



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DESARROLLO DE ENVOLTURAS BIODEGRADABLES A
PARTIR DE AGAR-AGAR**

T E S I S

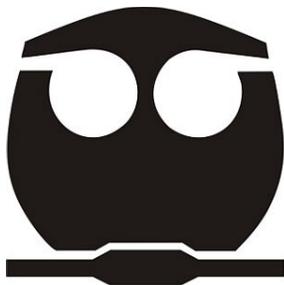
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A :

CRUZ MARTÍNEZ GABRIELA ITZEL

MÉXICO, CDMX. 2020





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Yolanda Caballero Arroyo _____

VOCAL: Carlos Antonio Rius Alonso _____

SECRETARIO: Olga del Carmen Velázquez Madrazo _____

1er. SUPLENTE: Roeb García Arrazola _____

2º SUPLENTE: Martha Yolanda González Quezada _____

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 204, DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA, DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA: Dr. Carlos Antonio Rius Alonso



SUPERVISOR TÉCNICO: M. en C. Martha Yolanda González Quezada



SUSTENTANTE: Cruz Martínez Gabriela Itzel

*Una dedicatoria especial para aquellos que ya no están con nosotros
y que le regalaron a mi vida mucho amor y aprendizaje*

M en C. Rosa Luz Cornejo Rojas

C. Luis Cruz Martínez

(Mi padre)

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Universidad, por haberme abierto sus puertas, por brindarme la mejor educación y todas las herramientas necesarias para cumplir todos mis sueños. Me siento muy honrada de haber pertenecido a ésta Institución, a mi amada UNAM, a mi amada Facultad de Química.

A ti papá, por haberme guiado hasta aquí, por tus sabios consejos, por tu forma de educarme, por tu forma de cuidarme y sobretodo porque dese niña me inculcaste el estudio y el sentido de la responsabilidad. Gracias a tus recuerdos y enseñanzas nunca me rendí, a pesar de que en algunas ocasiones me sentía derrotada salí adelante y hoy con mucha felicidad y a la vez nostalgia puedo decirte ¡Papá lo logré! Éste título especialmente te lo dedico a ti, mi viejito, mi querido Papá. Te amo y siempre te llevo en mi corazón y en mis pensamientos. Gracias por haberme amado tanto, gracias por toda la felicidad que me diste, por todas esas risas, por todos esos juegos de Fútbol, por todos esos momentos inolvidables que compartimos juntos, por haber sido el mejor padre y estoy agradecida con la vida por haberte conocido y por haber sido tu hija. Te amo.

Mamá, no sé por dónde empezar, fuiste un motivo de inspiración para poder terminar mi carrera. Sin tú amor, apoyo, y sacrificios no estaría aquí. Gracias por darme todo tu apoyo durante toda mi vida, por ser tan amable, tierna, por hacer hasta lo imposible por que estemos bien, por despertarme cada mañana con tu sonrisa y tus palabras de aliento. Sé que pasamos por momentos muy difíciles, pero ya no te preocupes por eso, todo eso acabó, ahora estamos mejor y tú mereces tanto en ésta vida, nunca nada te faltará. Te amo y siempre estaré a tu lado. Eres la mujer más hermosa, noble y cariñosa que he conocido. Gracias por ser mi mamá, gracias por todo lo que me has enseñado, gracias por tú amor incondicional, por escucharme, por todo lo que haces cada mañana, por todos tus sacrificios. Te admiro por ser una mujer tan fuerte y gentil.

A ti Hannat, mi hermana que siempre me motiva a ser mejor cada día, a esforzarme más, por tus críticas constructivas, por tú amor, por todo lo que hemos pasado desde niñas, por tus risas y palabras de aliento. Gracias por ayudarme a la culminación de este momento, siempre estaré muy agradecida contigo. Te amo mucho. Eres mi estrella de rock favorita

A ti Luis, mi hermano más pequeño, porque siempre me cuidas, me haces reír, por motivarme a no rendirme y por todo tú amor. Por todos los momentos tan divertidos,

porque siempre vas a ser mi hermanito y voy a cuidar de ti, gracias por mi hermosa Carol. Te amo hermano.

A ti mi pequeña Carol, mi niña hermosa, mi princesa, siempre eres mi motivo para seguir adelante. Siempre voy a cuidar de ti. Te amo como no tienes idea, espero siempre estar cerca de ti.

A toda mi Familia, por siempre darme sus palabras de aliento, por apoyarme y amarme tanto. En especial a ti mi hermosa abuelita Carmen, por tú amor, por tus risas, por todos esos momentos juntas, porque siempre me muestras lo más bonito de ésta vida, siempre quiero que estés a mi lado. Te amo tanto, gracias por todo lo que has hecho por mí. Gracias por darme tanta felicidad y amor

A ti Antonio, por ser un hombre maravilloso, por todo lo que hemos compartido, porque siempre me inspiras a ser una mejor persona, porque me motivas a seguir adelante y no rendirme. Eres muy importante en mi vida, gracias porque siempre estás en los momentos más difíciles, porque has cambiado mi vida, gracias por tu amor, por tus risas, tu compañía, tus palabras, por todo lo que me has enseñado. Te amo y el haberte conocido ha sido una de las experiencias más bellas de mi vida.

A ti Martha y a mis niños Cynthia, Diego y Miguel. Por siempre brindarme su apoyo y amor. Siempre voy a cuidar de ustedes, son parte de mi familia. Martha eres una gran mujer, siempre tan fuerte y noble, te admiro tanto. Gracias por ayudarme en mi carrera, gracias por brindarme tanto. Eres una mujer maravillosa.

A usted, mi hermosa Profesora Rosa Luz, gracias por haber sido la primera persona que creyó en mí, gracias por darme la oportunidad, nunca olvido sus enseñanzas, su amor, sus palabras, su sonrisa, su cariño. Gracias a usted descubrí mi verdadera vocación y hoy le dedico todo éste esfuerzo, nunca la voy a olvidar, siempre la llevo en mi corazón. Gracias, me quedo corta en palabras para expresarle todo mi cariño y respeto. Usted es mi Ángel. Compartimos tantos bellos momentos, que se han quedado grabados en mi mente y en mi corazón.

A usted, Profesora Lourdes, no sé por dónde empezar, hemos compartido tantas cosas, tantos momentos, momentos difíciles, momentos tan hermosos. Usted me enseñó a luchar, a confiar en mí misma. Usted nunca se rindió, a pesar de las circunstancias, entonces yo tampoco podía rendirme. Nunca olvido todos esos momentos que compartimos dando clases. Gracias por haberme brindado todo su apoyo, por haberme brindado su confianza, por haberme dado todo, por darme más de lo que alguna vez merecí. Por sus consejos, por esos momentos de risas, por esos abrazos tan llenos de amor que necesitaba, por ser mi amiga, mi profesora, mi confidente, mi ángel. Siempre la llevo en mi mente y en mi corazón, siempre estaré al pendiente de usted, usted es mi familia, usted es una mujer con los sentimientos

más nobles, nunca la olvidaré, gracias por compartir conmigo los momentos más bellos. Gracias por estar en mi vida. Gracias por ser un motivo más para sonreír. Gracias por compartir e impulsar mis sueños. Gracias, mi querida y hermosa Lulú.

A usted, mi mentor, un hombre extraordinario, un hombre que admiro, respeto y quiero Dr. Carlos Rius, gracias por todas sus enseñanzas, por haberme brindado todo su apoyo, por creer en mí. Por toda su honestidad, por sus consejos, por todo lo que ha hecho por mí, por haberme brindado su confianza y haberme dedicado tanto tiempo y esfuerzo. Me siento muy agradecida por haber aprendido tanto de usted, por haber conocido a ese hombre que se desvive por la Universidad, que nos brinda todos sus conocimientos y su experiencia, que se preocupa por compartirnos el verdadero sentido y valor de la Química. Para mí ha sido todo un honor haber compartido tantos momentos, admiro todo su trabajo, toda su trayectoria, admiro su dedicación y paciencia, pero más admiro a ese hombre que detrás de todos sus logros y conocimientos, es un hombre tan humano y gentil. Siempre lo llevo en mi corazón, lo quiero mucho. Gracias por hacer realidad este momento, gracias por impulsar mis sueños.

A usted Maestra Yolis, mi mamá de carrera. Sin usted nada de esto hubiera sido posible, gracias por su infinita bondad, por darme todo su cariño, su amor, su confianza, por ser mi amiga y confidente. Admiro la dedicación y el esfuerzo que realiza todos los días por nosotros sus alumnos. Nunca olvidaré esas tardes en el laboratorio, esas tardes de risas y enseñanzas, esas tardes de consejos y momentos maravillosos. Gracias por haberme apoyado tanto, por cuidarme, por preocuparse por cada paso que daba, por haberme dado tanta felicidad y tranquilidad, nunca la olvido y cada clase que doy, está inspirada en usted, porque cada duda o pregunta usted siempre la resolvía con mucho amor, paciencia y dedicación y eso es lo que yo quiero transmitirle a mis alumnos, lo que usted me enseñó. Gracias maestra Yolis, gracias por estar en mi vida. Gracias por todo lo que me ha brindado, gracias por quererme tanto. Gracias por enseñarme el lado bueno de la vida. Siempre la llevo con mucho cariño en mi corazón.

A usted, profesor José Luz. No tengo palabras para agradecerle todo el apoyo, su cariño y consejos. Nunca voy a olvidar su esmero y dedicación en cada clase. Aprendí mucho de usted y deseo poder seguir adquiriendo todas esas habilidades y conocimientos que usted tiene. No solo lo admiro por su profesión como docente, sino por el gran ser humano que quiero, admiro y respeto. Usted lleva un lugar muy especial en mi corazón y nunca voy a olvidarlo. Gracias de nuevo por darme la oportunidad de conocerlo y la oportunidad de seguir avanzando y el apoyo para culminar mis estudios. Lo quiero mucho.

A usted Maestra Kathya, por siempre recibirme con una sonrisa, por enseñarme tanto, por convertirse en mi amiga, por darme tantos consejos y muestras de cariño.

Usted ocupa un lugar muy especial en mi corazón. Es una mujer ejemplar, una excelente profesora y ser humano. La admiro mucho. Gracias por los momentos especiales que compartimos. Gracias por estar en mi vida.

A usted Dra. Yolanda Caballero, por su simpatía, su amor, sus risas y todo lo que me apoyó en la carrera. Gracias por sus enseñanzas y cariño. Fue todo un honor haberla conocido como ser humano y profesionalista. Muchas gracias.

Gracias a todos mis amigos del Laboratorio, mi amiga Betty, Kevin, Magali, Eduardo, por darme todo su cariño, por aprender de ustedes, por todos esos momentos juntos que jamás olvidaré. Me llevo una gran satisfacción al haber conocido personas tan extraordinarias como ustedes. Mis amigos siempre los recuerdo. Los quiero mucho.

Gracias también a todos aquellos que contribuyeron a la elaboración de este trabajo, gracias por sus palabras de aliento y sonrisas. Muchas gracias.

Tabla de contenido.

INTRODUCCIÓN	9
ANTECEDENTES	10
2.1 La situación de los desechos plásticos en México y el mundo.....	10
2.2 Impacto ambiental generado por los residuos plásticos.....	11
2.3 Las bolsas de plástico son las más dañinas.....	15
2.4 El metano no debe ser ignorado	16
2.5 La Tierra marca un nuevo récord histórico de gases que cambian el clima	16
2.6 Bioplásticos: Últimas tendencia en el envase alimentario.....	17
2.7 Películas.....	20
2.8 Películas de Hidrocoloides, lípidos/Grasas	23
2.9 Agar-agar	24
2.10 Colágeno.....	26
2.11 Películas híbridas Proteína/Carbohidrato.	27
2.12 Películas de Origen Bacteriano	29

2.13 Degradación.....	31
3. JUSTIFICACIÓN	32
4. HIPÓTESIS	32
5. OBJETIVOS	33
5.1 Objetivo general	33
5.2 Objetivos Particulares	33
6. MATERIALES Y MÉTODOS	33
6.1 Formulación agar-agar/grenetina.....	36
6.2 Formulación agar-agar/colágeno hidrolizado.....	36
6.3 Dureza.....	37
6.4 Resistencia a la elongación.....	37
6.5 Propiedades de barrera.....	38
6.6 Papel indicador.....	38
6.7 Electrodo de Waterproof.....	38
6.8 Análisis Microbiológico.....	38
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
8. CONCLUSIONES	55
9. BIBLIOGRAFÍA	56
10. ANEXOS	61
10.1 Reporte de Resultados	61

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, en la mayor parte del mundo, México incluido, existe una grave problemática por la contaminación del agua, aire y suelo, ocasionada en gran medida, por los grandes volúmenes de residuos que genera la actividad humana diariamente. La mayor parte es de naturaleza plástica, bolsas de todo tipo, platos,

popotes, contenedores, vasos, etc. Debido a su uso tan común fue fácil pensar que era inocuo, sin embargo, se ha encontrado recientemente que tardan cientos de años en degradarse y en la mayoría de los casos se forman micro-partículas que siguen contaminando. ¹

Uno de los sectores más importantes, implicados en el uso de toneladas de plásticos al año, es la industria alimenticia, que utiliza envases plásticos con la finalidad de mantener los estándares de calidad, presentación y manejo en los alimentos antes de su consumo final. Al generarse miles de toneladas diarias de estos residuos, se agrava el problema de la contaminación ya que es difícil encontrar nuevos sitios para su disposición final.²

Debido a lo anterior, existe un gran interés en desarrollar materiales de empaque, específicamente películas y contenedores que puedan descomponerse en corto tiempo como resultado de la acción de microorganismos y/o enzimas. Las investigaciones sobre el desarrollo de éstos materiales de empaque incluyen polímeros de origen natural como el agar-agar, colágeno y quitosano, entre otros.²

El agar-agar se obtiene de varios géneros y especies de algas marinas rojas de la clase *Rhodophyta*. Tales algas son denominadas *agarofitas* y las principales especies de valor comercial son la *Gracilaria*, la *Gelidium* y la *Pterocladia*.

El agar-agar es un hidrocoloide con alto poder gelificante, baja viscosidad en solución, alta transparencia y elevada fuerza de gel a bajas concentraciones. Debido a sus características, su uso ha sido frecuente en la elaboración de materiales biodegradables.³

El objetivo de este trabajo es encontrar una formulación que permita producir contenedores y películas biodegradables, a partir de fuentes naturales como agar-agar, colágeno, gredina y glicerina.

2. ANTECEDENTES

2.1 La situación de los desechos plásticos en México y el mundo

Los beneficios del plástico son innegables. El material es barato, liviano, y fácil de producir. Estas cualidades han llevado a un auge en la producción de plástico durante el siglo pasado y la tendencia continuará si no se buscan nuevas alternativas.⁴

Desde la década de 1950, la producción de plástico ha superado a la de casi cualquier otro material. Gran parte del plástico que producimos está diseñado para desecharse después de utilizarse una sola vez.⁴

Los plásticos de un solo uso, más comúnmente encontrados en el medio ambiente son, en orden de magnitud, botellas de bebidas, tapas de botellas, sorbetes y agitadores, bolsas de plástico y envases de poliestireno.⁴

La mayoría de estos residuos se generan en Asia, mientras que Estados Unidos, Japón y la Unión Europea son los mayores productores mundiales de envases de plásticos. En México se producen 300 millones de toneladas plásticas al año, de las cuales sólo se recicla el 3%.

Este es el resultado de una cultura de "usar y tirar", una cultura que considera al plástico como un material desechable y no como un recurso valioso que puede ser aprovechado.⁴

Si continúan los patrones de consumo y las prácticas de gestión actuales, para 2050 habrá 12, 000 millones de toneladas de basura plástica, y por lo tanto, la industria de este polímero consumirá el 20% de la producción global de petróleo. Actualmente la formación de plásticos en el mundo ocupa aproximadamente el 8% de la producción de petróleo.⁴

Los hábitos de consumo actuales no nos permiten concebir una vida sin plástico. Basta sentarnos en el sillón de nuestra sala, en la banca de un parque,
caminar por los pasillos del supermercado u observar el interior de nuestra
oficina, para darnos

cuenta, de que muchos objetos que nos rodean son de este material. Contaminación por todos lados, eso es lo que ha dejado este estilo de desarrollo que se ha instaurado en nuestra sociedad; es tanto el exceso de desechos que ya hemos comprendido que la única manera de sostenerlo es aprendiendo a vivir con ella.⁵

2.2 Impacto ambiental generado por los residuos plásticos

Actualmente somos incapaces de hacer frente a la cantidad de residuos plásticos que generamos, solo una pequeña fracción se recicla. En el caso de los envases de refresco a partir de PET, México es uno de los países que más recicla este material, sin embargo, el manejo inadecuado de estos residuos ha generado un grave deterioro ambiental, ocasionando la contaminación del aire, suelo y agua.⁶

Contaminación en mares y océanos

Alrededor de 13 millones de toneladas de plástico se filtran en nuestros océanos cada año, dañando la biodiversidad. Muchos de los residuos plásticos que llegan al mar, son confundidos por los animales, los ingieren y mueren por asfixia. Ballenas, delfines, focas, tortugas, aves marinas, entre otros, son los más afectados.

La contaminación de los océanos ha producido un fenómeno preocupante: *los animales marinos no pueden dejar de comer plástico.*

Se ha documentado que al menos 180 especies de animales marinos consumen plástico. Se encontró plástico dentro de las entrañas de un tercio de peces capturados, incluidas en los que consumimos regularmente como alimento. También en mejillones y langostas. Los científicos han llevado a cabo experimentos que sugieren que algunas especies de aves marinas, peces, ballenas, entre otros, son atraídas al plástico por su olor, específicamente al olor de un compuesto químico, el dimetilsulfuro.⁷

Las algas unicelulares del fitoplancton sintetizan y acumulan dimetilsulfoniopropionato (DMSP) para regular la presión osmótica; durante la lisis por senescencia o cuando son ingeridas por el zooplancton, liberan DMSP al medio. Las bacterias oceánicas metabolizan el DMSP, parte del mismo se utiliza como fuente de carbono y energía; otra parte escapa a la atmósfera en forma de dimetilsulfuro. Las aves de mar, suelen acudir donde se producen emanaciones de dimetilsulfuro, ya que esto indica la existencia del plancton, y por lo tanto, peces y plantas marinas. Con el paso del tiempo, los residuos plásticos que se encuentran flotando en mares y océanos se van recubriendo de una capa delgada de dimetilsulfuro, algas y otros organismos, provocando que especies marinas consuman los residuos plásticos.⁷



Figura 2.1 Camporesi, M. (2018) Esta es la razón por la cual los animales marinos comen plástico. Recuperado de https://www.bioguia.com/ambiente/razon-animales-marinos-comen-plastico_30242195.html. Fecha de consulta: 20 de junio 2019.²⁰

La presencia de los residuos plásticos representa una amenaza para la biodiversidad marina, además de ser ingeridos por diferentes especies, los animales se enredan con estos, resultan inmóviles y heridos. Los residuos plásticos se acumulan de manera que, con el movimiento de las olas golpean los corales y los fracturan.⁷

Emisión de potentes gases de efecto invernadero

Por sus características físicas y químicas, el plástico es un material muy duradero y difícil de degradar por los microorganismos que se encuentran en la naturaleza, puede permanecer casi intacto durante siglos. Sin embargo ahora, científicos de la Universidad de Hawái acaban de demostrar que la degradación del plástico es, además, una poderosa fuente de gases de efecto invernadero.⁸

Los autores de dicho estudio recientemente informaron otra buena razón para redoblar los esfuerzos mundiales contra la contaminación por plásticos: "Cuando los plásticos se descomponen, emiten metano y etileno, dos potentes gases de efecto invernadero, y la tasa de emisión aumenta con el tiempo. Las emisiones ocurren cuando los materiales plásticos están expuestos a la radiación solar ambiental, ya sea en el agua o en el aire, pero en el aire, las tasas de emisión son mucho más altas." ⁸

Los investigadores probaron policarbonato, acrílico, polipropileno, tereftalato de polietileno, poliestireno, polietileno de alta densidad y polietileno de baja densidad, materiales utilizados en envases de alimentos, textiles, materiales de construcción y diversos artículos de plástico. "El polietileno de baja densidad emite estos gases cuando es incubado en el aire con velocidades aproximadamente 2 veces más altas que cuando se incubaba en agua, en el caso del metano y el etileno, respectivamente", dice el estudio.⁸

"Nuestros resultados muestran que los plásticos representan una fuente hasta ahora no reconocida de gases traza relevantes para el clima que se espera aumente a medida que se produce y acumula más plástico en el medio ambiente", concluye el estudio.⁸

2.3 Las bolsas de plástico son las más dañinas

El etileno es ampliamente utilizado en la industria química y su producción global (más de 150 millones de toneladas en 2016) supera a la de cualquier otro compuesto orgánico. Gran parte de esta producción se destina al polietileno. El polietileno, utilizado en bolsas de compras, es el polímero sintético más producido y descartado a nivel mundial y, de los compuestos estudiados, es el emisor más prolífico de metano y etileno.⁸

"Dado el crecimiento esperado en la producción de plástico en todo el mundo, es importante para los fabricantes de plásticos, así como para los gobiernos que luchan contra el cambio climático, comprender el alcance de las emisiones de metano y etileno del plástico y su impacto en los ecosistemas", dice Niklas Hagelberg, experto en cambio climático de ONU Medio Ambiente.⁸

"El polietileno, como otros plásticos, no es inerte y se sabe que libera aditivos y otros productos de degradación en el medio ambiente a lo largo de su vida útil", dice el estudio de Hawái. "Por ejemplo, el aditivo bisfenol-A utilizado en la fabricación de muchos productos plásticos se lixivia mientras el plástico envejece y gases de hidrocarburos se producen durante la descomposición a altas temperaturas (>202 ° C)".⁸

"Estos productos químicos varían entre los diferentes tipos de plástico y una vez que se liberan, algunos pueden ser tóxicos y tener efectos adversos sobre el medio ambiente y la salud humana. Los procesos de degradación no sólo afectan la

integridad química del plástico, sino que también resultan en la fragmentación del polímero en unidades más pequeñas que aumentan el área de superficie expuesta a los elementos", advierte el estudio.⁸

2.4 El metano no debe ser ignorado

Las emisiones antropogénicas de metano han duplicado la concentración de este gas en la atmósfera desde el siglo XVIII. Las emisiones de metano debido a la actividad humana provienen de fuentes agrícolas, como la ganadería, la gestión del suelo y la producción de arroz, y de la producción y el uso de carbón, petróleo y gas natural. Según el Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático, el metano atrapa el calor y calienta el planeta 86 veces más que el dióxido de carbono, en base a un periodo de 20 años. Otras fuentes indican que el metano, aunque es mucho menos frecuente, es un gas de efecto invernadero 30 veces más potente que el dióxido de carbono.⁸

Una investigación dirigida por la Universidad de Reading en el Reino Unido indica que las emisiones de metano de las actividades humanas han causado hasta la fecha un efecto de calentamiento que es aproximadamente un tercio del causado por las emisiones de dióxido de carbono y un 25% más de lo que se estimaba anteriormente.⁸

2.5 La Tierra marca un nuevo récord histórico de gases que cambian el clima

La concentración de dióxido de carbono (CO₂) y otros gases alcanzaron un nuevo nivel máximo sin precedentes recientes, según destaca el Boletín de la Organización Meteorológica Mundial (OMM) sobre los Gases de Efecto Invernadero. "No hay indicios de inversión en esta tendencia, que está desencadenando un cambio climático a largo plazo, la subida del nivel del mar, la acidificación de los océanos y

un mayor número de fenómenos meteorológicos extremos”, destacó en 2018 la OMM en una nota oficial.⁹

“La última vez que la atmósfera de la Tierra concentró una cantidad de CO₂ comparable a la actual se produjo entre tres y cinco millones de años, y el resultado fue una temperatura entre 2 y 3 grados más alta y el nivel del mar entre 10 y 20 metros mayor que el actual, según el Secretario General de la OMM, Petteri Taalas.⁹

El Boletín de la OMM reveló que la concentración media mundial de dióxido de carbono pasó de 400.1 partes por millón (ppm) en 2015 y 403.3 ppm en 2016, a 405.5 ppm en 2018. También ascendieron las concentraciones de metano y óxido nitroso; en tanto que reapareció el CFC-11, un potente gas de efecto invernadero que agota el ozono, regulado en el marco de un acuerdo internacional para proteger la capa de ozono.⁹

El Boletín de la OMM sobre los Gases de Efecto Invernadero se basa en las observaciones del Programa de Vigilancia de la Atmósfera Global de la OMM, que documenta los cambios en los niveles de los gases de efecto invernadero resultantes de la industrialización, el uso de energía procedente de fuentes fósiles, prácticas agrícolas más intensivas, el mayor uso de la tierra y la deforestación.⁹

2.6 Bioplásticos: últimas tendencias en el envase alimentario

El aumento de la conciencia ambiental por parte del consumidor, junto con la presión de las nuevas leyes ambientales, ha llevado a la industria a invertir en materiales alternativos más sostenibles. La aplicación que más interés ha suscitado y en la que se ha invertido mayor cantidad de recursos científicos, técnicos y económicos, en los últimos años, ha sido el envase para alimentos.¹²

Hoy los envases biodegradables o el denominado ‘biopackaging’ son una realidad, dichos materiales proceden de fuentes renovables, extraídos de la biomasa, como la celulosa o el almidón, o bien producidos por microorganismos como los polihidroxialcanoatos (PHA). Los que mayor cuota de mercado poseen son aquellos

que proceden de monómeros naturales que se han polimerizado sintéticamente como el ácido poliláctico (PLA) o los almidones termoplásticos (TPS).¹²

Con el uso de biopolímeros para el desarrollo de nuevos materiales de envase se consigue la reducción de materiales poliméricos procedentes de fuentes no renovables, como el petróleo. Además, se alcanzarán beneficios medioambientales y económicos en la producción de materias primas, ya que muchos de estos materiales se podrían obtener a partir de subproductos, y en un futuro, se pretende sustituir o reducir en el coste de los nuevos materiales.¹²

Los envases tradicionales protegen al producto, son baratos y parecen durar indefinidamente. Sin embargo, su durabilidad es un problema serio para el medio ambiente; buscando una solución a estos problemas, surge la necesidad de desarrollar plásticos obtenidos a partir de fuentes renovables, que se degraden cuando hayan finalizado su función de envase, sobre todo en aplicaciones de corta vida, como los productos frescos en alimentación, un ejemplo de estos materiales son los bioplásticos.¹²

Cuando se habla de bioplásticos o plásticos biodegradables hay que tener en cuenta que la biodegradabilidad depende de la estructura química independientemente del origen.¹²

Los bioplásticos engloban dos grupos: los polímeros cuyo origen es una fuente renovable, llamados biopolímeros, y los que son biodegradables y cumplen con la norma de biodegradación y compostaje independientemente de su procedencia. ¹²

Los biopolímeros engloban todos aquellos polímeros que han sido producidos a partir de fuentes renovables, ya sean de origen vegetal o animal. En este grupo podemos encontrar polímeros obtenidos directamente de la naturaleza, como la celulosa, el almidón y proteínas como el suero o las gelatinas y también polímeros obtenidos a partir de microorganismos como el polihidroxibutirato y sus co-polímeros.¹²

A pesar de que el sector de los materiales bioplásticos sigue generando inquietud, es un sector consolidado y dinámico, el crecimiento de su capacidad de producción, según datos de la Asociación Europea de Bioplásticos, presenta una tendencia exponencial, y el precio de estos materiales es cada vez más comparable con los polímeros convencionales.¹²

Los bioplásticos, presentan dos ventajas: que proceden de fuentes renovables, evitando el uso de fuentes fósiles y proporcionando una reducción en las emisiones de CO₂ y otros gases, y que son biodegradables o compostables, proporcionando una reducción de los vertederos, además de poder ser utilizados, como fertilizantes y como productores de biogás mediante la fermentación.¹²

Biopolímeros naturales usados en empaques alimentarios

La principal prioridad de los empaques es la preservación y protección de todo tipo de productos, siendo los alimentos y las materias primas el campo de mayor prioridad. Estos productos requieren atención dada la contaminación generada por microorganismos (bacterias, hongos, levaduras, etc.) durante la manipulación. La protección se hace a través de los empaques, los cuales generalmente se elaboran de polímeros sintéticos, sin embargo, el uso de estos polímeros, ha generado serios problemas ecológicos contribuyendo en gran medida a la contaminación ambiental provocada por desechos sólidos de baja degradabilidad, lo que ha impulsado a la búsqueda de biopolímeros que sustituyan como materia prima a los polímeros sintéticos para la elaboración de empaques.^{12, 13}

El reemplazo total de los plásticos sintéticos por materiales biodegradables para la elaboración de empaques no se ha logrado hasta el presente, no obstante, sí se han sustituido algunos polímeros sintéticos por otros naturales, en aplicaciones específicas.¹³

Tales reemplazos han permitido el desarrollo de productos con características específicas relacionadas con las propiedades de barrera, mecánicas y térmicas en determinados empaques como películas, protectores, espumas, envolturas, platos, tasas, cucharas, bolsas, etc.¹³

Los biopolímeros naturales provienen de cuatro grandes fuentes: origen animal (colágeno/gelatina), origen marino (quitina/quitosán,) agrícola (lípidos, grasas, hidrocoloides: proteínas y polisacáridos) y origen microbiano (ácido poliláctico).¹³

2.7 Películas

Una película o recubrimiento generalmente se define como una capa delgada y continua aplicada a los alimentos, ya sea por inmersión, rocío o como envoltura, que provee una barrera selectiva contra la transmisión de gases, vapores y solutos, ofreciendo también protección mecánica¹⁰. En general los requisitos de una buena película de empaque son:

1. Permitir una baja pero controlada respiración del producto (reducida absorción de O₂)
2. Ser una barrera selectiva de gases y vapor de agua
3. Crear una atmósfera modificada con respecto a la composición interna de gases

4. Servir como vehículo para incorporar aditivos (saborizantes, colorantes, antioxidantes, agentes antimicrobianos)
5. Prevenir o reducir la degradación microbiana del producto durante el almacenamiento¹¹



*Figura 2.3 Películas plásticas flexibles. Recuperado de <http://www.plastipren.com.ar/>
Fecha de consulta: 15 de noviembre de 2019²¹*

Películas de Polisacáridos

Los polisacáridos son conocidos por su estructura compleja y diversidad funcional. La estructura lineal de algunos de estos polisacáridos, es por ejemplo, la celulosa, la amilosa (un componente del almidón), el quitosán y el agar. Le proporcionan a algunas películas dureza, flexibilidad y transparencia; las películas son resistentes a las grasas y aceites. El entrelazamiento, por ejemplo, del quitosán con aldehídos hace la película más dura, insoluble en agua y le proporciona una alta resistencia.¹³

El celofán, es una película regenerada de celulosa. La celulosa de éter aniónico y la carboximetilcelulosa, se solubilizan en agua siendo compatibles con otro tipo de biomoléculas, mejorando las propiedades mecánicas y de barrera en las películas elaboradas.

La Carboximetilcelulosa en forma de películas es capaz de absorber el aceite recogido en los alimentos sometidos a proceso de fritura.¹³

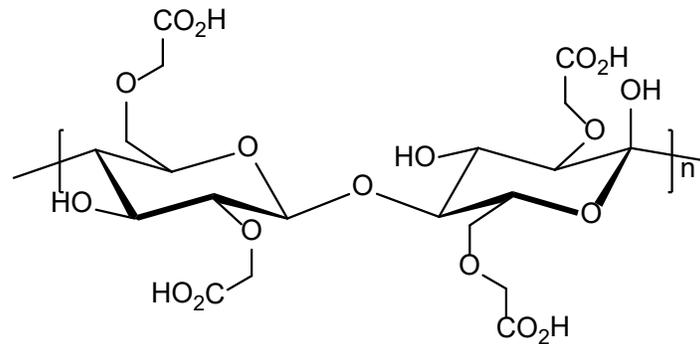


Figura 2.4 Carboximetilcelulosa: Estructura química. Recuperado de <https://www.lifeder.com/carboximetilcelulosa/>. Fecha de consulta: 10 de septiembre de 2019.²²

El almidón es otra materia prima en abundancia, específicamente el que proviene de maíz, tiene propiedades termoplásticas cuando se realiza el cambio estructural a nivel molecular.¹³

La adición de polímeros naturales como el almidón al interior del polietileno (polímero sintético) en forma granular entre un 6% y 30% es otra aproximación en la fabricación de los empaques biodegradables. Las películas de almidón y polietileno de baja densidad contienen hasta un 30% de almidón, mostrándose como un material parcialmente biodegradable. Las películas también son preparadas desde el quitosán y sus derivados; las propiedades mecánicas, de barrera y su biodegradación son características estudiadas.¹³ Es antifúngico y antimicrobiano, las películas a partir del quitosán prolongan la vida de los alimentos en las estanterías o en los anaqueles, como en el caso del banano, el mango y la pera.¹³

2.8 Películas de Hidrocoloides, lípidos/Grasas

Dos tipos de biomoléculas son usados en la preparación de empaques biodegradables de película, los hidrocoloides y los lípidos. Individualmente, tienen una escasa integridad estructural y características funcionales; por ejemplo, los hidrocoloides no son una buena barrera contra la humedad, en cambio los lípidos sí. Algunas formulaciones de las películas se han adaptado a necesidades específicas de comercialización.¹³

El uso de cera para cubrir las frutas por inmersión es uno de los métodos más antiguos. Se practicó en China, con el propósito de retardar la transpiración en limones, naranjas y se sigue utilizando en pimentones, manzanas, peras, etc.¹³

La preservación de frutas secas se realiza con estas ceras. El cubrimiento con ceras naturales fundidas en la superficie de frutas y vegetales ayudan a prevenir la disminución de la humedad, específicamente durante los cambios de estación. La cera, las ceras parafinadas, la cera de candelilla (un aceite exudado de la planta de candelilla, originaria de USA y México), son algunas de las ceras preparadas y usadas en tales aplicaciones; ellas también son usadas como agentes de microencapsulación, específicamente para sustancias con olores y sabores a condimento.¹³

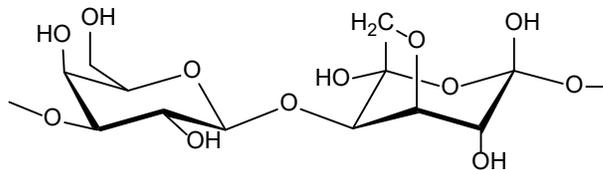
Los hidrocoloides de origen animal (colágeno/grenetina) y vegetal (agar-agar) se usan en algunas formulaciones específicas en el cubrimiento de algunos alimentos. Estos proveen una buena barrera al O₂ y CO₂, pero no al agua, sin embargo, tales películas se convierten en suplementos nutricionales en el recubrimiento del alimento. La proteína del suero de leche, cuando se procesa apropiadamente, produce una película flexible, pero frágil. Las películas son comestibles y se pueden producir por calentamiento a 85°C.¹³

2.9 Agar-agar

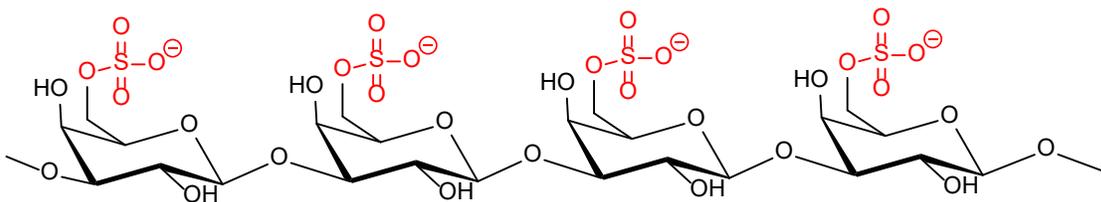
En su estado natural, el agar-agar se presenta como un carbohidrato estructural de la pared celular de las algas agarofitas, donde existe en la forma de sales de calcio o de una mezcla de sales de calcio y magnesio. Es una mezcla compleja de polisacáridos compuesta por dos fracciones principales: la agarosa, un polímero neutro, y la agarpectina, un polímero con carga sulfatado.¹⁴

La agarosa, fracción gelificante, es una molécula lineal neutra, esencialmente libre de sulfatos, que consiste en cadenas repetidas de unidades alternadas β -1,3 D-galactosa y α -1,4 3,6-anhidro-L-galactosa. La agarpectina, fracción no-gelificante, es un polisacárido sulfatado (3% a 10% de sulfato) compuesto de agarosa y porcentajes variados de éster sulfato, ácido D-glicurónico y pequeñas cantidades de ácido pirúvico. La proporción de estos dos polímeros varía de acuerdo con la especie del alga y la agarosa representa, normalmente, por lo menos dos tercios del agar-agar natural.¹⁴

AGAROSA



AGARPECTINA



*Figura 2.5 Estructura química de agar-agar. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/7080/1/905077.2012.pdf> Fecha de consulta: 10 de junio de 2019.*²³

El agar-agar es insoluble en agua fría pero se expande considerablemente y absorbe una cantidad de agua de hasta veinte veces su propio peso. La disolución en agua caliente es rápida y puede observarse la formación de un gel firme a concentraciones tan bajas como 0,50%. El agar-agar en polvo seco es soluble en agua y otros solventes a temperaturas de 95° a 100° C.¹⁴

La fracción gelificante del agar-agar posee una estructura de doble hélice. Esta estructura se reúne para formar una estructura tridimensional que retiene las moléculas de agua en sus intersticios y forma así, geles termorreversibles. La propiedad de gelificación del agar-agar es debida a los tres átomos de hidrógeno ecuatorial en los residuos de 3,6-anhidro-L-galactosa, que limitan la molécula para formar una hélice. La interacción de las hélices causa la formación del gel.¹⁴

En lo que se refiere al poder de gelificación, el agar-agar es notable entre los hidrocoloides. El gel de agar-agar puede ser obtenido en soluciones muy diluidas que contengan tan solamente una fracción de 0,5% a 1,0% de agar-agar. El gel es rígido, posee formas bien definidas y puntos de fusión y de gelificación precisos. Además, demuestra claramente los interesantes fenómenos de sinéresis (extrusión espontánea de agua a través de la superficie del gel en reposo) e histéresis (intervalo de temperatura entre las temperaturas de fusión y gelificación). La gelificación ocurre a temperaturas muy inferiores a la temperatura de fusión. Una solución de 1,5% de agar-agar forma un gel al ser enfriado a una temperatura de 32° a 45° C y la fusión de tal gel no ocurre a temperaturas inferiores a 85°C.¹⁴

La fuerza de gel del agar-agar es influenciada por los factores concentración, tiempo, pH y contenido de azúcar. El pH afecta notablemente la fuerza de gel del agar-agar: la disminución del pH disminuye la fuerza de gel. El contenido de azúcar también

tiene un efecto considerable sobre el gel de agar-agar, pues su aumento resulta en un gel con mayor dureza pero con menor cohesión.¹⁴

La viscosidad de una solución de agar-agar es influenciada y dependiente de la fuente de materia prima. La viscosidad a temperaturas superiores al punto de gelificación es relativamente constante entre los pH de 4,5 a 9,0 y no es muy afectada por edad o fuerza iónica dentro de la gama de pH de 6,0 a 8,0. Sin embargo, una vez iniciada la gelificación, a temperatura constante, la viscosidad aumenta con el tiempo.¹⁴

Una solución de agar-agar posee una carga levemente negativa. Su estabilidad depende de dos factores: hidratación y carga eléctrica. La eliminación de ambos factores resulta en la floculación del agar-agar.¹⁴

Las soluciones de agar-agar expuestas a altas temperaturas durante períodos prolongados pueden degradarse, lo cual resulta en la disminución de la fuerza de gel después de la disminución de la temperatura y de la formación de éste. Este efecto de disminución de la fuerza de gel es intensificado con la disminución del pH. Por lo tanto, debe evitarse la exposición de soluciones de agar-agar a altas temperaturas y pH menores de 6,0 durante períodos prolongados.¹⁴

El agar-agar en la forma seca no está sujeto a contaminación por microorganismos. Sin embargo, las soluciones y los geles de agar-agar son medios fértiles de contaminación por bacterias y hongos, y deben tomarse las debidas precauciones para evitar el crecimiento de microorganismos.¹⁴

2.10 Colágeno

Las películas de colágeno también son usadas tradicionalmente en la preparación de envolturas comestibles. El colágeno, es una proteína constituyente de los tejidos conjuntivos, como la piel, los tendones y el hueso, es la proteína más abundante del

organismo. Se caracteriza principalmente por su notable resistencia: una fibra de 1 mm de diámetro puede soportar una carga de 10 a 40 kg.¹⁵

El colágeno está constituido por un conjunto de tres cadenas polipeptídicas (1.000 aminoácidos por cadena), agrupadas en una estructura helicoidal.¹⁵

La glicina constituye la tercera parte de los aminoácidos de cada cadena, hecho único entre todas las proteínas del organismo. La unidad esencial del colágeno está constituida por tres cadenas de polipéptidos que aparecen entrelazadas formando una triple hélice, constituyendo una unidad macromolecular denominada tropocolágeno. A intervalos regulares se encuentran otros aminoácidos, la prolina y la hidroxiprolina, poco frecuentes en otras proteínas. La presencia de estos aminoácidos particulares permite que las tres cadenas se enrollen una alrededor de la otra formando una fibra muy resistente. Además, entre las cadenas se establecen puentes de hidrógeno que confieren al colágeno una gran estabilidad.¹⁵

Existen como mínimo cuatro tipos de colágeno genéticamente distintos, en función de la estructura de las cadenas polipeptídicas o cadenas alfa. La estructura helicoidal, responsable de la rigidez y la resistencia de las fibras, es específica de la molécula de colágeno.¹⁵

La gelatina resulta de una hidrólisis parcial del colágeno, produce una película flexible y gruesa y las propiedades mecánicas mejoran cuando se utiliza cloruro de sodio en concentraciones bajas.¹³

Actualmente, los embutidos como salchichas, se recubren con materiales derivados de la proteína (gelatina) o con materiales derivados de mezclas de quitosán y gelatina. Usualmente, películas de un grosor aproximado de 2.5mm, se fabrican por varios métodos y éstas estructuras membranosas delgadas son utilizadas para cubrir los alimentos o como medio de separación.¹³

Las películas de proteínas usualmente son transparentes, flexibles, resistentes al agua e impermeables al oxígeno. Pueden usarse en diversos productos alimenticios

para reducir la pérdida de humedad, restringir la absorción del oxígeno, disminuir la migración de lípidos, para mejorar las propiedades de manejo del alimento, proporcionar protección física o para ofrecer una alternativa a los materiales de embalaje actuales. Aunque las películas de proteínas son generalmente más débiles y tienen una menor elongación que las películas sintéticas, pueden ser empleadas como empaques individuales.¹³

2.11 Películas híbridas Proteína/Carbohidrato

Las proteínas y los polisacáridos generalmente forman películas con buenas propiedades mecánicas pero con propiedades de barrera pobres debido a su hidrofiliidad. Las películas de proteínas y polisacáridos al ser de naturaleza hidrofílica presentan elevada permeabilidad al vapor de agua que influye en la pérdida de calidad del alimento, sin embargo, pueden actuar como barrera efectiva al transporte de gases, como son el dióxido de carbono y el oxígeno.¹³

La elaboración de estas películas requiere al menos una molécula capaz de formar una matriz continua con cohesión adecuada. Un componente importante de las biopelículas es el plastificante, así como, el polímero formador de película.¹⁷

La adición de un agente plastificante se requiere para contrarrestar la fragilidad provocada por las elevadas fuerzas intermoleculares. Los plastificantes reducen estas fuerzas y aumentan la movilidad de las cadenas poliméricas, por lo tanto aumentan la flexibilidad y la extensibilidad de las películas. Los plastificantes son líquidos hidrofílicos de bajo peso molecular que reducen la interacción entre las cadenas poliméricas.¹⁷

La plastificación resulta de la capacidad de las moléculas de plastificante hidrofílico de compartir puentes de hidrógeno con la red polimérica. El resultado es un aumento de la movilidad de las cadenas de polímero, sin embargo, lleva a obtener películas

más flexibles, aunque con menor resistencia mecánica. Por otro lado, el aumento en la flexibilidad de la película también está acompañado por un aumento en su permeabilidad, que depende del tipo y del contenido de plastificante. Los plastificantes más comúnmente utilizados son los alcoholes polifuncionales, como el polietilenglicol, glicerol y sorbitol.¹⁶

2.12 Películas de Origen Bacteriano

El polihidroxibutirato (PHB) es un biopolímero termoplástico que posibilita la acumulación de CO₂, de tal manera que permite el control de atmósferas y el crecimiento de bacterias.¹³

El polihidroxicanoato (PHA) es otro biopolímero producido por *Pseudomonas aeruginosa* que produce excelentes películas para empaques y permite controlar el CO₂ durante el almacenamiento de frutas y verduras. Los polihidroxicanoatos (PHA) se consideran muy interesantes en el mundo de los materiales termoplásticos y elastoméricos porque, por un lado, se obtienen a partir de materias renovables y, por otro, porque son biodegradables. Esto les hace particularmente atractivos al contribuir al desarrollo sustentable.¹³

Los microorganismos que producen este tipo de plásticos se comportan como una fábrica de reciclaje de moléculas. En el ciclo productivo, sintetizan en primer lugar polihidroxicanoatos en determinadas condiciones y después los degradan.¹³

Un tercer producto es el polisacárido pululan que es secretado por el *Aureobasidium pullulans*, el cual es comercialmente usado como un hidrocoloide. Es un α-glucano que consiste en la repetición de maltotriosa residual. Es biodegradable, resistente a los aceites y grasas, tiene una excelente permeabilidad al oxígeno y no es tóxico.¹³



Figura 2.6 J. Ruiz (2004). Trozos de polihidroxi butirato (PHB) extraído de cultivos bacterianos. Iz656

3) Azotobacter sp FA8 crecida en medio mínimo con 3% de glucosa der) E. coli recombinante (contiene los genes estructurales pha de Azotobacter sp. FA8) crecida en medio mínimo con 2,5 % de lactosa. Recuperado de: https://www.researchgate.net/figure/Figura-5-Trozos-de-polihidroxi butirato-PHB-extraido-de-cultivos-bacterianos-izq_fig4_26616567 Fecha de consulta: 01 de noviembre de 2019.²⁴



Figura 2.7 (2018) Botellas biodegradables de polihidroxicanoatos. Recuperado de <http://biobotellas.blogspot.com/2017/07/los-polihidroxicanoatos.html> Fecha de consulta: 01 de noviembre de 2019.²⁵

2.13 Degradación

Un empaque biodegradable se define como un material que debe ser capaz de degradarse física, química, térmica y biológicamente, de tal manera que este material se descomponga en dióxido de carbono y agua. La biodegradación, es un proceso natural en el cual los compuestos orgánicos (polímeros naturales) en el ambiente se convierten en compuestos simples como carbono, nitrógeno y compuestos de azufre mediante la acción de microorganismos.¹⁸

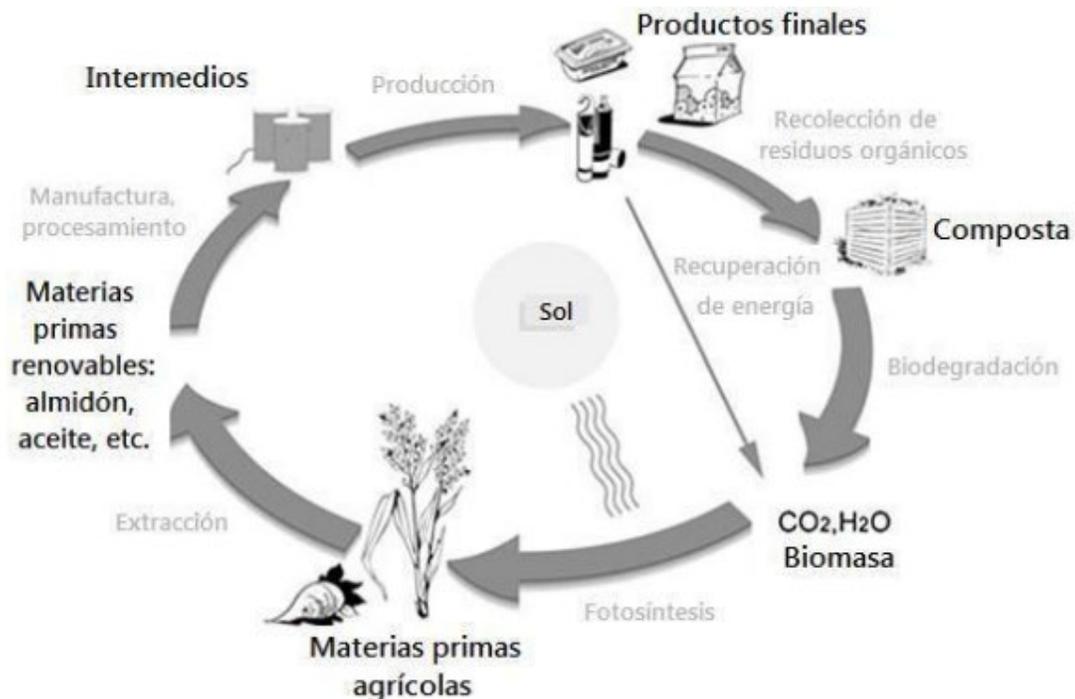


Figura 2.8 Siracusa, E. (2008) Ciclo Vital.²⁶

El empaque biodegradable ha ganado gran interés y el composteo se está convirtiendo en una opción más atractiva para el manejo de residuos. La velocidad de degradación depende de la temperatura, la humedad, el número y tipo de microorganismos. La degradación es rápida sólo si los tres requisitos están presentes. En la composta industrial los bioplásticos se convierten en masa, agua y dióxido de carbono alrededor de 6 a 12 semanas.¹

3. JUSTIFICACIÓN

Nuestro planeta es inmensamente rico en cuanto a la variedad de organismos vivos que continuamente generan productos químicos y materiales que son fuente de materias primas para el desarrollo de diversas industrias, desde las que podríamos considerar típicas de alimentos y textiles, hasta la farmacéutica, de energía y de materiales. El aprovechamiento eficiente y completo de un recurso natural renovable es lo que ha dado origen al relativamente moderno concepto de bio-recursos. Si bien, los primeros polímeros que los seres humanos aprovechamos eran de origen biológico, esto cambió rápidamente para dar lugar a los sintéticos basados en el petróleo. El ingenio humano consiguió desarrollar materiales con las diferentes propiedades mecánicas deseadas y con excelente durabilidad. Sin embargo, ese logro resultó ser problemático para el cuidado del medio ambiente y la estabilidad de los polímeros pasó de ser un bien buscado a un problema en busca de solución. Es por ésta razón que, se desarrollaron películas biodegradables, envases y envolturas a partir de polisacáridos y proteínas, las cuales pueden ser consideradas como alternativa para disminuir el uso de los polímeros sintéticos basados en el petróleo.

4. HIPÓTESIS

Es posible formar envolturas, contenedores y películas biodegradables a partir de fuentes naturales como agar-agar, grenetina, colágeno y glicerina. Debido a la

naturaleza de las materias primas, la envoltura o empaque proveerá de una buena barrera frente al O₂, por lo que se podría utilizar en alimentos tales como manzanas, frutos secos, aguacate y carne roja, los cuales son susceptibles a la oxidación.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Desarrollar películas biodegradables a partir de polisacáridos y proteínas.

5.2 Objetivos Particulares

1. Encontrar una formulación que permita desarrollar envolturas y películas biodegradables
2. Desarrollar envases biodegradables
3. Determinar los posibles usos en diferentes productos o alimentos

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Diagrama de elaboración de películas y contenedores

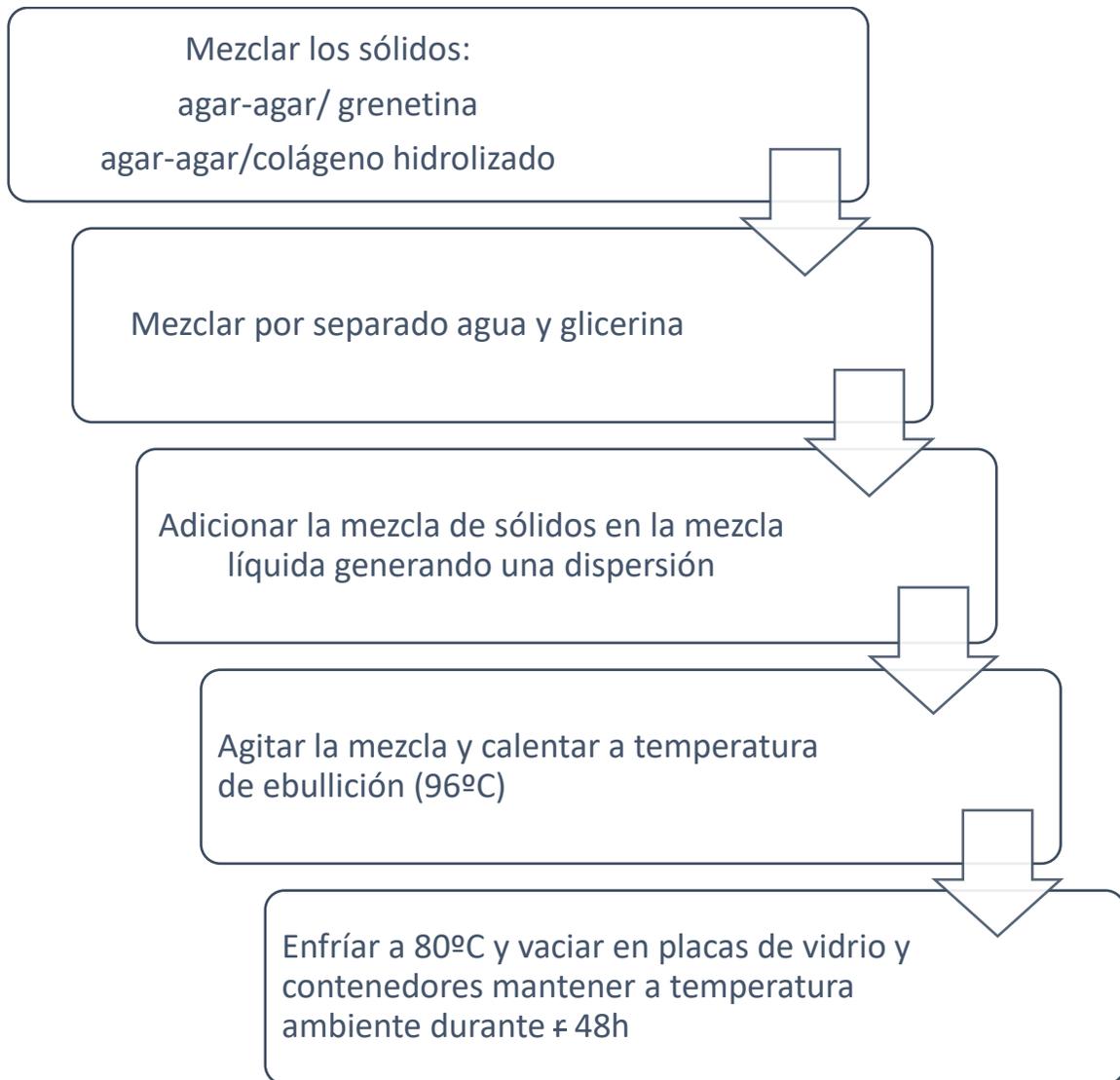
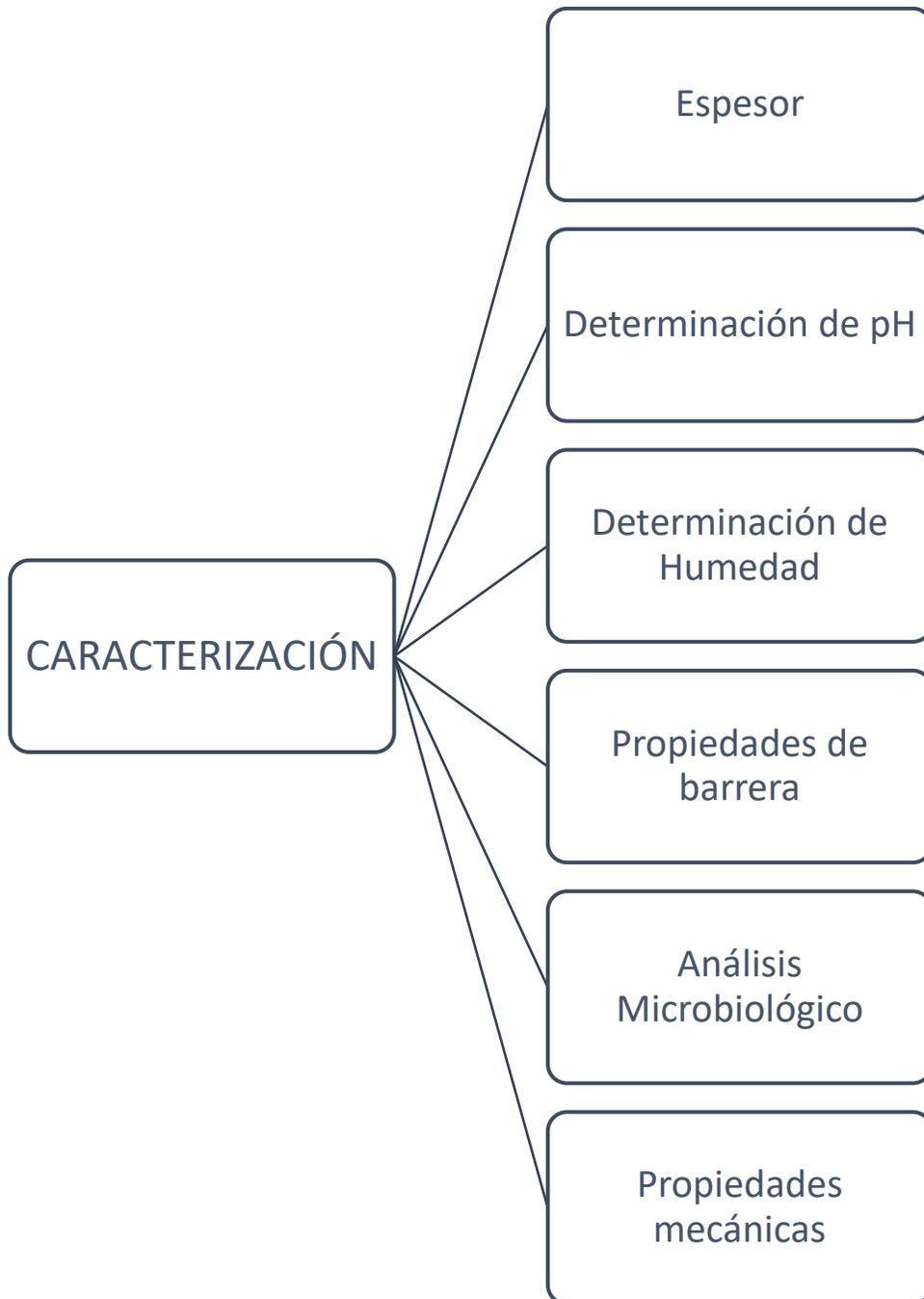


Diagrama de caracterización de las películas



Formación de películas, envolturas y contenedores

Se desarrollaron diferentes formulaciones a base de agar-agar /grenetina y posteriormente se desarrolló una formulación a base de agar-agar/colágeno hidrolizado.

6.1 Formulación agar-agar/grenetina

La película fue preparada mezclando 7.7% (m/v) de agar agar y 3.84% (m/v) de grenetina. Los sólidos se mezclaron y posteriormente se dispersaron en una disolución de glicerina en agua, formada por 8 mL y 18 mL respectivamente. Se agitó manualmente, de tal manera que todos los componentes se incorporaran. Posteriormente se llevó a ebullición (96° C) utilizando una parrilla eléctrica como fuente de calentamiento. Se dejó enfriar (88°C) y se vertió dicha mezcla en placas de vidrio (películas y envolturas) y moldes (envases)

6.2 Formulación agar-agar/colágeno hidrolizado

La película fue preparada mezclando 7.7% (m/v) de agar agar y 3.84% (m/v) de colágeno hidrolizado. Los sólidos se mezclaron y posteriormente se dispersaron en una disolución de glicerina en agua, formada por 8 mL y 18 mL respectivamente. Se agitó manualmente, de tal manera que todos los componentes se incorporaran. Posteriormente se llevó a ebullición (96° C) utilizando una parrilla eléctrica como fuente de calentamiento. Se dejó enfriar (88°C) y se vertió dicha mezcla en placas de vidrio (películas y envolturas) y moldes (envases)

Acondicionamiento

Las películas y envases se dejaron reposar a temperatura ambiente por 48 h.

Determinación de humedad

Se realizó un análisis gravimétrico para determinar la humedad por medio de la pérdida de masa de la muestra hasta peso constante a una temperatura de 60 °C. El proceso se efectuó al vacío. El análisis se realizó por triplicado, con muestras de alrededor de 5g cada una, para la formulación de agar-agar/grenetina y agar-agar/colágeno hidrolizado.

Medición del espesor

El espesor de las películas fue medido con un Vernier en posiciones aleatorias en el perímetro y centro de la película.

Determinación de propiedades Mecánicas y de barrera

Las propiedades mecánicas evaluadas fueron resistencia a la elongación y dureza

6.3 Dureza

La medición se llevó a cabo en películas de 20 x 20 cm con un espesor de 2 mm. Se realizaron 6 lecturas presionando durante 10 segundos un durómetro tipo A (Escala Shore) en posiciones aleatorias dentro del área de la película.

Tipo A: Penetrador en forma de varilla para plásticos blandos. Se aplica una fuerza de 12.5 N. La escala de dureza va de 0 a 100.

6.4 Resistencia a la elongación

Se realizó ésta prueba en un tensiómetro, el cual está conectado a una balanza electrónica portátil, que brinda información en tiempo real del comportamiento de

la película durante esta prueba. La medición se realizó en películas de 3 cm de ancho, con espesores de 1 mm.

6.5 Propiedades de barrera

Análisis cualitativo permeabilidad de O₂

Se colocaron películas de las formulaciones de agar-agar / grenetina y agar-agar/ colágeno hidrolizado sobre rodajas de manzana y aguacate, utilizando un testigo, es decir, los dos alimentos (manzana y aguacate) sin recubrimiento y expuestos a la corriente de aire.

Determinación de pH

6.6 Papel indicador

Las tiras de papel indicador fueron sumergidas en ambas formulaciones por después de llevarlas a ebullición.

6.7 Electrodo de Waterproof

El electrodo de Waterproof fue sumergido en un recipiente con agua, en donde se encontraban las películas previamente.

6.8 Análisis microbiológico

Se realizó la determinación de mesófilos aerobios, mohos y levaduras por metodología tradicional cuenta en placa, determinación de coliformes por Número

Más Probable (NMP), y determinación de *Salmonella spp* por métodos rápidos (Placa Petrifilm® 3m SALX)

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ésta sección se describen los resultados obtenidos en el desarrollo de la formulación para la obtención de películas, envolturas y contenedores.

Desarrollo de la formulación

TABLA 1 *Variación de la concentración de agar-agar*

Formulación	Agar- agar (% m/v)	T disolución (°C)	Observaciones
A	0.4		
B	0.5		
C	0.6		
D	0.7	Ebullición (92°C)	Gel altamente hidratado, transparente, quebradizo y frágil al manipular
E	1.0		
F	1.5		
G	2.0		
H	2.5		

El gel de agar-agar se puede preparar en soluciones muy diluidas que contengan tan solo una fracción de 0,5% a 1,0% de agar-agar. Como se observa en la tabla anterior, los geles obtenidos se agrietan y se resquebrajan durante su manipulación, por lo tanto se descartan dichas formulaciones para la elaboración de películas, contenedores y envolturas.

Una técnica habitual para mejorar la flexibilidad y extensibilidad de las películas es

Formulación	Agar-agar (%m/v)	Glicerina (mL)	Agua (mL)	T ebullición (°C)	Observaciones
A	10	35	35	95	
B	5.71	35	35	94	Gel quebradizo al manipular
C	5	35	35	94	
D	4.3	35	35	94	
E	9.26	20	18	95	Gel ligeramente flexible al tacto
F	9.26	9	18	95	Gel flexible al tacto, buena manipulación
G	7.7	8	18	95	Gel flexible al tacto, buena manipulación

agregando un agente plastificante, por tal motivo se incorporó glicerina a nuevas formulaciones de agar-agar.

TABLA 2 Formulaciones *con agar- agar y glicerina*

Como se muestra en la tabla anterior, debido a la adición de glicerina, mejoraron las características del gel, las formulaciones F y G presentan mejores características mecánicas durante su manipulación

A partir de las observaciones anteriores, se tomó como referencia la formulación G y se incorporó grenetina, esto con el fin de generar envolturas, películas y

Formulación	Agar-agar (%m/v)	Glicerina (mL)	Agua (mL)	Grenetina (%m/v)	T ebullición (°C)	Observaciones
A	7.7	8	18	4.8	96	Gel flexible al tacto, transparente
B	7.7	8	18	3.84	96	Gel flexible y elástico al tacto, transparente
C	7.7	8	18	1.92	96	Gel flexible al tacto, transparente

contenedores con mejores propiedades mecánicas (dureza, extensibilidad, flexibilidad) al tacto.

TABLA 3 Formulaciones con agar-agar, grenetina y glicerina

Como se observa en la tabla anterior, al adicionar la grenetina a la formulación base (G: 7.7 de agar-agar + 8 de grenetina) se observaron mejores propiedades mecánicas al tacto, en cuanto a flexibilidad y elasticidad.

Los geles se dejaron reposar durante 48 horas en placas de vidrio a temperatura ambiente, al enfriarse se endurecieron y su consistencia “gelatinosa” desapareció dando lugar a una estructura más flexible y elástica al manipular.

Al comparar las nuevas formulaciones A, B y C se determinó que la formulación B es mejor en cuanto a su desmolde, manipulación, flexibilidad y elasticidad al tacto, por lo cual se tomó como referencia para desarrollar una nueva formulación, en la cual se sustituyó la grenetina, por el uso de colágeno hidrolizado, respetando las proporciones de los componentes de la formulación B.

TABLA 4 *Formulaciones con agar-agar, colágeno hidrolizado y glicerina*

Formulación	Agar-agar (%m/v)	Glicerina (mL)	Agua (mL)	Colágeno (%m/v)	Temperatura ebullición (°C)	Observaciones
B1	7.7	8	18	3.84	96	Gel flexible, elástico al tacto, transparente, de textura pegajosa

Formación de películas y contenedores

Se prepararon las formulaciones B y B1, se llevaron a ebullición y posteriormente las mezclas se vaciaron en placas de vidrio para la formación de las películas y en un molde para la formación de vasos.



Figura 7.1 Película formulación B1

Figura 7.2 Película formulación B

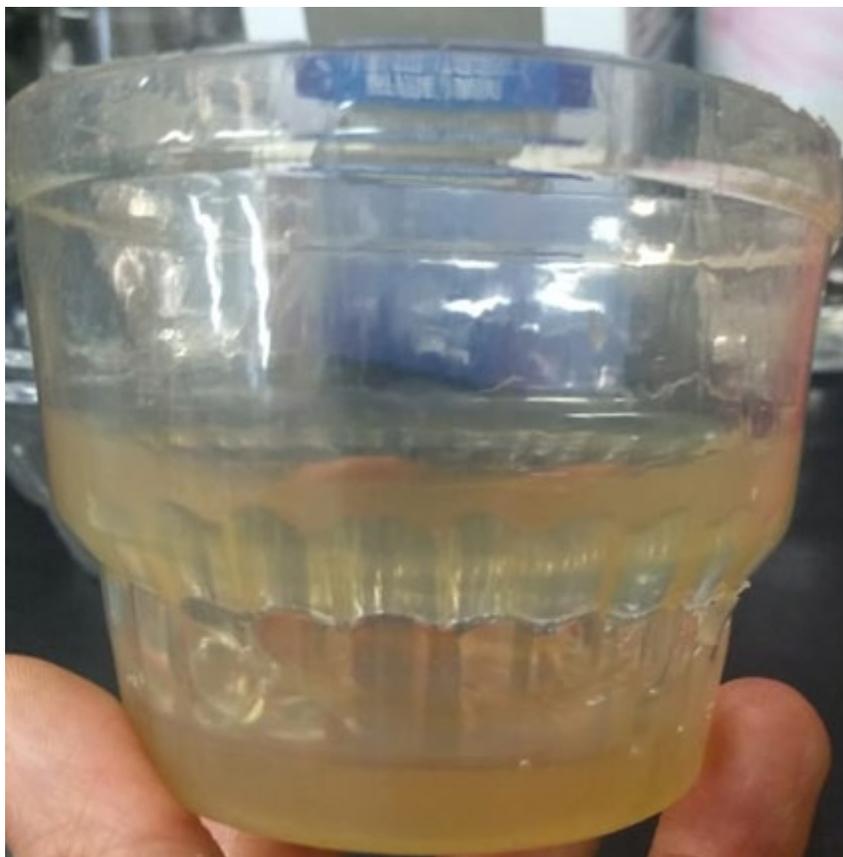


Figura 7.3 Vaso formulación B

Acondicionamiento

Se observó que al preparar las películas y contenedores, éstos eran frágiles y quebradizos durante su manipulación. Sin embargo, cuando se dejaron expuestos a temperatura ambiente y después de que se dejaron secar durante 48 horas, se observaron elásticas y flexibles durante su manipulación.

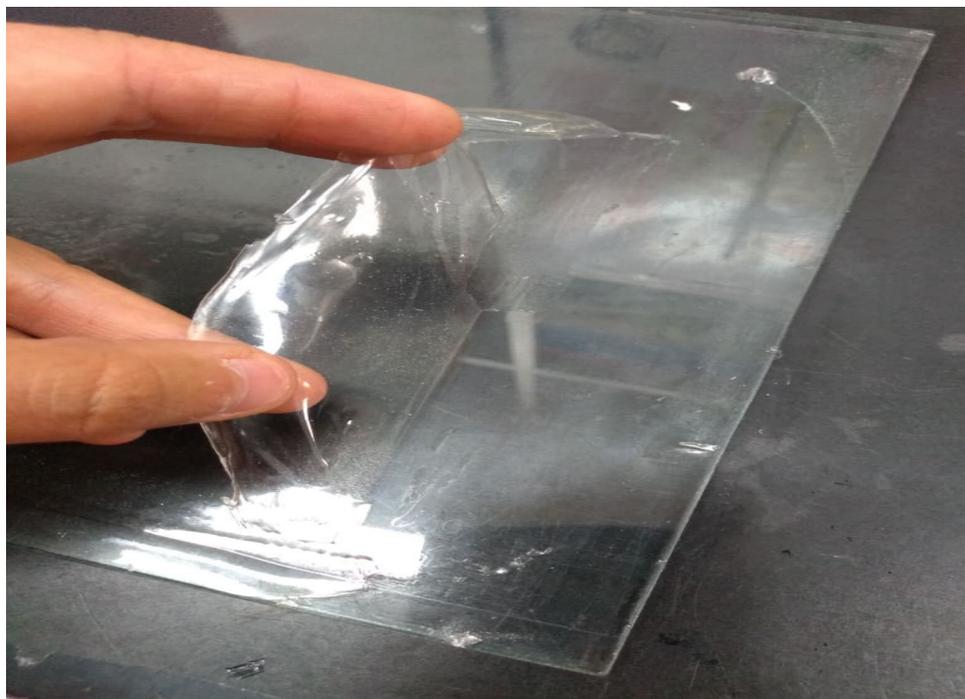


Figura 7.4 Acondicionamiento formulación B1



Figura 7.5 Acondicionamiento formulación B

Caracterización de la Formulación

Determinación de Humedad

Se realizó el análisis gravimétrico de dos películas, cuyas formulaciones fueron B y B1

TABLA 4 *Análisis Gravimétrico formulación B (Estufa a vacío 60 °C)*

Tiempo (min)	Muestra A (g)	Muestra B (g)	Muestra C (g)
0	5.1861	5.4365	5.3032
1440	4.1118	4.3161	4.2043
2880	3.6696	3.8464	3.7521

4320	3.3598	3.5217	3.4354	Promedio
5760	3.3208	3.4812	3.3955	35.98%
7200	3.3200	3.4809	3.3948	humedad
% H	36	35.97	35.98	

$$\begin{aligned}
 \text{Ejemplo de Cálculo \% Humedad} &= \frac{\text{Masa Húmeda} - \text{Masa seca}}{\text{Masa Húmeda}} \\
 &= \frac{5.1861 - 3.3200}{5.1861} \times 100 = 36\% \text{ humedad}
 \end{aligned}$$

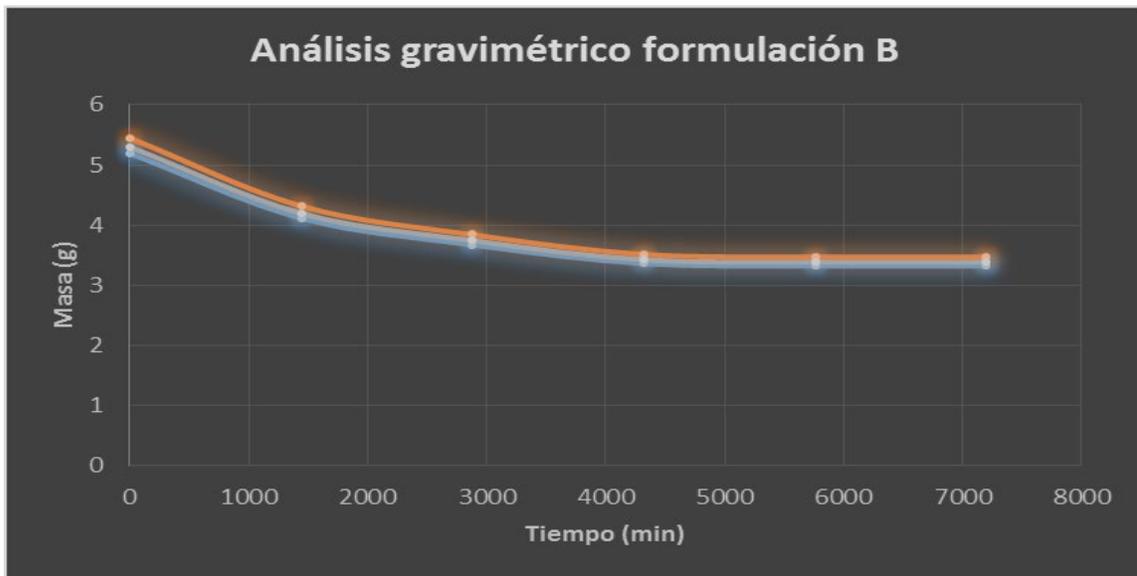


Figura 7.6 Gráfica de análisis gravimétrico formulación B

TABLA 5 Análisis Gravimétrico formulación B1 (Estufa a vacío 60°C)

Tiempo (min)	Muestra A (g)	Muestra B (g)	Muestra C (g)
--------------	---------------	---------------	---------------

0	5.1003	5.1530	5.2040	
1440	4.3567	4.3217	4.4563	
2880	3.9365	3.9687	3.9987	
4320	3.3798	3.3945	3.4123	Promedio
5760	3.3243	3.3654	3.3975	34.87%
7200	3.3200	3.3603	3.3901	Humedad
% H	35	34.78	34.85	

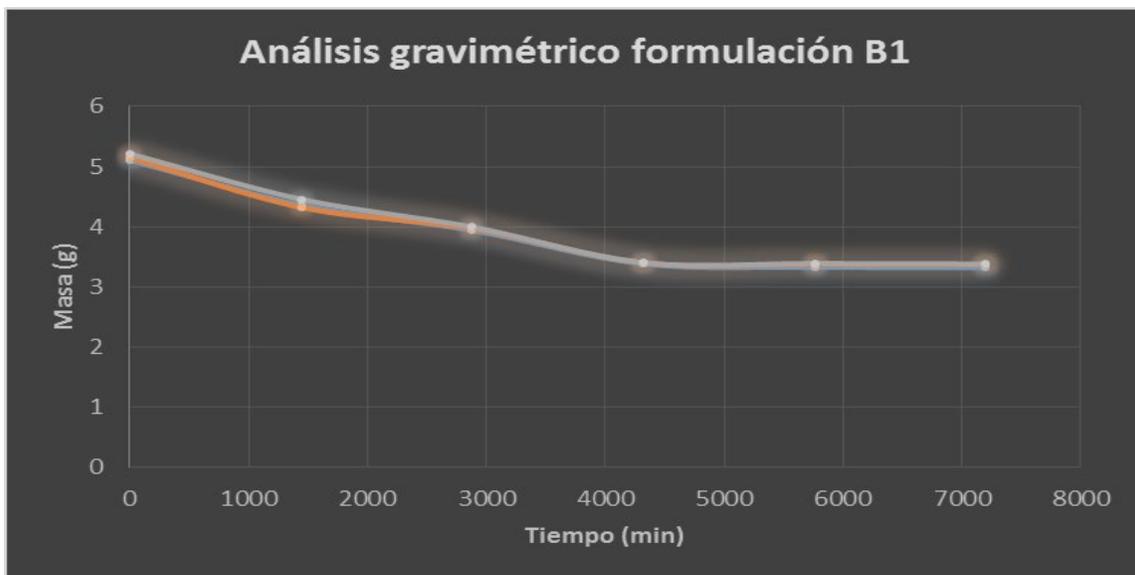


Figura 7.7 Gráfica de análisis gravimétrico formulación B1

El % de humedad que presenta la formulación B y B1 es 35.98% y 34.87% respectivamente.

La distribución del agua en la matriz de la película no es homogénea, puede encontrarse como agua de hidratación, es decir, se encuentra unida a componentes como proteínas o carbohidratos. Como agua libre, la cual está disponible para las reacciones y para el crecimiento microbiano y es la primera que se liberó en el proceso de secado. Finalmente se encuentra como agua adsorbida formando una monocapa en la superficie de la película.²⁷

La determinación de humedad en las películas es de suma importancia, ya que este factor influye en la calidad del producto a envasar y brinda información útil acerca de los productos que puede proteger o envasar.

Determinación de pH

TABLA 5 *Determinación de pH*

Instrumento	Formulación B	Formulación B1
Papel indicador	pH= 7	6
Electrodo Waterproof	pH=7.1	6.3

Se sabe que, la disminución de la fuerza de los geles de agar - agar es intensificado con la disminución de pH. La estabilidad del gel disminuye a valores de pH menores a 6. El valor de pH obtenido en la determinación es 7 y 7.1 en la formulación B; y 6 y 6.3 en la formulación B1, por lo tanto, estos valores de pH no deben de modificar la estabilidad de la película.

Espesor

TABLA 6 Espesor de las películas

Película	Espesor
Agar-agar	1 mm
Agar-agar/grenetina	1 mm
Agar-agar/colágeno	1 mm

No se encontró diferencia en el espesor de las películas.

Determinación de las propiedades mecánicas y de barrera de las películas

Las propiedades que describen la forma en que un material responde a la aplicación de una fuerza (particularmente su comportamiento bajo cargas mecánicas) son llamadas propiedades mecánicas. Estas propiedades son útiles en el diseño y producción de empaques, transporte, distribución, así como la predicción de la vida de anaquel del producto.¹⁸

Determinación de Dureza

TABLA 6 *Determinación de dureza Escala Shore A*

Determinación	Valor de Dureza	
	Formulación B	Formulación B1
1	44	52
2	44	54
3	41	53
4	38	52
5	46	54
6	43	56
PROMEDIO	42.6	53.5

Como se observa en la tabla anterior, la dureza es variable en casi toda el área de las películas hechas a partir de la formulación B y B1, la distribución de los componentes no es estrictamente homogéneo.

La dureza es una propiedad de los materiales que expresa la resistencia a la deformación. La dureza de las películas es de 42.6 y 53.5 en una escala de 0 a 100.

Comparando los resultados de ambas formulaciones se observa que, la formulación B1 a base de agar-agar y colágeno hidrolizado presenta mayor resistencia a la deformación.

Resistencia a la elongación

TABLA 7 Determinación de la resistencia a la elongación

Película	Tiempo de fractura (s)	Elongación (cm)	Espesor (mm)	Ancho (cm)	Resistencia Kg/cm
Agar-agar	14	0.5	1	3	0.05

Agar- agar/grenetina	27.6	1.4	1	3	0.103
Agar- agar/colágeno	32	1.81	1	3	0.26

Durante el desarrollo de ésta prueba, se observó un comportamiento variable en las distintas formulaciones.

Las formulaciones no presentan una deformación considerable antes de llegar al punto máximo de quiebre o fractura, sin embargo la película de agar-agar/colágeno resultó más resistente, debido a que se requiere un mayor esfuerzo para su quiebre y puede soportar una carga de 0.26 kg/cm de película.

Por lo tanto, las películas de agar-agar/colágeno son más flexibles y más resistentes a la fractura por elongación.

Propiedades de barrera frente al Oxígeno



Análisis Microbiológico

Se realizó la determinación de mesófilos aerobios, mohos y levaduras por metodología tradicional cuenta en placa, determinación de coliformes por Número Más Probable (NMP), determinación de *Salmonella* spp por métodos rápidos (Placa Petrifilm® 3m SALX)

Reporte de Resultados (Ver Anexo)

Fecha de análisis 14/11/18

Fecha de reporte 20/11/18

Muestra o unidad de prueba Película elaborada con agar-agar, grenetina y glicerina

Características Película transparente, sin color y sin aroma. Textura ligera y adhesiva.

Peso 40 g

pH 7.2

NOM que aplica
No aplica

Determinaciones realizadas Mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes por NMP y *Salmonella* spp.

Metodología Determinación de mesófilos aerobios, mohos y levaduras por metodología tradicional cuenta en placa, determinación de coliformes por Número Más Probable (NMP), determinación de *Salmonella* spp por métodos rápidos (Placa Petrifilm® 3m SALX)

Resultados

Mesófilos aerobios 15 UFC/25 cm² de película, v.e. (valor estimado)

Mohos y levaduras 50 UFC/25 cm², v.e. (valor estimado)

***Salmonella* spp** *Salmonella* ausente en 25 g de película de grenetina

Coliformes por NMP < 3 NMP/25 cm²

Aunque no hay especificaciones microbiológicas en NOM para superficies en contacto con alimentos, se puede considerar la recomendación de Torstein y Rosnes (2016) que establecen como límite para mesófilos aerobios, 100 UFC/50cm².¹⁹

Considerando el resultado obtenido en mesófilos aerobios (que equivaldría a 30 UFC/50cm²), así como los resultados de coliformes y Salmonella, se concluye que la película es microbiológicamente inocua, adecuada para uso en alimentos.

En cuanto a mohos y levaduras, no se han encontrado especificaciones para materiales en contacto con alimentos, pero la cuenta es relativamente baja.

Biodegradabilidad

Dado que las formulaciones fueron elaboradas a partir de polímeros naturales, se puede llevar a cabo la biodegradación, un proceso natural en el cual los compuestos orgánicos se convierten en dióxido de carbono, agua, y compuestos simples de nitrógeno y azufre mediante la acción de microorganismos.

Se fabricaron contenedores usando como base la formulación B, dichos contenedores estuvieron expuestos a las condiciones ambientales. En la **figura 7.11** se observa cómo va perdiendo su forma, hasta reducirse y deshidratarse.



Figura 7.11 Contenedores biodegradables. Izquierda a derecha: a) 6 meses, b) 9 meses, c) 1 año

CONCLUSIONES

- 1.** Se obtuvieron películas transparentes de agar-agar, agar-agar/grenetina y agar-agar/colágeno plastificadas con glicerol.
- 2.** La formulación que presenta mejores características mecánicas está hecha a base de *7.7% (m/v) de agar- agar y 3.84% (m/v), 18 mL de agua y 8 mL de glicerina. (Formulación B1)*
- 3.** Las características de las películas son diferentes en cuanto a su dureza, flexibilidad y resistencia a la elongación, siendo la Formulación B1 la que presenta mejores propiedades.
- 4.** En la prueba de resistencia a la deformación, todas las películas resultaron poco resistentes a la fractura, comparadas con los polímeros de origen sintético.
- 5.** Considerando el resultado obtenido en mesófilos aerobios (que equivaldría a 30 UFC/50cm²), así como los resultados de coliformes y Salmonella, se concluye que la película es microbiológicamente inocua, adecuada para uso como envolturas en productos y alimentos.
- 6.** Las películas a partir de agar-agar/grenetina tienen potencial como empaque en alimentos, aunque las propiedades mecánicas no sean comparables con las de los polímeros sintéticos, se pueden realizar modificaciones químicas para mejorar sus propiedades mecánicas y de barrera.

7. Se pueden realizar estrategias de mejora, como las mezclas con otros polímeros, mejorando las propiedades de cada biopolímero y compatibilidad entre distintas fases poliméricas
8. Las ventajas al utilizar este tipo de material (agar-agar) es su abundancia en la naturaleza, además de que es económico.
9. Las películas y contenedores fueron producidos con recursos renovables y tienen la posibilidad de un segundo uso como composta.

BIBLIOGRAFÍA

1. MacArthur, E .Foundation and McKinsey & Company The New Plastics Economy Rethinking the future of plastics January 2016
2. Waringa, R.M. Harrisa, S.C. (2018) Plastic contamination of the food chain: A threat to human health? *Mauritas* ,64-68.
3. Gurgel, D. Systematics of the Gracilariales (Rhodophyta) including new subfamilies, tribes, subgenera, and two new genera, *Agarophyton* gen. nov. and *Crassa* gen. nov. [En línea]Recuperado de:

<http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.374.1>. (Último acceso el día 15 de agosto)

4. Ferguson, B. (2018) Programa de las Naciones Unidas para el medio ambiente. Un problema doble: el plástico también emite potentes gases de efecto invernadero. [En línea] Recuperado de: <https://www.unenvironment.org/es/news-and-stories/reportajes/un-problema-doble-el-plastico-tambien-emite-potentes-gases-de-efecto>. (Último acceso el día 15 de agosto de 2019)
5. Santillán, M. (2018). Una vida de plástico. Ciencia UNAM. [En línea]. Recuperado de: <http://ciencia.unam.mx/leer/766/una-vida-de-plastico>. (Último acceso el día 04 de agosto de 2019).
6. McNaughton, C. (2018). El estado de los plásticos: perspectiva del día mundial del medio ambiente. [En línea] Recuperado de: https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/25513/state_plastics_WED_SP.pdf?sequence=5&isAllowed=y. (Último acceso el día 10 de agosto de 2019)
7. Martínez, A. Hernández, J. (2004). Las nubes, la vida y el mar. Ciencias 76, octubre-diciembre, 72-77. [En línea] Recuperado de: <https://www.revistaciencias.unam.mx/es/77-revistas/revista-ciencias-76/616-las-nubes-la-vida-y-el-mar.html>. (Último acceso el día 05 de agosto de 2019)

8. Maldonado, A. (2012) La complejidad de la problemática ambiental de los residuos plásticos. [En línea]. Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/7080/1/905077.2012.pdf>. (Último acceso el día 20 de julio de 2019).
9. Jiménez, E. (2018) La Tierra marca un nuevo récord histórico de gases que cambian el clima. [En línea]. Recuperado de: <https://www.lavanguardia.com/natural/20181122/453091108556/boletin-organizacion-meteorologica-mundial-record-co2-gases-cambio-climatico.html>. (Último acceso el día 10 de agosto de 2019).
10. Gennadios, A. & Weller, C. (2000) Eddible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technology* 63-65.
11. Tharanathan, R. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Food Science and Technology*: 14-16
12. Devis, A. Gallur, M. (2013) Bioplásticos: últimas tendencias en el envase alimentario. [En línea]. Recuperado de: <http://www.packaging.enfasis.com/articulos/66904-bioplasticos-ultimas-tendencias-el-envase-alimentario>. (Último acceso el día 10 de agosto de 2019)
13. Ruiz, A. López N. (2004) Bioplásticos: Una alternativa ecológica. *Química viva*. Vol. 3. Argentina. [En línea]. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/26616567_Bioplasticos_una_alternativa_ecologica. (Último acceso el día 29 de octubre de 2019)

14. Armisén, R. & F. Galatas. 1987. Production, properties and uses of agar: 1-57. In: OJ. McHugh (ed.), Production and utilization of products comercial Seaweeds. FAO Fish. Tech. Papo 288.
15. Bigi, A., Panzavolta, S., Rubini K. (2004) Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. *Biomaterials* 25: 5675–5680.
16. McHugh, T.H., Krochta, J.M. (1994) Sorbitol vs. glycerol plasticized whey protein edible film: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42: 841–845.
17. Krochta, J. (2008). Termoplastic processing of proteins for film formation. *Journal of Food Science* 73-75.
18. Sun-Lee, D. (2008) Food packaging science and technology
19. Torstein, S., J.T. Rosnes. 2016. Emerging Methods and Principles in Food Contact Surface Decontamination/Prevention, in *Innovation and Future Trends in Food Manufacturing and Supply Chain Technologies*. Science Direct. (En línea) Disponible en: https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/food-contact-surfaces_ (Último acceso el día 29 de noviembre de 2018).

20. Camporesi, M. (2018) Esta es la razón por la cual los animales marinos comen plástico [En línea] Disponible en: https://www.bioguia.com/ambiente/razon-animales-marinos-comen-plastico_30242195.html (Último acceso el día 20 de junio 2019)
21. Películas plásticas flexibles [En línea] Disponible en: <http://www.plastipren.com.ar/> (Último acceso el día 15 de noviembre de 2019)
22. Estructura química de la carboximetilcelulosa. [En línea] Disponible en: <https://www.lifeder.com/carboximetilcelulosa/> (Último acceso el día 10 de septiembre de 2019)
23. Estructura química de agar-agar. [En línea] <http://www.bdigital.unal.edu.co/7080/1/905077.2012.pdf> (Último acceso el día 10 de junio de 2019)
24. J. Ruiz (2004). Trozos de polihidroxitirato (PHB) extraído de cultivos bacterianos. [En línea] Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/Figura-5-Trozos-de-polihidroxitirato-PHB-extraido-de-cultivos-bacterianos-izq_fig4_26616567. (Último acceso el día 01 de noviembre de 2019)

25. Botellas biodegradables de polihidroxialcanoatos. [En línea] Disponible en: <http://biobotellas.blogspot.com/2017/07/los-polihidroxialcanoatos.html>. (Último acceso el día 01 de noviembre de 2019)
26. Siracusa, E. (2008) Ciclo Vital
27. Badui Dergal, Salvador. Química de los alimentos, Cuarta edición. Pearson Educación, México 2006. Pág 15.

ANEXOS

Reporte de Resultados

Análisis de Película experimental desarrollada como tema de Estancia Estudiantil de la carrera Química de Alimentos.

Alumno: Gabriela Itzel Cruz Martínez, gaby_tzn14@hotmail.com

Tutor académico: Dr. Carlos Antonio Rius Alonso, riusal@hotmail.com

Fecha de análisis 14/11/18

Fecha de reporte 20/11/18

Muestra o unidad de prueba Película elaborada con agar-agar, gretina y glicerina

Características Película transparente, sin color y sin aroma. Textura ligera y adhesiva.

Peso 40 g **pH** 7.2

NOM que aplica No aplica

Determinaciones realizadas Mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes por NMP y *Salmonella* spp.

Metodología Determinación de mesófilos aerobios, mohos y levaduras por metodología tradicional cuenta en placa, determinación de coliformes por Número Más Probable (NMP), determinación de *Salmonella* spp por métodos rápidos (Placa Petrifilm® 3m SALX)

Resultados

Mesófilos aerobios 15 UFC/25 cm² de película, v.e.

Mohos y levaduras 50 UFC/25 cm², v.e.

***Salmonella* spp** *Salmonella* ausente en 25 g de película de gretina

Coliformes por NMP < 3 NMP/25 cm²

Observación al microscopio Las colonias de mesófilos aerobios son pequeños cocos Grampositivos.

v.e.: valor estimado

Conclusión:

Aunque no hay especificaciones microbiológicas en NOM para superficies en contacto con alimentos, se puede considerar la recomendación de Torstein y Rosnes (2016) que establecen como límite para mesófilos aerobios, 100 UFC/50cm².

Considerando el resultado obtenido en mesófilos aerobios (que equivaldría a 30 UFC/50cm²), así como los resultados de coliformes y Salmonella, se concluye que la película es microbiológicamente inocua, adecuada para uso en alimentos.

En cuanto a mohos y levaduras, no se han encontrado especificaciones para materiales en contacto con alimentos, pero la cuenta es relativamente baja.

Resultados para Control Interno

Mesófilos aerobios, en agar cuenta estándar incubados por 24 h a 35 °C ± 2 °C

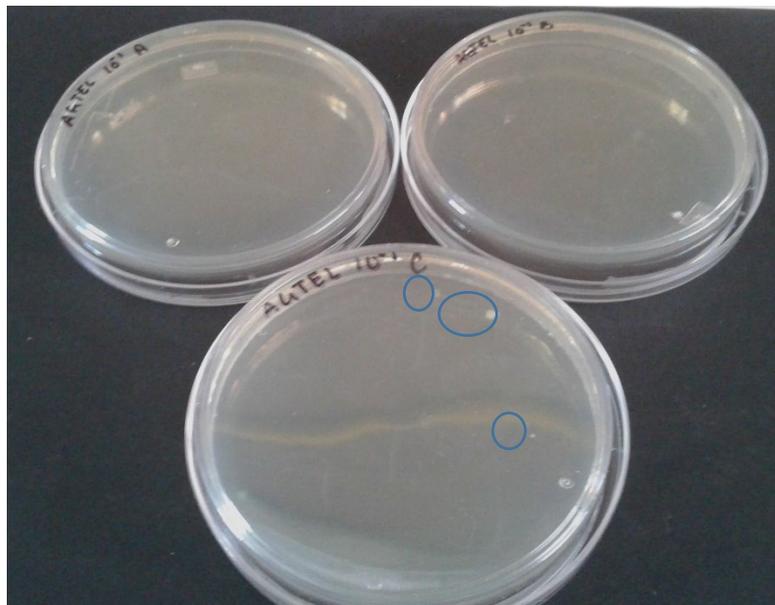
Duplicado	Dilución		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
A	0	0	1
B	0	0	1
C	3	0	0
Promedio	15 UFC/g v.e.	-	-
Resultado	15 UFC/g v.e. mesófilos aerobios en película de grenetina		

Mohos y levaduras, en agar PDA incubados por 5 días a 28 °C ± 2°C

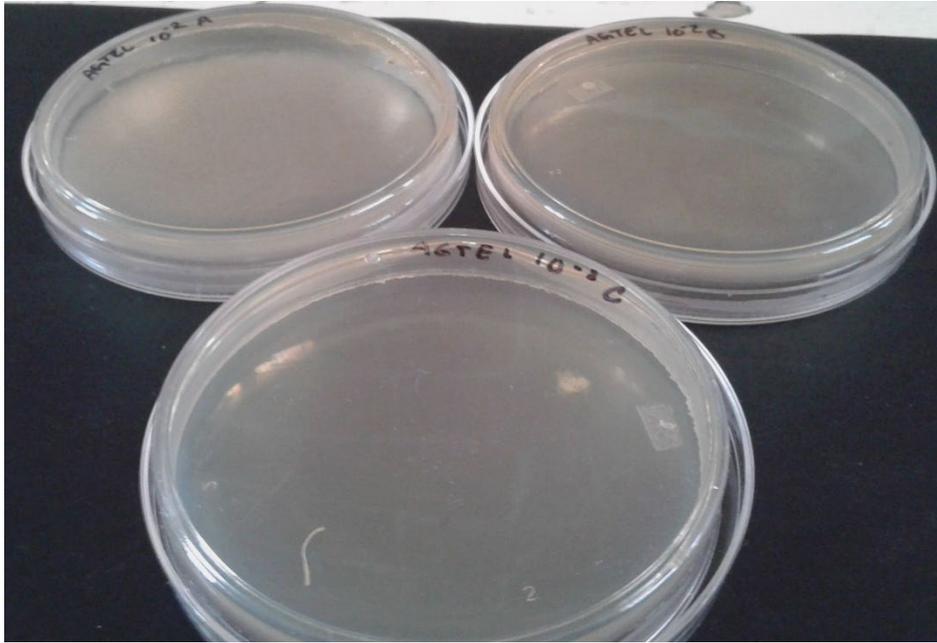
Duplicado	Dilución		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
A	0	0	0
B	0	1	0

C	0	0	0
Promedio	-	50 UFC/g v.e	-
Resultado	50 UFC/ g v.e. mohos y levaduras en película de grenetina		

Evidencia



Determinación mesófilos aerobios en placas con agar cuenta estándar dilución 10^{-1} por triplicado. 3 UFC/g en duplicado C.



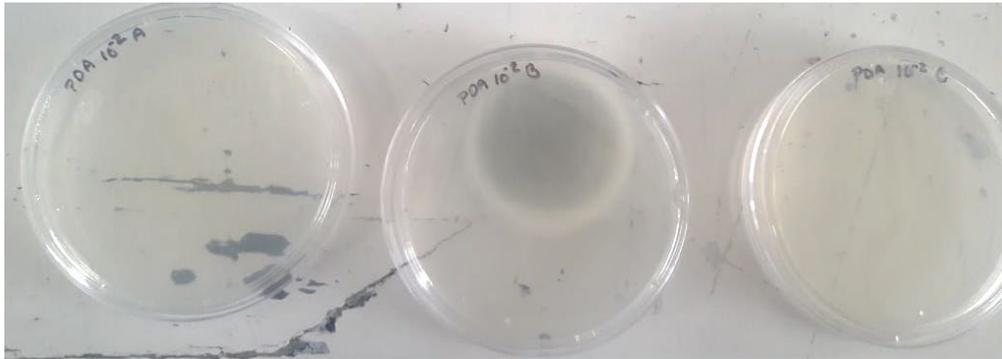
Determinación mesófilos aerobios en placas con agar cuenta estándar dilución 10^{-2} por triplicado. No hay recuento en ningún duplicado.



Determinación mesófilos aerobios en placas con agar cuenta estándar dilución 10^{-3} por triplicado. 1 UFC/g en cada duplicado.



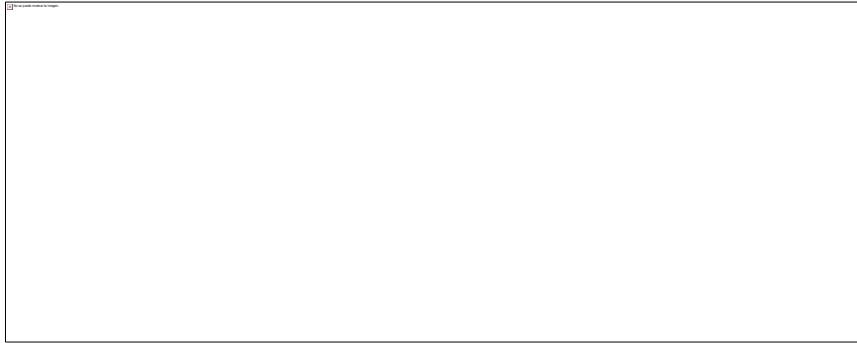
Placas petri con agar PDA, dilución 10^{-1} por triplicado sin recuento en ninguno de ellos.



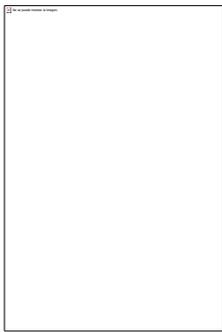
Placas petri con agar PDA, dilución 10^{-2} por triplicado, solo hay recuento de 1 UFC/g mohos y levaduras en duplicado B.



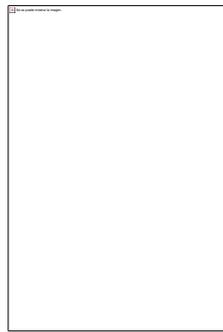
Placas petri con agar PDA, dilución 10^{-1} por triplicado sin recuento en ninguno de ellos.



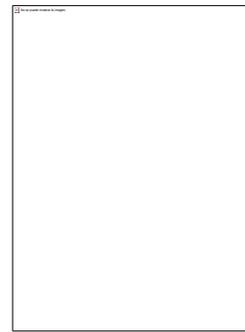
Determinación *Salmonella* spp en Placa Petrifilm® 3M SALX, Duplicado a y duplicado B.
Resultado: *Salmonella* spp ausente en 25 g de película



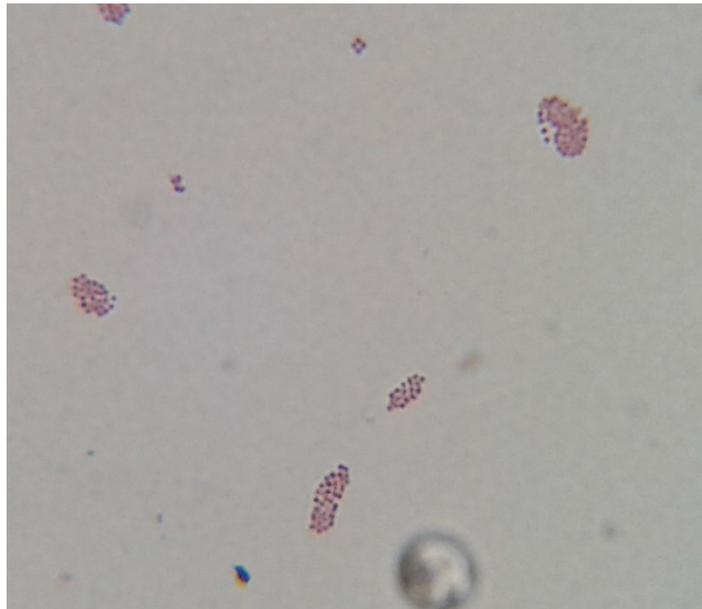
**NMP serie 1, 10mL,
CLSS 2X**



**NMP serie 2, 1 mL
CLSS 1X**



**NMP serie 3, 0.1 mL
CLSS 1X**



Observación al microscopio aumento 100X, Tinción de Gram de colonias cultivadas en agar cuenta estándar dilución 10^{-1} , duplicado C