 2.	Adición de BAL	12
Figura 3.	Formación de Película	13
Figura 4.	Conteo de UFC de BAL	13
Figura 5.	Colorímetro Digital	14
Figura 6.	Micrómetro	15
Figura 7.	Microscopio de Fuerza Atómica	15
Figura 8.	Supervivencia de BAL expresado en Log de UFC BAL/ g de película durante 30 días	15
Figura 9.	Diferencias entre el espesor de la película control y la película adicionada con BAL	16
Figura 10.	Análisis estructural mediante microscopía de fuerza atómica de películas comestibles de almidón adicionadas con BAL	19

AGRADECIMIENTOS

A la BUAP Facultad de Ciencia Químicas por el apoyo para el estudio de esta especialidad.

A la doctora Sol y los maestros Yuya y Martin, por la revisión de mi tesina.

A la Dra. Paola por proporcionarme la cepa utilizada.

A Mimi por apoyarme con las imágenes del microscopio de fuerza atómica

Y principalmente a los doctores Addi y Raúl, por ser parte importante de mi formación en la especialidad y además apoyarme a realizar mi proyecto.

RESUMEN

La alta capacidad de las películas comestibles como soporte de una gran variedad de compuestos para conservar o incrementar ciertas cualidades de los alimentos, puede ser aplicada a las películas comestibles como soporte de microorganismos probióticos. Las Bacilos ácido lácticos (BAL) pueden ser considerados probióticos, los cuales al ser consumidos vivos tienen efectos benéficos para el organismo. El objetivo de este proyecto fue lograr la formación de la película comestibles adicionada con BAL y conservar la viabilidad de los BAL adicionados en las películas comestibles. El análisis se realizó por 30 días evaluando películas almacenadas a temperatura ambiente y a temperatura de refrigeración, al ser evaluada la supervivencia de los BAL, los resultados arrojaron que los mejores resultados de supervivencia fueron obtenidos en las películas almacenadas a temperatura de refrigeración. El análisis estructural demostró la presencia de los BAL en la película y con la caracterización física se obtuvo, que no se modifican las características propias de la película comestible. Se sugiere realizar análisis sensorial de la película, evaluar la supervivencia a diferentes temperaturas y por un rango de tiempo más prolongado.

1. ANTECEDENTES

1.1 Películas comestibles

La utilización de películas comestibles sobre productos alimenticios no es un tratamiento innovador ya que se realiza desde hace años, con el objetivo de aumentar el tiempo de almacenamiento y mejorar el aspecto de muchos alimentos. Como ejemplo se puede mencionar el empleo de cera para retrasar la deshidratación de los cítricos que se realiza en China desde los siglos XII y XIII (Muller y Riei, 1990).

La diferencia entre una película y un recubrimiento comestible radica en el método de elaboración y formación. Los recubrimientos se forman directamente sobre la superficie de un alimento, mientras que la película se elabora de forma separada y en algunas ocasiones tiene una función de película de soporte. Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir entonces como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento, mientras que una película comestible (PC) es una matriz preformada, delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento del alimento o estará ubicada entre los componentes del mismo. Dichas soluciones formadoras de PC o RC pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos. Al igual que los RC, las PC poseen propiedades mecánicas que generan un efecto barrera frente al transporte de gases, y pueden adquirir diversas propiedades funcionales dependiendo de las características de las sustancias encapsuladas y formadoras de dichas matrices (Quintero y col., 2010).

Los recubrimientos se han desarrollado con el fin de extender la vida útil de los productos alimenticios, así como para usarse como soporte de (agentes antimicrobianos, antioxidantes o nutrientes), para enlentecer la migración de humedad y lípidos o el transporte de gases y solutos. Éstos, deben poseer propiedades mecánicas que garanticen la adecuada adhesividad a los alimentos y manipuleo de

ellos sin deterioro de las mismas, además, deben ser totalmente neutras con respecto al color, tacto y olor del alimento (Famá y col., 2004)

Las películas comestibles formadas como recubrimientos o preformadas como empaque de un alimento, amplían las posibilidades de mejorar la calidad de los alimentos heterogéneos mediante el control de la migración de humedad, grasas, aromas, sabores y colores entre los componentes de un alimento o hacia el exterior del mismo, teniendo el potencial de mantener la calidad de un alimento después de abierto el empaque. En tiempos recientes se han incrementado las aplicaciones de películas comestibles ofreciendo ventajas como biocompatibilidad, apariencia estética, propiedades de barrera y de funcionalidad, como la incorporación de agentes antioxidantes, antimicrobianos u otros aditivos funcionales (Avila–Sosa y López–Malo, 2008).

1.2 Componentes de las películas comestibles

Las películas y recubrimientos comestibles están formados por tres componentes principales: polímero, solvente y plastificante. Se considera al polímero como el componente mayoritario de una película comestible. Las películas y recubrimientos comestibles se preparan a partir de polímeros como hidrocoloides o lípidos y se hacen películas compuestas cuando éstos se mezclan. En las películas y recubrimientos elaborados a partir de hidrocoloides se utiliza una gran gama de proteínas y polisacáridos como almidón, alginatos, derivados de celulosa, quitosano y derivados del agar. Cuando se utilizan lípidos, son de uso común las ceras, acilgliceroles, y ácidos grasos libres. Las películas y recubrimientos compuestos son una mezcla de hidrocoloides y lípidos, junto con otros ingredientes que pueden variar en sus proporciones; la concentración de cada componente determina las propiedades mecánicas y de barrera de las películas y recubrimientos (Donhowe y Fennema, 1994; Cha y Chinnan, 2004). En cuanto al solvente, es necesario el uso de un compuesto que sea adecuado e inocuo para alimentos. Generalmente se limita al uso de agua con una gran variedad de valores de pH para poder solubilizar al polímero; en raras ocasiones se utilizan soluciones acuosas de etanol (Banker, 1966; Guilbert, 1996).

El plastificante, a pesar de que se encuentra en menor proporción en la formulación de películas y recubrimientos comestibles, es un componente muy importante para poder formarlas. El uso de plastificantes tiene como objetivo principal emulsificar fases que no son miscibles, además de impartir características particulares a la película como flexibilidad y cierta resistencia. Los plastificantes suavizan la rigidez de la estructura de la película, incrementando la movilidad de las cadenas poliméricas y reduciendo las fuerzas intermoleculares, con esto se mejoran las propiedades mecánicas como la elongación. Es importante que el plastificante sea miscible en el polímero, generalmente se utilizan compuestos con bajo peso molecular y alto punto de fusión. El sorbitol, el glicerol, el manitol, la sacarosa y el polietilenglicol son los plastificantes de grado alimenticio más utilizados; se puede utilizar al agua como plastificante, pero afecta de manera importante el contenido de humedad del recubrimiento. En las películas fabricadas con mezclas de lípidos e hidrocoloides, los plastificantes reducen el brillo de la película interfiriendo con los enlaces inter e intra moleculares por puentes de hidrógeno que se forman entre la fase lipídica y el hidrocoloide, lo cual produce un decremento en la fuerza de tensión y la temperatura de transición vítrea (Banker, 1966; Donhowe y Fennema, 1994; Guilbert y col., 2002; Cagri y col., 2004; Srinivasa y Tharanathan, 2007).

Películas comestibles a base de celulosa, tales como hidroxipropil metil celulosa (HPMC), están ampliamente descritos en la literatura. Películas de HPMC tienden a tener una fuerza moderada y son resistentes a los aceites y grasas, flexible, transparente, inodoro e insípido. Sin embargo, la sensibilidad al agua de las películas de HPMC, que produce una pérdida de propiedades de barrera o incluso una solubilización en alimentos con alta actividad de agua, evita sus aplicaciones industriales. Algunos intentos han sido hechos para incorporar sustancias hidrófobas en matrices de HPMC para formar las películas compuestas. Un estudio de lípidos y de la cantidad de HPMC-lípido, compuesto como recubrimiento comestible para las naranjas mostró que la cera de abejas mostró la más baja pérdida de peso. En varios estudios, basados en las propiedades de películas de HPMC, se han mejorado sus características por la incorporación tensoactivos y el aceite esencial de árbol de té,

pero el desafío sigue siendo hoy la permeabilidad relativamente alta y mala integridad mecánica de los compuestos de películas comestibles (Bilbao-Sainz, 2010).

Kester y Fennema (1986) indican que las películas comestibles no están diseñadas con la finalidad de remplazar los materiales de empaque sintético ni a las películas no comestibles, dicen que la importancia de las películas comestibles recae en la capacidad de actuar como un conjunto para mejorar la calidad del alimento en general, extender el tiempo de vida de anaquel y mejorar la eficiencia económica de los materiales de empaquetamiento. Algunas de las propiedades funcionales que desempeñan las películas son la reducción de pérdida de agua, de aceites y grasas, el de transporte de gases (CO_2 y O_2) y de solutos, mejorar las propiedades mecánicas, proveer integridad estructural a los alimentos y retención de componentes volátiles.

1.3 Ventajas de las películas comestibles

El uso de películas comestibles y recubrimientos para proteger y preservar alimentos es cada vez mayor, ya que ofrecen varias ventajas sobre los materiales sintéticos, tales como ser biodegradable y amigables con el medio ambiente. Muchas de las funciones de las películas son idénticas a la de los embalajes no comestibles, por ejemplo, la de barrera frente a la transferencia de agua, de gases y/o solutos. Es importante valorar las características funcionales de una película comestible para una aplicación particular que dependen generalmente de la naturaleza del alimento, de sus propiedades fisicoquímicas y de su primer modo de deterioro (Karbowiak y col., 2007).

1.4 Requisitos de las películas comestibles

Las películas flexibles comestibles deben cumplir con características específicas que dependen del alimento considerado y de sus procesos metabólicos, como:

1. Propiedades sensoriales: las películas comestibles deben ser transparentes, insípidas e inodoras con excepción de aquellas cuya función sea proveer de sabor o color al alimento.

2. Propiedades de barrera: las cubiertas deben tener una adecuada permeabilidad al vapor de agua (Sorrentino, Gorrasi y Vittoria, 2007) y a solutos, así como permeabilidad selectiva a gases y compuestos volátiles (Kester y Fennema, 1986; Oms-Oliu y col, 2009; Ribeiro, Vicente, Teixeira y Miranda, 2007; Vargas, Pastor, Chiralt y col, 2008).
3. Propiedades compatibles con la incorporación de ingredientes con propiedades funcionales (Chidanandaiah, Keshri y Sanyal, 2009; Guillard y col., 2009).

1.5 Incorporación de BAL

Una funcionalidad importante de los recubrimientos y películas comestibles es su habilidad para incorporar ingredientes activos, ya que pueden servir como soporte de aditivos capaces de conservar y mejorar la calidad del producto. Es posible utilizarlos, por ejemplo, en frutas frescas cortadas para mejorar su calidad y vida útil con la incorporación de antioxidantes, antimicrobianos, mejoradores de textura. (Parzanese, 2013).

Los probióticos son microorganismos vivos que pueden incluirse en la preparación de una amplia gama de productos, incluyendo alimentos, medicamentos, y suplementos dietéticos. Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las usadas más comunmente como probióticos, pero la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y algunas especies de *E. coli* y *Bacillus* también son utilizados como probióticos. Las bacterias de ácido láctico (BAL), entre las que se encuentra la especie *Lactobacillus*, han sido utilizadas para la conservación de alimentos mediante fermentación durante miles de años; pueden ejercer una función doble, actuando como agentes fermentadores de alimentos, pudiendo además generar efectos beneficiosos a la salud. Sin embargo, el término “probiótico” debe reservarse para los microorganismos vivos que han demostrado en estudios humanos controlados producir un beneficio a la salud. (Guarner y col., 2011)

Una población viable de bifidobacterias de 5 ciclos logarítmicos de UFC/g en el producto final se ha señalado como el mínimo terapéutico para alcanzar los beneficios de salud antes mencionados (Naidu y col., 1999). La adición de probióticos para

obtener películas comestibles funcionales y recubrimientos aún no ha sido suficientemente reportada. Los potenciales beneficios para la salud y funciones biológicas de las bifidobacterias en los seres humanos incluyen la producción intestinal de ácidos láctico y acético, la inhibición de patógenos, la reducción de los riesgos de cáncer de colon, reducción de colesterol en suero, la mejora de la absorción de calcio, y la activación del sistema inmune, entre otros (Mitsuoka 1990; Gibson y Roberfroid 1995; Kim y col., 2002).

Un grupo de investigadores desarrolló los primeros recubrimientos comestibles basados en alginato y proteína con probióticos (bifidobacterias) viables aplicados sobre fruta fresca cortada, concluyendo los autores que la incorporación de bifidobacterias a las preparaciones para recubrimientos comestibles abre la posibilidad del desarrollo de alimentos funcionales de este tipo (Tapia y Col., 2007).

2. JUSTIFICACIÓN

La alta capacidad de las películas y recubrimientos comestibles para ser soporte de una gran variedad de compuestos químicos como (colorantes, antioxidantes, antimicrobianos, etc)., para conservar o incrementar ciertas cualidades de los alimentos, abre la posibilidad de emplearla como soporte de microorganismos. Las BAL pueden ser considerados probióticos, lo que nos permite utilizarlos como microorganismos que otorgan un beneficio al organismo, pero así mismo para poder obtener estos beneficios es necesario que las BAL entren vivos al organismo, para lo cual es necesario conservar la viabilidad de las BAL. La adición de BAL en las películas y recubrimientos comestibles, podrán ser una alternativa de adicionar microorganismos probióticos

en los alimentos y otras ramas como lo son la formulación farmacéutica e incluso poder usarlas de manera directa para el consumo de probióticos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Elaborar películas comestibles de almidón adicionadas con bacterias ácido lácticas (BAL).

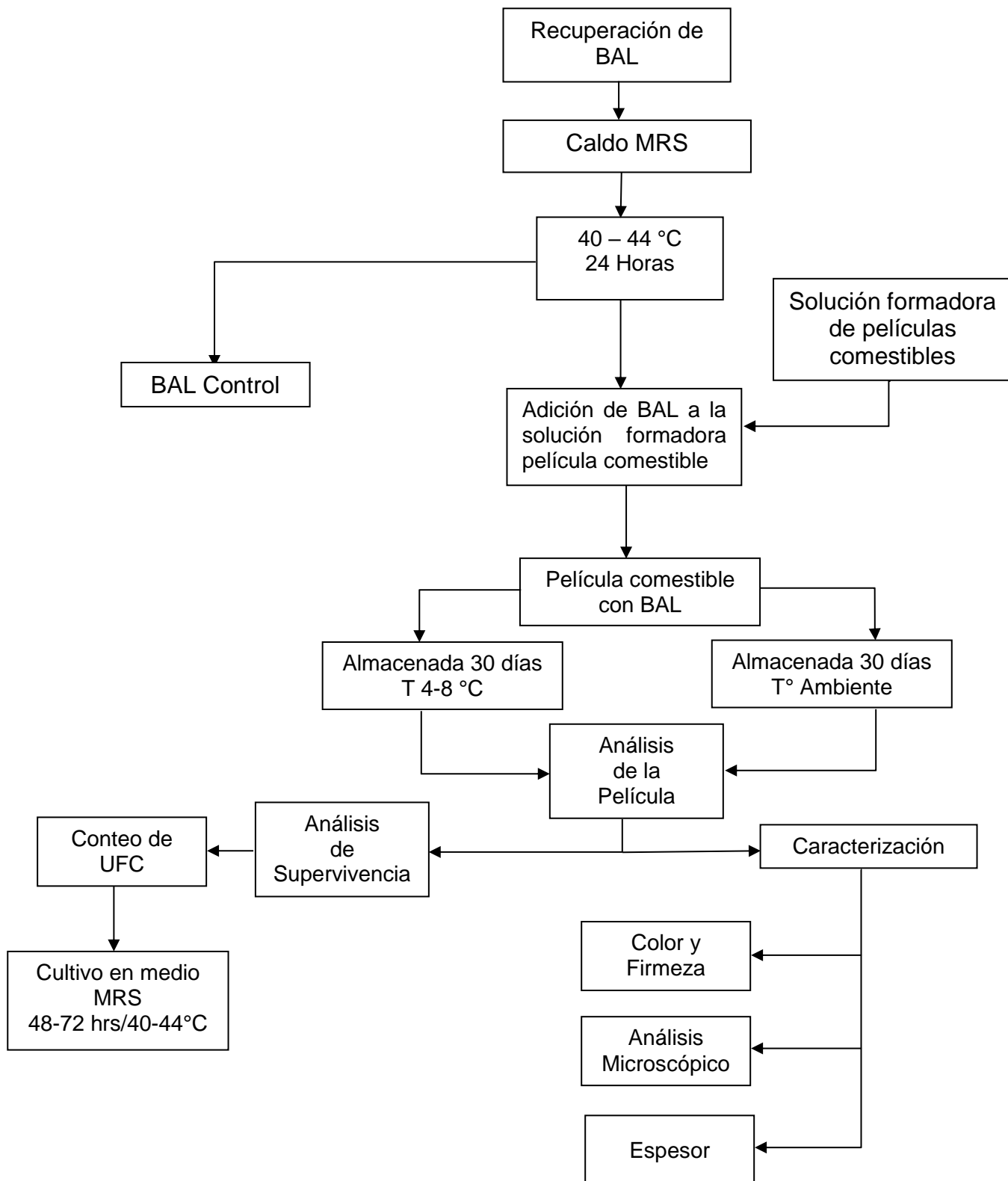
3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Evaluar la formación y estabilidad de películas comestibles de almidón adicionadas con bacterias ácido lácticas (BAL).

3.2.2 Evaluar la supervivencia de las BAL adicionados en la película comestible de almidón almacenadas a temperatura ambiente y de refrigeración.

3.2.3 Caracterizar física y estructuralmente (mediante microscopía de fuerza atómica) las películas comestibles adicionas con BAL.

4. DIAGRAMA DE TRABAJO



5. MATERIALES Y MÉTODOS

Material de vidrio el necesario para cada determinación

Reactivo grado analítico y alimenticio, el necesario para cada determinación

Cepas las necesarias para el desarrollo experimental

Tabla de Equipos

Tabla 1 Equipos Utilizados

NOMBRE	MARCA	MODELO
Autoclave	Cisa	As-25
Campana de Flujo Laminar	Eseve	Cfl-102v
Estufa		E-41
Balanza Analítica	Ohaus	Explorer
Cuenta Colonias	Sol-Bat	Q-20
Micropipeta	Liquid Handling	Labmate pro
Batidora	Oster	2513-13
Microscopio de Fuerza Atómica	Nanosurf	Naio AFM
Micrómetro	Scala	
Colorímetro	Blue Metric	BLUE-HP200

Tabla 2 Métodos y Referencias

DETERMINACIÓN	TÉCNICA	REFERENCIA
Solución Formadora de Película	Películas y recubrimientos comestibles	Ávila-Sosa y Malo; 2008
BMA	Vertido en placa	Norma Oficial Mexicana 092
Desarrollo de <i>Lactobacillus</i>	Crecimiento de BAL	Samaniego y Sosa; 2007

6. METODOLOGIA



Figura 1 Recuperación de BAL

6.1 Evaluación de la viabilidad de las BAL

Se recuperaron BAL de cepas congeladas en caldo RMS, las cuales se incubaron por 24 hrs, y posteriormente se observó la viabilidad de las BAL. El conteo de UFC de las BAL, se realizó por el método de vertido en placa en medio de cultivo MRS. La incubación fue en atmosfera microaerofílica a temperatura de 40-44 °C por un tiempo de 48-72 hrs. Para el conteo de UFC se realizaron diluciones de la 10^{-4} – 10^{-7} , según se requirió, por duplicado.



Figura 2 Adición de BAL

6.2 Adición de BAL a la solución formadora de películas

La solución formadora de película estuvo compuesta por 5% de almidón como polímero y 1% de sorbitol como plastificante. Una vez formada la solución formadora de películas y que se ajustara su pH se adicionaron los BAL. La adición de BAL se realizó agregando una suspensión concentrada de BAL en agua peptonada, a la solución formadora de películas.



Figura 3 Formación de Película

6.3 Formación de las películas comestibles adicionadas con BAL

Se vertió la solución formadora de película en placas Petri de 10×10 estériles y desechables, se dejaron secar en una estufa de vacío a temperatura de 38 °C por un tiempo aproximado de 18 hrs. Una vez formada la película comestible, se conservó en placa de Petri y se almaceno a temperatura ambiente y de refrigeración.



Figura 4 Conteo de UFC de BAL

6.4 Evaluación de la supervivencia de BAL en las películas.

Se evaluó la supervivencia de las BAL en las películas comestibles, contando las UFC de BAL presentes por gramo de película comestible. El conteo de UFC de BAL se realizó por método de vertido en placa en medio de cultivo MRS, se realizaron diluciones de la 10^{-4} – 10^{-7} , según se requirió, por duplicado. La incubación se realizó en atmosfera microaerofílica a temperatura de 40-44 °C por un tiempo de 48-72 hrs.



Figura 5 Colorímetro Digital

6.5 Análisis físico

El color se determinó con un colorímetro portátil, El colorímetro se calibró con un fondo blanco y uno negro, la película fue puesta sobre un fondo blanco y se cuantificó L (luminosidad Blanco-Negro), a (Rango de rojo a verde) y b (Rango de amarillo a azul). Hue y Croma fueron calculados con la ecuación:

$$Croma = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (1)$$

$$Hue = \tan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right) \quad (2)$$



Figura 6 Micrómetro

Firmeza, se analizó ruptura y estiramiento por tracción a 60mm/min: penetración a 1mm/s con punta de 3mm, en el día 0 a las películas comestibles. Espesor, se midió el espesor usando un micrómetro de 0-26 mm (0.01mm), tomando medidas en 5 zonas de la película.



Figura 7 Microscopio de Fuerza Atómica

6.6 Análisis estructural (Microscopía de fuerza atómica)

Se evaluó la estructura de la película comestible adicionada con BAL utilizando un microscopio de fuerza atómica equipado con una punta de silicio y una constante de fuerza de 20nN en el modo de contacto. Se tomaron 5 muestras de diferentes puntos. Con las imágenes obtenidas se analizaron las características de rugosidad y densidad del poro por medio del software

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Formación y supervivencia de las BAL adicionadas a películas comestibles de almidón

En la figura 8 se observa la supervivencia que presentaron las BAL adicionados en las películas comestibles durante el periodo de almacenamiento. Los conteos de UFC de BAL por gramo de película comestible se mantienen más estables a temperatura de refrigeración, que las almacenadas a temperatura ambiente. Christos Soukoulis y Col. (2017) reportan que la incorporación de Lactobacilos (BAL) dentro de los productos alimenticios ha mostrado recientemente potencial para mejorar los alimentos procesados, además de reportar como un buen resultado la pérdida de 0 a 1.17 log UFC / g durante el almacenamiento. Madigan y Col. (2001), mencionan que el crecimiento microbiológico está dado por el incremento del número de células en una población de microorganismos, en el cual se pueden identificar cuatro fases principales: Inicialmente, se transita por una etapa de latencia en la que los microorganismos se adaptan al medio ambiente y no hay crecimiento celular aparente, seguida de la fase logarítmica, estacionaria y de muerte respectivamente. Es clara la evidencia de lo posible de mantener la viabilidad y supervivencia de los BAL en películas comestibles a base de almidón, ya que al tener valores similares al inicial, indica que las bacterias se mantienen en fase de latencia, ya que a pesar de la variabilidad de los resultados es evidente que los valores de pérdida se mantienen según lo que la bibliografía citada reporta.

7.2 Espesor

En la figura 9 se observa la diferencia entre los espesores de la película control y la película adicionada con BAL, Jiménez y Col. (2012) menciona que todos los compuestos de la formulación aportan características exclusivas a las películas comestibles, al combinarlos, pueden cambiar las características individuales de cada uno y obtener formulaciones que cumplan con características requeridas para ser empleadas.

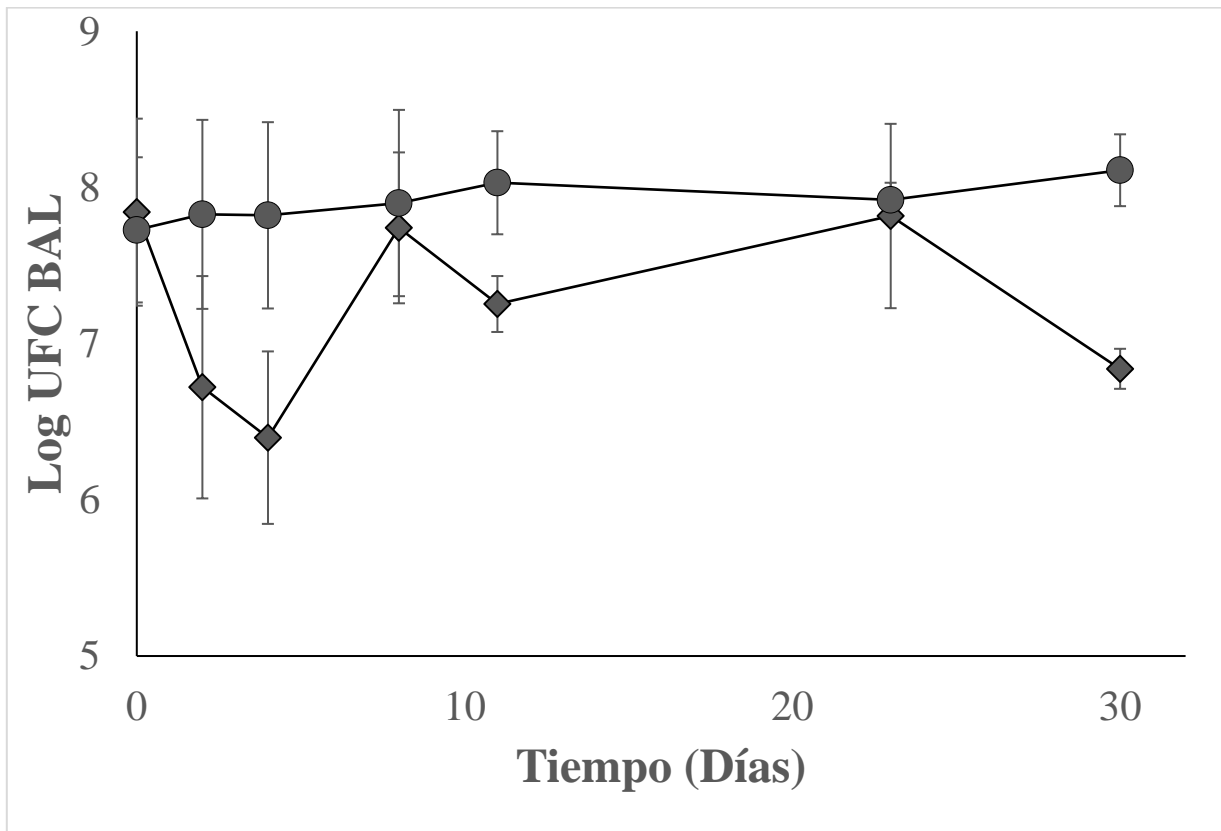


Figura 8 Supervivencia de BAL expresado en Log de UFC BAL/ g de película durante 30 días: ● Película Comestible almacenada a temperatura de refrigeración; ◆ Película Comestible almacenada a temperatura ambiente.

El cambio del grosor en la película comestible por la adición de BAL es una evidencia que permite demostrar la presencia BAL en la película, ya que como menciona el autor cada elemento cumplirá un papel importante que podrá modificar la estructura y presencia de la película, esto no afectando si no adaptándose a las necesidades requeridas de la película.

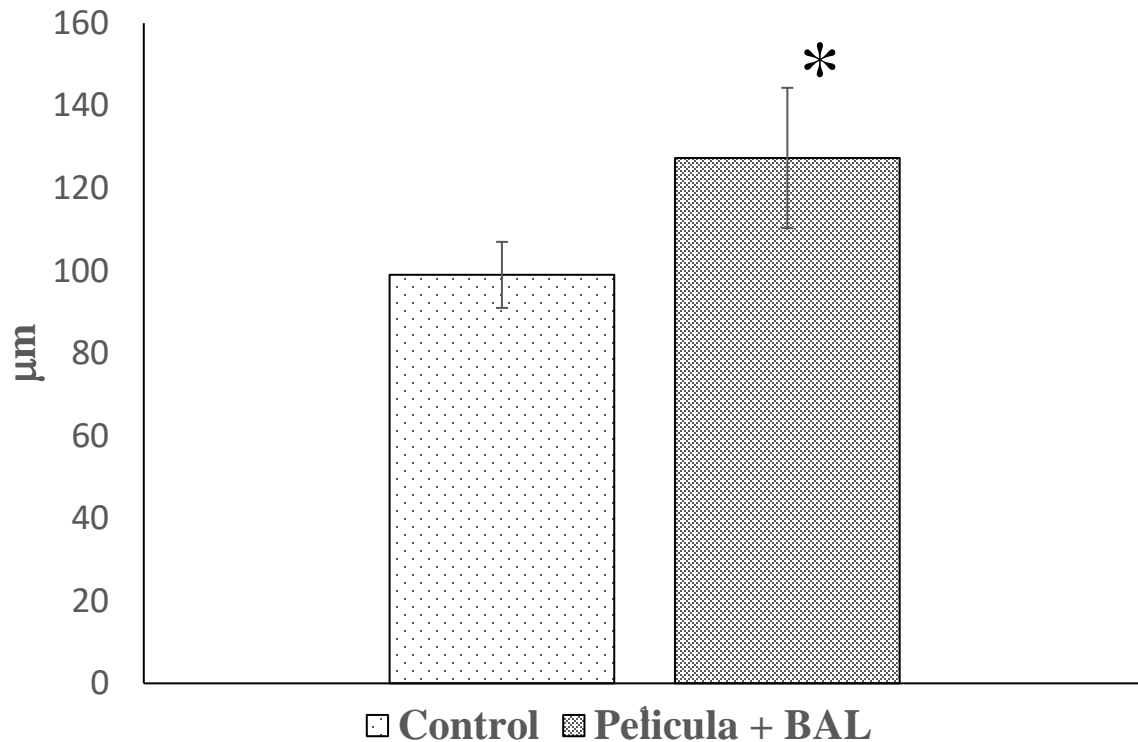


Figura 9 Diferencias entre el espesor de la película control y la película adicionada con BAL

7.3 Firmeza y color

En la tabla 3 y 4 se observa la caracterización de color y firmeza de la película comestible adicionada con BAL. La película comestible adicionada con BAL presenta menor resistencia a la fuerza que la película comestible control, Campos y Col. (2011) menciona que debido a que el plastificante reduce los enlaces intermoleculares entre las cadenas de polímeros, los plastificantes modifican las propiedades mecánicas y producen películas más flexibles, en el caso de la adición de BAL estos pueden interferir con la unión plastificante-polímero provocando que la flexibilidad de la película adicionada con BAL sea ligeramente menor que la película control. Sin embargo, Wang y Col. (2007) mencionan que las películas formuladas con almidón presentan propiedades mecánicas limitas, ya que son quebradizas; aun así, son consideradas

como las películas formuladas con polisacáridos que presentan las mejores características de flexibilidad.

En el color se observa que los resultados son muy similares entre la película control y la película adicionada con BAL, Vargas y Col. (2008) refiere que, al usar polisacáridos como compuestos para la formación de películas comestibles, se obtienen películas transparentes que presentan propiedades mecánicas moderadas, esto puede ser el motivo por el cual no existe diferencia entre ambas películas, ya que la adición de BAL no necesariamente le otorgará un color específico a la película comestible. Esto demuestra que la adición de BAL a las películas comestibles no modifica las cualidades físicas de estas.

Tabla 3 Evaluación de firmeza de películas comestibles de almidón adicionadas con BAL

Película Comestible	Fuerza (N)	Tensión (N/mm ²)	Elongación (mm)	Deformación (%)
Control	0.07±0.02	10.17±2.66	2.75±1.15	18.30±7.68
Adicionada con BAL	0.06±0.02	9.15±2.66	2.15±1.15	19.50±7.68

Tabla 4 Evaluación de color de películas comestibles de almidón adicionadas con BAL

Película Comestible	L	a	b	Hue	Croma
Control	86.7±0.2	1.8±0.1	4.5±0.3	291.7±0.8	4.8±0.3
Adicionada con BAL	86.3±0.2	1.9±0.1	4.8±0.3	292.1±0.8	5.0±0.3

7.4 Análisis estructural

En la figura 10 se observan las imágenes de la película control y película adicionada con BAL, tomadas con microscopia de fuerza atómica, a 10 y 50 μm , se observa como en el caso de la película control hay presencia de poros, que al adicionar los BAL desaparecen. Ávila-Sosa y Col. (2008), mencionan que la formación de la película comestible se dará gracias a la formación de enlaces iónicos y covalentes, formando una red del polímero y a su vez capas de éste para formar la estructura. Esto demuestra la presencia de las BAL en la película comestible ya que, al estar presentes en las películas, ocupan los espacios de unión entre el polímero y el plastificante, y como se puede comprobar en las imágenes, la película adicionada con BAL carece de poros, ya que en ellos ahora se encuentran las bacterias.

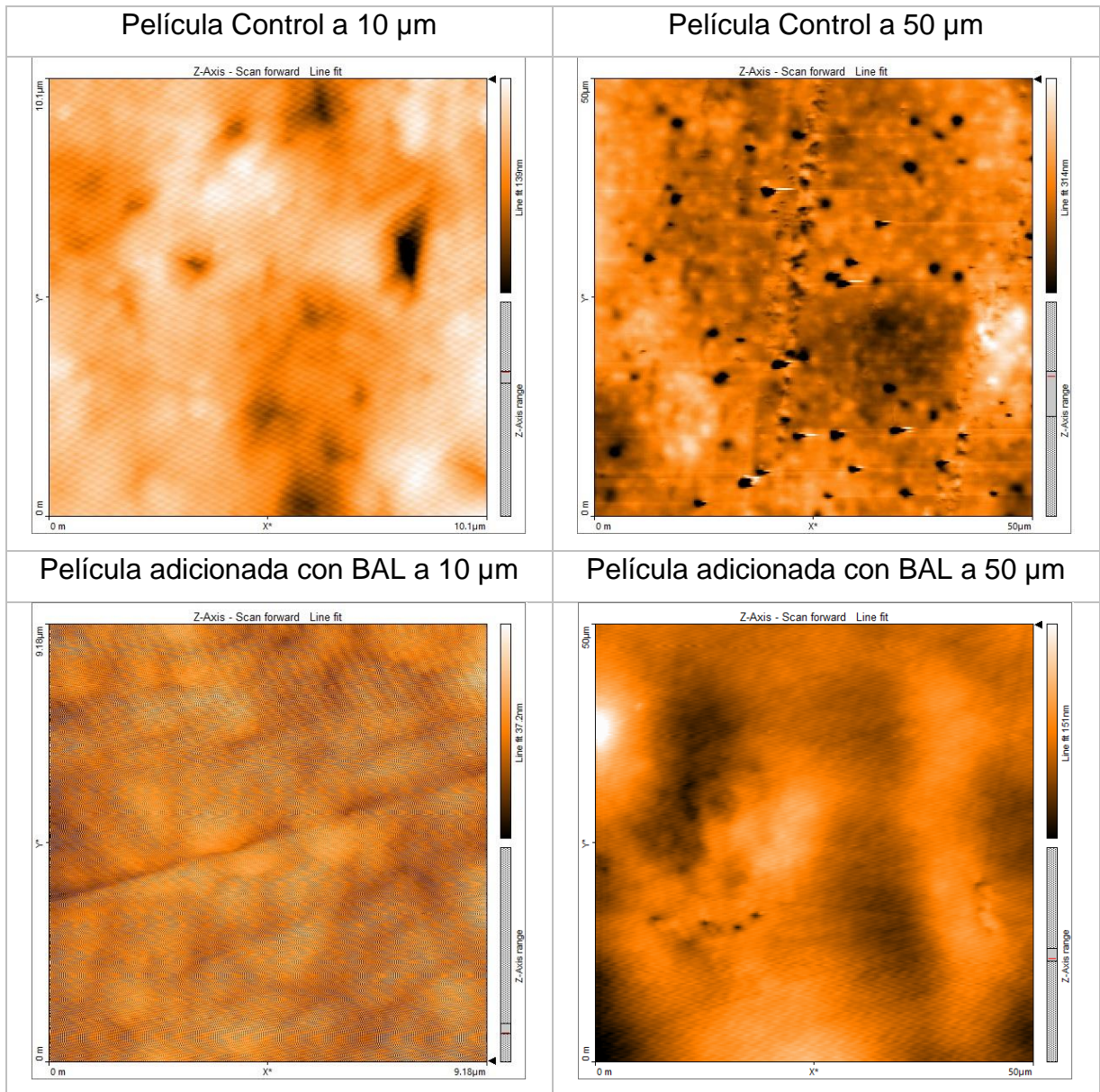


Figura 10. Análisis estructural mediante microscopía de fuerza atómica de películas comestibles de almidón adicionadas con BAL.

8. CONCLUSIONES

Las películas comestibles de almidón adicionadas con BAL, son una alternativa viable para proveer al organismo de probióticos, ya que tienen la capacidad de mantener viables a los microorganismos para que puedan entrar vivos al organismo y cumplir una función benéfica. Como se observa en el análisis estructural de la película comestible, la presencia de las BAL es abundante lo que logra tapar los poros de la película, esto es una forma de visualizar la supervivencia y la gran cantidad de probióticos presentes en la película comestible, por lo tanto, se puede decir que la película puede proveer de probióticos al consumirla.

Además de que, a pesar de la adición de los BAL a la película comestible, esta no se ve modificada y mantiene sus propiedades físicas, lo que aumenta la posibilidad de su uso para recubrir alimentos y darles un valor agregado a estos, o incluso su uso en el sector farmacéutico.

9. SUGERENCIAS

Realizar análisis sensorial de la película comestible, para saber si tiene algún sabor específico que limite su uso en alimentos.

Medir la supervivencia de los BAL en un rango de tiempo mayor a los 30 días.

Medir la supervivencia de los BAL en un rango de temperatura diferentes a los usados.

10. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Ávila–Sosa Sánchez R., López Malo A.; 2008; Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles; *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* (2) (2) (4–13)
- 2) Banker, G.S. 1966. Film coating theory and practice. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 55(1): 81-89.
- 3) Bilbao-Sáinz, C., Avena-Bustillos, R.J., Wood, D.F., Williams, T.G., McHugh, T.H. (2010). Nanoemulsions prepared by a low-energy emulsification method applied to edible films. *J Agric Food Chem*; 58(22):11932-8.
- 4) Cagri, A., Ustunol, Z. Ryser, E.T. 2004. Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*. 67(4): 833-848.
- 5) Campos, C.A., Gerschenson, L.N. y Flores S.K. 2011. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. *Food Bioprocess Technol*. 4:849-875
- 6) Cha, D.S. Chinnan, M.S. 2004. Biopolymer-based antimicrobial packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44: 223-237.
- 7) Chidanandaiah, R. C. Keshri y M. K. Sanyal (2009), "Effect of Sodium Alginate Coating with Preservatives on the Quality of Meat Patties During Refrigerated (4 +/- 1C) Storage", *Journal of Muscle Foods*, 20: 275-292.
- 8) Christos Soukoulis, Solmaz Behboudi-Jobbehdar, William Macnaughtan, Christopher Parmenter, Ian D. Fisk. 2017; September 2017; Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG incorporated in edible films: Impact of anionic biopolymers and whey protein concentrate Source: *Food Hydrocolloids*, Volume 70; *Food Hydrocolloids*, Volume 70
- 9) Donhowe, I.G. Fennema, O. 1994. Edible films and coatings: Characteristics, formation, definitions and testing methods. En: J. M. Krochta, E.A. Baldwin y M. O. Nisperos-Carriedo (Eds). *Edible coatings and films to improve food quality*. Lancaster: Technomic Publishing, Basilea. pp. 1-24.
- 10) Famá L., Flores S., Rojas A., Goyanes S., Gerschenson L.; 2004; Comportamiento mecánico dinámico de películas comestibles a bajas

- temperaturas: influencia del contenido de sorbato y grado de acidez; Revista SAM (1) (1) (157-162)
- 11) Gibson GR, Roberfroid MB. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of probiotics. *J Nutrition* 125:1401–12.
 - 12) Guarner F.; Khan A.; Garisch J.; Eliakim R.; Gangl A.; Thomson A.; Krabshuis J.; Le Mair T.; 2011; Probióticos y Prebióticos; Organización Mundial de Gastroenterología; Guías prácticas.
 - 13) Guilbert, S. 1996. Technology and application of edible protective films. En: G. Barbosa- Cánovas, y J. S. Welti-Chanes (Eds). *Food Preservation by moisture control, Fundaments and applications. Isopow Practicum II, N.Y. EE.UU.* pp. 371-394
 - 14) Guilbert, S., Redl, A. Gontard, N. 2002. Mass transport within edible and biodegradable protein-based materials: Application to the design of active biopackaging. En: J.S. Welti- Chanes, G. Barbosa-Cánovas, y J.M. Aguilera (Eds). *Engineering and Food for the 21st Century. CRC Press, Boca Ratón EE.UU.* pp. 567-577.
 - 15) Guillard, V., V. Issoupov, A. Redl y N. Gontard (2009), “Food Preservative Content Reduction by Controlling Sorbic Acid Release from a Superficial Coating”, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 108-115.
 - 16) Jiménez, A., Fabra, M. J., Talens, P., and Chiralt, A. (2012). Edible and biodegradable starch films: a review. *Food and Bioprocess Technology* 5, 2058-2076.
 - 17) Karbowiak, T., Debeaufort, F., Voilley, A. (2007). Influence of thermal process on structure and functional properties of emulsion-based edible films. *Food Hydrocolloids*. 21, 879-888.
 - 18) Kester, J.J. Fennema, O. 1986. Edible films and coatings: A review. *Food Technology*. 12: 47-59.
 - 19) Madigan M, Martinko JM, Parker J. *Biología de los microorganismos*. 8ª ed, Prentice Hall, 2001
 - 20) Mitsuoka T. 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *J Ind Microbiol* 6: 263–7.

- 21) Muller, P.G., Riei, R. 1990. Tecnologías de América del Norte para el procesamiento de los alimentos. IICA, Serie de documentos de programas No. 19.
- 22) Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr* 38(1):13–126.
- 23) Norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- 24) Oms-Oliu, G., M. L. A. T. M. Hertog, R. Soliva-Fortuny, O. Martín-Belloso y B. M. Nicolai (2009), "Recent Developments in the Use of Modified Atmosphere Packaging for Freshcut Fruits and Vegetables", *Stewart Postharvest Review*, 5 (4): 1-11.
- 25) Parzanese M.; 2013; *Tecnologías para la Industria Alimentaria*; No 7; películas y recubrimientos comestibles; disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_07_PeliculaComestible.pdf
- 26) Quintero, C. Juan.; Falguera, Victor.; Muñoz, H. Aldemar.; 2010; Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola; *Revista Tumbaga*, 5, 93-118.
- 27) Ribeiro, C., A. A. Vicente, J. A. Teixeira y C. Miranda (2007), "Optimization of Edible Coating Composition to Retard Strawberry Fruit Enescence", *Postharvest Biology and Technology*, 44 (1): 63-70.
- 28) Samaniego Fernández, L.M.; Sosa del Castillo, M.; 2007; *Lactobacillus spp.*: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora; Editorial Universitaria del Ministerio de Educación Superior de la República de Cuba.
- 29) Sorrentino, A., G. Gorrasi y V. Vittoria (2007), "Potential Perspectives of Bio-nanocomposites for Food Packaging Applications", *Trends in Food Science and Technology*, 18: 84-95.
- 30) Srinivasa, P. C. Tharanathan, R. N. 2007. Chitin/Chitosan-Safe, ecofriendly packaging materials with multiple potential uses. *Food Reviews International*. 23: 53-72.

- 31) Tapia, M., Rojas-Grau, M., Rodríguez, F., Ramírez, J., Carmona, A. y Belloso, O. (2007). Alginate- and Gellan-Based Edible Films for Probiotic Coatings on Fresh-Cut Fruits. *Journal of Food Science*; 72(4):190-196.
- 32) Vargas, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, D. y Gonzalez-Martinez, C. 2008. Recent Advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews In Food Science & Nutrition*, 48(6):496-511.
- 33) Wang, L.Z., Li, L., Holmes, J., Kerry, J.F. y 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.