

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

---



---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA**

**ELABORACIÓN DE PELICULAS ANTIMICROBIANAS PARA ALARGAR LA  
VIDA DE ANAQUEL DE LA CARNE DE RES UTILIZANDO QUITOSANO,  
ALMIDÓN DE MAÍZ Y ACEITES ESENCIALES COMO AGENTES  
ANTIMICROBIANOS**

**POR:**

**L.N. MARIA MAGDALENA DIAZ SANTOS**

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO**

**NOVIEMBRE DEL 2023**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
**CHIHUAHUA**

Asunto: **Liberación Tesis**

Chihuahua, Chih., 24 de noviembre del 2023

**M.A.P. TERESA VIRIDIANA ESPINOZA MOLINA  
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
PRESENTE. -**

Los que suscriben, informamos a usted que se llevó a cabo la revisión de la tesis titulada: **"Elaboración de películas antimicrobianas para alargar la vida de anaquel de la carne de res utilizando quitosano, almidón de maíz y aceites esenciales como agentes antimicrobianos.** presentada por la estudiante **María Magdalena Díaz Santos** con número de matrícula **274634**, alumna del programa de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

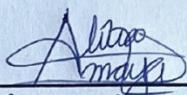
Se le fueron indicadas al estudiante las correcciones que eran necesarias efectuar, y después de realizarse lo anterior y verificar que las mismas fueron atendidas, manifestamos que el documento en cuestión, cumple con los requisitos de calidad y originalidad señalados por el Comité de Tesis y por la Facultad de Ciencias Químicas, por lo que autorizamos que sea impresa para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

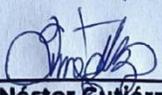
**ATENTAMENTE**

**"LUCHAR PARA LOGRAR, LOGRAR PARA DAR"**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. León Raúl Hernández Ochoa**  
Director

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Fabiola Sandoval Salas**  
Asesora Externa

  
\_\_\_\_\_  
**Dra. Nubia Ivette Amaya Olivas**  
Asesora

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Néstor Gutiérrez Méndez**  
Asesor

Chihuahua, Chihuahua a 15 Noviembre 2023

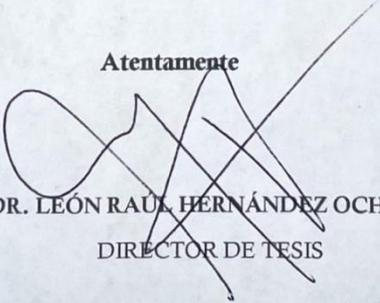
**Q.B.P. Teresa Viridiana Espinoza Molina**

Secretaría de Investigación y Posgrado  
Facultad de Ciencias Químicas

Estimada Q.B.P. Viridiana,

Me permito comunicarle por medio de la presente que, el trabajo de tesis titulado **“ELABORACIÓN DE PELICULAS ANTIMICROBIANAS PARA ALARGAR LA VIDA DE ANAQUEL DE LA CARNE DE RES UTILIZANDO QUITOSANO, ALMIDÓN DE MAÍZ Y ACEITES ESENCIALES COMO AGENTES ANTIMICROBIANOS”**, elaborado por la alumna L.N. María Magdalena Díaz Santos con matrícula 274634 inscrita en la Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología de alimentos bajo mi dirección, fue debidamente revisado y corregido. Por lo consiguiente, autorizo su liberación y distribución, para que los asesores que integran el comité de tesis puedan realizar las correcciones pertinentes y emitir su dictamen. Agradeciendo de antemano sus atenciones a la presente, reciba un cordial saludo.

**Atentamente**



**DR. LEÓN RAÚL HERNÁNDEZ OCHOA**  
DIRECTOR DE TESIS



## AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua por darme la oportunidad de ingresar a su programa de maestría.

Al CONAHCYT por otorgarme las facilidades para seguir con mi vida académica.

A mi director de tesis, Dr. León Raúl Hernández Ochoa por compartirme de su conocimiento y a mis asesores por guiarme cuando tuve alguna duda. Gracias al MC. Lenin Nevarez y a la C. Leticia Burciaga por su invaluable apoyo.

Gracias al Dr. David Neder, al Dr. Diego Carballo, al Dr. Johan Mendoza, al M.C. Víctor Luján, al M.C. Pavel Padilla y M.C. Dalia Ciprián por su apoyo y amistad.

Gracias a Fernanda, Liliana e Isis por ser mis hermanas durante estos dos años. No lo hubiera logrado sin ustedes.



## DEDICATORIA

A la vida, por cruzar mi camino con las maravillosas personas que conocí estos dos años. A Dios, por darme sabiduría y fortaleza. A mi familia por siempre estar. A mis amigos por sostenerme cuando pensé que caía. A quien siempre me impulsó a ser mejor.



## ÍNDICE

|  |      |
|--|------|
| <b>AGRADECIMIENTOS</b> .....                                   | I    |
| <b>DEDICATORIA</b> .....                                       | II   |
| <b>INDICE DE TABLAS</b> .....                                  | V    |
| <b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....                                 | VI   |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....                             | IX   |
| <b>RESUMEN</b> .....   | XII  |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | XIII |
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....                                   | 1    |
| <b>2. ANTECEDENTES</b> .....                                   | 3    |
| <b>2.1. Enfermedades transmitidas por alimentos</b> .....      | 3    |
| <b>2.2. Empaques alimentarios</b> .....                        | 5    |
| <b>2.2.1. Empaques antimicrobianos</b> .....                   | 5    |
| <b>2.3. Películas antimicrobianas</b> .....                    | 6    |
| <b>2.4. Agentes antimicrobianos (aceites esenciales)</b> ..... | 9    |
| <b>2.4.1. Aceite esencial de clavo</b> .....                   | 11   |
| <b>2.4.2. Aceite esencial de orégano</b> .....                 | 13   |
| <b>2.5. Biopolímeros</b> .....                                 | 16   |
| <b>2.5.1. Almidón de maíz</b> .....                            | 19   |
| <b>2.5.1. Quitosano</b> .....                                  | 22   |
| <b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....                                  | 26   |
| <b>4. HIPÓTESIS</b> .....                                      | 26   |
| <b>5. OBJETIVOS</b> .....                                      | 27   |
| <b>5.1. General</b> .....                                      | 27   |
| <b>5.2. Particulares</b> .....                                 | 27   |
| <b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....                           | 28   |



|   |       |
|---|-------|
| 6.1. Materiales .....   | 28    |
| 6.2. Equipo .....   | 28    |
| 6.3. Reactivos .....  | 29    |
| 6.4. Materia prima .....  | 29    |
| 7. Métodos .....  | 30    |
| 7.1. Caracterización de los aceites esenciales.....   | 30    |
| 7.2. Elaboración de películas antimicrobianas con quitosano, almidón y aceites esenciales ..... | 31    |
| 7.3. Propiedades de la película antimicrobiana .....  | 32    |
| 7.3.1. Propiedades fisicoquímicas .....   | 32    |
| 7.3.2. Propiedades térmicas .....   | 35    |
| 7.3.3. Propiedades mecánicas .....  | 35    |
| 7.3.4. Propiedades antimicrobianas .....  | 37    |
| 7.4. Análisis estadístico.....  | 41    |
| 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....   | 42    |
| 8.1. Caracterización de los aceites esenciales.....   | 42    |
| .....   | 44    |
| 8.2. Obtención de películas antimicrobianas con quitosano, almidón y aceites esenciales.....    | 46    |
| 8.3. Propiedades de las películas antimicrobianas.....  | 48    |
| 8.3.1. Propiedades térmicas .....   | 61    |
| 8.3.2. Propiedades mecánicas .....  | 67    |
| 8.3.2.1. Pruebas de tensión .....   | 67    |
| 8.3.3. Propiedades antimicrobianas de películas elaboradas con biopolímeros                     |       |
| 73  |       |
| 9. CONCLUSION .....   | 83    |
| 10. BIBLIOGRAFIA .....  | 84    |
| 11. APENDICES .....   | I     |
| 11.1. Apéndice 1. Análisis estadístico .....  | I     |
| 11.2. Anexo 2. Fotografías isotermas de sorción .....   | XXXVI |



## INDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1.</b> Microorganismos aislados con frecuencia en carnes   | 4  |
| <b>Tabla 2.</b> Agentes antimicrobianos usados en envases antimicrobianos   | 8  |
| <b>Tabla 3.</b> Clasificación de terpenoides según el número de átomos de carbono que forman la molécula  | 10 |
| <b>Tabla 4.</b> Propiedades químicas del timol y carvacrol  | 15 |
| <b>Tabla 5.</b> Tipos de biopolímeros   | 17 |
| <b>Tabla 6.</b> Clasificación de biopolímeros por su funcionalidad  | 19 |
| <b>Tabla 7.</b> Componentes mayoritarios en los aceites esenciales de orégano y clavo   | 45 |
| <b>Tabla 8.</b> Resultados del análisis de grosor de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales                                 | 49 |
| <b>Tabla 9.</b> Parámetros L*, a* y b* de colorimetría de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales                            | 51 |
| <b>Tabla 10.</b> Resultados del análisis de pH de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales                                    | 53 |
| <b>Tabla 11.</b> Resultados de los isoterms de sorción para las 4 formulaciones de películas con biopolímeros y aceites esenciales a diferentes humedades relativas | 55 |
| <b>Tabla 12.</b> Humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales                            | 60 |
| <b>Tabla 13.</b> Resultados del análisis térmico de formulaciones de películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales                     | 62 |
| <b>Tabla 14.</b> Fuerza de ruptura (FR) y alargamiento a la rotura (AR) de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales           | 69 |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Estructura química del eugenol Mohammadi et al., (2016)   | 13 |
| <b>Figura 2.</b> Estructura química de (a) timol y (b) carvacrol   | 16 |
| <b>Figura 3.</b> Estructura de amilosa de almidón de maíz (Tester et al.,2004)   | 20 |
| <b>Figura 4.</b> Estructura de amilopectina de almidón de maíz (Tester et al.,2004)  | 21 |
| <b>Figura 5.</b> Estructura química de la quitina y quitosano (Abd El-Hack et al., 2020).  | 23 |
| <b>Figura 6.</b> Cromatógrafo de gases GC- MS (Agilent technologies 5975C inert MSD, EE. UU)   | 30 |
| <b>Figura 7.</b> Isotermas de sorción de películas de quitosano (CH) y de quitosano con almidón (CH-AL) con aceite esencial de clavo (AEC) y aceite esencial de orégano (AEO) en seis diferentes sales saturadas   | 33 |
| <b>Figura 8.</b> Texturómetro (TA XT Plus) utilizado para pruebas mecánicas (AR y FR) en las formulaciones de películas  | 36 |
| <b>Figura 9.</b> Muestras de carne de res cubierta con películas antimicrobianas. A: Muestra control (sin tratamiento), B: muestras cubiertas con películas de quitosano con aceite esencial de clavo (CH AEC), C: muestras cubiertas con películas de quitosano con aceite esencial de orégano (CH AEO) | 40 |
| <b>Figura 10.</b> Cromatograma del aceite esencial de clavo (AEC) donde se observan sus moléculas antimicrobianas.   | 44 |
| <b>Figura 11.</b> Cromatograma del aceite esencial de orégano (AEO), donde se observan sus componentes antimicrobianos.  | 44 |
| <b>Figura 12.</b> Películas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales.  | 48 |
| <b>Figura 13.</b> Isotermas de sorción en películas de CH con AEO, se observa que los compuestos que más agua absorbieron fueron agua desionizada (270.447), seguido   |    |



de KCl (66.215), KI (30.704), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(16.487), LiCl (2.661) y por último Sg (-.776). Estos últimos compuestos se mantuvieron y perdieron agua, respectivamente. 56

**Figura 14.** Isotermas de sorción en películas de CH con AEC, se observa que los compuestos que más agua absorbieron fueron agua desionizada (210.609), seguido de KCl (71.876), KI (33.579), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(15.848), LiCl (.272) y por último Sg (-3.570). Estos últimos compuestos se mantuvieron y perdieron agua, respectivamente. 56

**Figura 15.** Isotermas de sorción en películas de AL-CH con AEO, se observa que los compuestos que más agua absorbieron fueron agua desionizada (152.111), seguido de KCl (61.195), KI (32.962), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(20.841), LiCl (1.576) y por último Sg (-2.09). Estos últimos compuestos se mantuvieron y perdieron agua, respectivamente. 57

**Figura 16.** Isotermas de sorción en películas de AL-CH con AEC, se observa que los compuestos que más agua absorbieron fueron agua desionizada (104.948), seguido de KCl (46.533), KI (27.714), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(17.409), LiCl (3.491) y por último Sg (-.577) . Estos últimos compuestos se mantuvieron y perdieron agua, respectivamente. 57

**Figura 17.** Isotermas de sorción de humedad de películas de CH AEC, CH AEO, CH-AL AEC y CH-AL AEO a  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  datos experimentales y ajustados a los modelos GAB (Guggenheim, Anderson y De Boer). 58

**Figura 18.** Termogramas del DSC para las 4 formulaciones de películas elaboradas y el control. CH AEC: Quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, PC: Película comercial, CH AEC SG: Quitosano con aceite esencial de clavo sin glicerol, CH P: Quitosano en polvo, a: primer pico endotérmico, b: segundo pico endotérmico. 63

**Figura 19.** Termogramas TGA para las 4 formulaciones de películas elaboradas y el control. CH AEC: Quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: Quitosano con almidón y aceite



esencial de clavo, CH-AL AEO: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, PC: Película comercial. 66

**Figura 20.** Resultados de fuerza de ruptura de las 4 formulaciones de películas elaboradas. CH AEC: Quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo. 70

**Figura 21.** Resultados de alargamiento de las 4 formulaciones de películas elaboradas. CH AEC: Quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo. 71

**Figura 22.** Resultados del análisis in vitro contra *Listeria monocytogenes*. 73

**Figura 23.** Resultados del análisis in vitro contra *Escherichia coli* 75

**Figura 24.** Resultados del análisis in vitro contra *Salmonella typhimurium* 76

**Figura 25.** Resultados del análisis in vitro contra *Staphylococcus aureus* 77

**Figura 26.** Cambios visibles en carne de res con y sin películas de biopolímeros y aceites esenciales (AEs), al día 1,3,5 y 7. CTL: control, carne no tratada, CH AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano. 80

**Figura 27.** Modelo de Weibull que representa el crecimiento de los microorganismos. CTL: Control, CH AEC: Película de quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Película de quitosano con aceite esencial de orégano 82



## LISTA DE ABREVIATURAS

‰: Por ciento

°C: Grados Celsius.

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AEC: Aceite Esencial de Clavo

AEO: Aceite Esencial de Clavo

AEs: Aceites esenciales

ANOVA: Análisis de varianza.

AR: Alargamiento a la rotura

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

$a_w$ : Actividad de agua

CFR: Código Federal de Reglamentaciones

CH AEC: Películas de quitosano con aceite esencial de clavo

CH AEO: Películas de quitosano con aceite esencial de orégano

CH: Quitosano

CH-AL AEC: Películas de quitosano con almidón con aceite esencial de clavo

CH-AL AEO: Películas de quitosano con almidón con aceite esencial de orégano

CH-AL: Quitosano con almidón

cm: Centímetro

cm<sup>2</sup>: Centímetro cuadrado

cm<sup>3</sup>: Centímetro cúbico



CMB: Concentración Mínima Bactericida

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

CTL: Control

DSC: Calorimetría diferencial de barrido

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

ETA: Enfermedades de Transmisión Alimentaria

FDA: Food and Drug Administration

FR: Fuerza de ruptura

g: Gramos

GC- MS: Gas chromatography/Mass spectrometry (Cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas)

GD: Grado de desacetilación

GlcN: Glucosamina

GRAS: Generalmente Reconocida como Segura

GS: Grado de sustitución

H<sub>2</sub>O: Agua

K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: Carbonato de potasio

KCl: Cloruro de potasio

KI: Yoduro de potasio

L: Litros

LiCl: Cloruro de Litio



Log: Logaritmo

mg: Miligramo

MPa: Megapascal

NaCl: Cloruro de sodio

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

p/p: Peso/peso

p/v: Peso/volumen

PC: película comercial

pH: Potencial Hidronio

PSI: Pound-force per Square Inch (Libras por pulgada cuadrada)

PVC: Cloruro de polivinilo

SFP: Solución Formadora de Película

TGA: Análisis Termogravimétrico

tr: Tiempo de retención

TSA: Agar Soya Trypticaseína

UFC/MI: Unidades Formadasra de colonia por mililitro

UV: Ultravioleta

v/v: volumen/volumen

$\mu$ L: Microlitros



## RESUMEN

El quitosano es un biopolímero muy versátil, el cuál ha sido utilizado para elaborar empaques antimicrobianos. El almidón de maíz, por otra parte, también cuenta con potencial para generar nuevos empaques biodegradables debido a su fácil disponibilidad y bajo costo. El uso de agentes antimicrobianos en los envases puede contribuir a prolongar la vida útil de los productos, y estos agentes pueden incorporarse a los empaques de los alimentos. El objetivo de este estudio fue evaluar la idoneidad del quitosano, almidón de maíz y aceites esenciales de clavo (AEC) *Eugenia caryophyllata* y orégano (AEO) *Lippia berlandieri* para elaborar películas y ser utilizadas como envases activos para el almacenamiento de carne de res en condiciones de refrigeración. La elaboración de las películas de quitosano con aceites esenciales fue posible y a partir de esto se incorporó el almidón de maíz, el cual cuenta con características para formar películas resistentes debido a su contenido de amilosa y amilopectina. Al realizar las pruebas fisicoquímicas, las películas elaboradas con quitosano y aceites esenciales tuvieron las mayores diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en comparación con las de la mezcla de quitosano y almidón con aceites esenciales.

En las pruebas antimicrobianas in vitro, las películas de quitosano y aceites esenciales de orégano y clavo fueron seleccionadas. Posteriormente estas películas fueron aplicadas sobre carne de res, dando como resultado una barrera entre el alimento y el medio, observando deshidratación en las muestras.



## ABSTRACT

Chitosan is a highly versatile biopolymer that has been utilized in the production of antimicrobial packaging. Corn starch, due to its easy availability and low cost, also holds the potential to create new biodegradable packaging. The incorporation of antimicrobial agents in packaging serves to prolong the shelf life of products, with the possibility of integrating these agents into food packaging. This study aimed to assess the suitability of chitosan, corn starch, and essential oils of clove (AEC) *Eugenia caryophyllata*, and oregano (AEO) *Lippia berlandieri* for producing films to be used as active packaging for refrigerated beef storage. Chitosan film preparation with essential oils proved feasible, and corn starch was subsequently incorporated, as it possesses characteristics conducive to forming resilient films due to its amylose and amylopectin content. Physicochemical tests revealed statistically significant differences ( $p > 0.05$ ) in films made with chitosan and essential oils compared to those in the chitosan-starch-essential oils mixture. In the *in vitro* antimicrobial tests, chitosan films and essential oils of oregano and clove were selected. Subsequently, these films were applied to beef, resulting in a barrier between the food and the medium, observing dehydration in the samples.



## 1. INTRODUCCIÓN

El quitosano es un biopolímero proveniente de organismos acuáticos, terrestres y ciertos microorganismos, el cual ha atraído mucho la atención en el ámbito de los empaques activos debido a su versatilidad, biodegradabilidad, no toxicidad y debido a sus propiedades antimicrobianas (Kim, 2010). El almidón también es otro biopolímero el cual cuenta con potencial para generar películas debido a su no toxicidad, bajo costo y su alta disponibilidad, del cual, el almidón de maíz es el que se encuentra en mayor cantidad (Agama-Acevedo et al., 2013). Estos polímeros se pueden procesar bajo calor y en presencia de agua y materiales plastificantes, lo cual puede mejorar sus propiedades físicas y químicas y así, poder ser utilizadas como material de empaque. Ambos polímeros son sustancias generalmente reconocidas como seguras (Generally Recognized As Safe: GRAS) por la (FDA, 2022). Estos biopolímeros son una alternativa para la industria de los plásticos debido a que se procesan por medio de las mismas tecnologías que los plásticos tradicionales, lo cual genera un creciente interés en la sociedad y el sector industrial para reemplazar los empaques no degradables.

Una causa importante del deterioro de los alimentos es el crecimiento microbiano en la superficie y para protegerlos de este, se pueden utilizar empaques con sustancias antimicrobianas, como lo son los aceites esenciales (AEs). Estos aceites tienen mejor efectividad al añadirse al empaque que al colocarse directamente, debido a que se liberan controladamente hacia el alimento (Martinez & Lopez-Malo, 2011). En la literatura se puede encontrar gran cantidad de estudios donde se demuestra la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, sin embargo, en este trabajo de investigación se utilizaron los aceites esenciales de clavo (AEC) (*Eugenia caryophyllata*) y de Orégano Mexicano (AEO) (*Lippia Berlandieri*). El aceite de clavo, y el eugenol (compuesto mayoritario del aceite esencial) cumplen con las



especificaciones del "Código de productos químicos alimentarios" (FDA, 2022) y el aceite esencial de orégano se caracteriza por un contenido muy alto en monoterpenos, hidrocarburos (como el  $\gamma$ -terpineno, 2-52 %, y p-cimeno, 52 %) y compuestos oxigenados (principalmente timol, 64 %, y carvacrol, a 80 %) (Cristani et al., 2007).

En la literatura se puede encontrar gran cantidad de estudios donde se demuestra la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, sin embargo, en este trabajo de investigación se da continuidad al estudio realizado por Cerda Rivera (2021) con estos aceites esenciales en esta facultad (Facultad de Ciencias Químicas, UACH) y laboratorio (Química III), donde encontró que dichos AEs presentaron la mayor actividad antimicrobiana (CMBI y CMB) contra bacterias patógenas y causantes del deterioro de alimentos; el presente trabajo de investigación.

Por lo anteriormente citado, este trabajo se enfocará en elaborar películas antimicrobianas utilizando diferentes mezclas de quitosano, almidón de maíz y aceites esenciales de clavo (AEC) (*Eugenia caryophyllata*) y de Orégano Mexicano (AEO) (*Lippia Berlandieri*) para ser utilizadas como empaque para la preservación microbiológica de la carne de res, utilizando sus propiedades fisicoquímicas y mecánicas.



## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1. Enfermedades transmitidas por alimentos**

Las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) se definen como enfermedades de carácter tóxico o infeccioso, causadas por agentes que pueden ser biológicos, químicos o físicos y que entran al organismo por medio de un alimento (OMS, 2022). El origen de estos agentes pueden ser un elemento perteneciente al alimento o debido a la adición accidental durante la producción o la preparación del alimento (Hoffmann & Scallan, 2017). La mayoría de las ETA's pueden transmitirse por rutas distintas a los alimentos, como lo puede ser a través del agua o a través del contacto con animales de granja, mascotas y a través de los manipuladores infectados. La proporción de enfermedades asociadas con la transmisión por los alimentos será diferente según el agente y la manipulación de los alimentos, sin embargo, pocas ETA's se transmiten exclusivamente a través de estos (Hoffmann & Scallan, 2017).

Un brote de ETA es aquel incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad similar tras la ingestión del mismo alimento, y la investigación epidemiológica apunta a dicho alimento como el origen de la enfermedad (OPS, 2019). Los alimentos que más se han visto implicados en las epidemias y casos de ETAs son los de origen animal. En casi la mitad de las epidemias ocurridas en décadas pasadas donde se identificó el agente causal, los productos involucrados fueron carne de res, huevos, puerco, carne de aves, pescados, crustáceos, moluscos, o productos lácteos (OPS, 2019). Los microorganismos que se han encontrado con mayor frecuencia en las carnes se enlistan en la tabla 1.



**Tabla 1.**

Microorganismos aislados con frecuencia en carnes

| Producto                   | Microorganismo aislado  |
|----------------------------|---|
| Carne fresca y refrigerada | Bacterias:<br><i>Acinetobacter, Moraxella, Pseudomonas, Aeromonas, Alcaligenes y Micrococcus</i><br>Mohos:<br><i>Cladosporidium, Geotrichum, Sporotrichum, Mucor, Thamnidium</i><br>Levaduras:<br><i>Cándida, Torulopsis, Debaromyces y Rhodotorula</i>                                   |
| Carnes tratadas y curadas  | Bacterias:<br><i>Lactobacillus</i> y otras bacterias lácticas, <i>Acinetobacter, Bacillus, Micrococcus, Serratia y Staphylococcus</i><br>Mohos:<br><i>Aspergillus, Penicillium, Rhizopus y Thamnidium</i><br>Levaduras:<br><i>Debaromyces, Torula, Torulopsis, Trichosporon y Cándida</i> |

Nota: Adaptado de Frazier & Whestoff (1993).

La información sobre el riesgo que presentan los diferentes alimentos ayudaría también a los consumidores a comprender cómo manejar la seguridad alimentaria, con esto también se benefician las personas en los sectores más vulnerables de la población (adultos mayores, embarazadas, niños, entre otros) a tomar decisiones dietéticas informadas (Hoffmann & Scallan, 2017).

Actualmente existen alternativas para la protección de los alimentos ante el ataque de los microorganismos, como los son los empaques activos.



## 2.2. Empaques alimentarios

Están elaborados para contener alimentos dentro de ellos desde su fabricación hasta su uso por el consumidor. El empaque desempeña un papel primordial sobre la conservación, el marketing y la distribución de los alimentos. Algunas de sus funciones son contener y proteger el alimento de acciones físicas, mecánicas, químicas y microbiológicas (Quintero et al., 2010).

Deberán cumplir los siguientes requisitos:

1. Ser fabricados con materiales autorizados por el Codex Alimentarius.
2. No transferir sustancias indeseables, tóxicas o contaminantes a los alimentos en cantidad superior a la permitida por el Codex.
3. No transferir sustancias que puedan modificar las características de composición y/o sensoriales de los alimentos (OPS, 2015).

### 2.2.1. Empaques antimicrobianos

El envasado antimicrobiano es un sistema que puede matar o inhibir el crecimiento de microorganismos y así prolongar la vida útil de los productos perecederos, mejorando así la seguridad de los productos envasados (Han, 2005).

Estos empaques tienen varias aplicaciones como eliminación de oxígeno y control de humedad, por lo tanto, se consideran prometedores en las tecnologías de envasado activo.

Los sistemas de envasado de alimentos tienen tres componentes:

1. Los productos alimenticios
2. La atmósfera del espacio superior
3. Los materiales de envasado



Cualquiera de estos tres componentes podría poseer un agente antimicrobiano. Los antimicrobianos se pueden intercalar en el espacio superior del empaque en forma de sobres, películas, láminas o cualquier suplemento del paquete, para generar atmósferas antimicrobianas” (Han, 2005).

### **2.3. Películas antimicrobianas**

Una película es una matriz preformada y delgada, que posteriormente será utilizada sobre el alimento o se ubicará entre los componentes de este. Estas películas pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto proteico, lipídico o por una mezcla de los mismos. Estas presentan propiedades mecánicas, crean una barrera impermeable a los gases, y logran adquirir propiedades útiles dependiendo de las sustancias que forman parte de dichas matrices (Quintero et al., 2010). En este trabajo se revisó literatura donde en su mayoría elaboran películas con agentes antimicrobianos debido a que este es el tema de interés, así mismo se revisaron los resultados obtenidos respecto a sus propiedades fisicoquímicas y mecánicas, para utilizarlo como guía metodológica del presente proyecto.

Varias investigaciones reconocen la importancia de evaluar las propiedades mecánicas, ópticas y antimicrobianas de las películas con el fin de determinar si es posible su uso como nuevo empaque (Quintero et al., 2010). El uso de películas en aplicaciones alimentarias y en productos muy perecederos, se basa en características como costo, funcionalidad, disponibilidad, propiedades mecánicas (tensión y flexibilidad), propiedades ópticas (brillo y opacidad), barrera frente a gases, resistencia al agua, actividad antimicrobiana y su aceptabilidad sensorial.



Las propiedades de estas películas están definidas por factores como las características del material que constituye la matriz estructural (como su configuración y masa molecular), las condiciones durante la formación de las películas (incluyendo el tipo de solvente, el pH, la concentración de componentes y la temperatura), así como el tipo y la concentración de los aditivos presentes en ellas (tales como plastificantes, agentes antimicrobianos y antioxidantes) (Quintero et al., 2010). Las películas antimicrobianas han transformado la noción de empaque activo, diseñándose para disminuir o inhibir el desarrollo de microorganismos en la superficie de los alimentos (Appendini & Hotchkiss, 2002).

Usualmente, los antimicrobianos son incorporados directamente en los alimentos, pero su efectividad puede verse afectada por diversas sustancias presentes en el propio alimento, lo que reduce su eficacia. En tales situaciones, el uso de películas antimicrobianas podría resultar más eficiente en comparación con los aditivos añadidos directamente al producto alimenticio. Esto se debe a que estas películas permiten la migración selectiva y gradual de compuestos desde el envase hacia la superficie del alimento (Ouattara et al., 2000). Algunos de los agentes antimicrobianos usados en los envases antimicrobianos se pueden observar en la tabla 2.



**Tabla 2.**

Agentes antimicrobianos usados en envases antimicrobianos

| Agente antimicrobiano     | Ejemplo  |
|---------------------------|--|
| Ácidos anhídridos         | Anhidrido benzoico, anhidrido sórbico  |
| Alcoholes                 | Etanol   |
| Aminas                    | Hexametil entramina  |
| Compuestos de amonio      | Sales cuaternarias de amonio   |
| Antibióticos              | Natamicina   |
| Péptidos antimicrobianos  | Cecropina, defensina, magainina  |
| Antioxidantes fenólicos   | BHA, BHT, TBHQ   |
| Bacteriocinas             | Bavaricina, brevicina, carnocina, lacticina, nisina, pediocina, subtilisina, sakacina  |
| Quelantes                 | Citrato, EDTA, polifosfato, conalbumina  |
| Enzimas                   | Quitinasa, oxidasa etanol, B-glucanasa, glucosa oxidasa, lactoperoxidasa, lisozima   |
| Ácidos grasos             | Acido palmitoleico y acido láurico   |
| Fungicidas                | Imazalil, dióxido de azufre, benofil   |
| Ácidos inorgánicos        | Ácido fosfórico  |
| Metales                   | Cobre y plata  |
| Fenoles naturales         | Catequinas, hidroquinonas, p-cresol  |
| Ácidos orgánicos          | Acido acético, acido benzoico, ácido cítrico, acido láctico, ácido málico, ácido propiónico, ácido sórbico, ácido succínico, ácido tartárico |
| Sales de ácidos orgánicos | Sorbato de potasio y benzoato de sodio   |
| Parabenos                 | Etil parabeno, metil parabeno, propil parabeno   |
| Compuestos de plantas     | Carvacrol, eugenol, linalol, timol, citrato, cineol, geraniol, terpinol, estragol  |
| Polisacáridos             | Quitosano  |

Nota: Adaptado de Martínez & Lopez-Malo, (2011)



Algunos de los extractos de plantas y aceites esenciales tienen fuertes propiedades antimicrobianas debido a su alto porcentaje de compuestos fenólicos como carvacrol, timol y eugenol.

La incorporación de extractos de plantas en los materiales de empaque en lugar de películas plásticas podría satisfacer las demandas de los consumidores de alimentos más naturales, desechables, reciclables o biodegradables (Irkin & Kizilirmak, 2015).

#### **2.4. Agentes antimicrobianos (aceites esenciales)**

Los aceites esenciales (AEs) provienen de la agroindustria y se caracterizan por un olor intenso y distinto para cada aceite, el cual depende del tipo de planta de origen y como de la composición química (Stashenko, 2009). Los AEs son volátiles, aceitosos y aromáticos, obtenidos de varias partes de las plantas, especialmente de flores y hojas. Se forman como resultado del metabolismo secundario de la planta, desempeñando funciones como la protección contra microorganismos patógenos, la repulsión de insectos plaga y la reducción del apetito de herbívoros al conferir un sabor desagradable a la planta en cuestión (Stashenko, 2009).

Debido a que los aceites esenciales están presentes en una concentración muy pequeña en la planta, son difíciles de obtener para lo cual se necesita gran cantidad de material vegetal. Pueden ser líquidos, incoloros y de carácter volátil, existen también aceites esenciales muy viscosos o semisólidos (oleorresinas) (Ortuño, 2006).

El método más frecuente de extracción de aceites esenciales es la extracción en corriente de vapor (destilación), este se usó por primera vez en Oriente (Egipto, India y Persia) más de 2000 hace años y fue mejorado en el siglo IX por los árabes (Burt, 2004; Ortuño, 2006).



Entre los componentes de los aceites esenciales se encuentran los terpenos o isoprenoides, hidrocarburos que pueden llegar a constituir del 75% al 90% del peso total en aceites esenciales como los de los cítricos (Ortuño, 2006).

Los terpenos carecen de olor y contribuyen mínimamente al aroma global, sin embargo, constituyen la base diluyente del aceite esencial proporcionándole carácter volátil e inflamable y sus propiedades físicas capaces de ser medidas como la densidad o la viscosidad (Ortuño, 2006). Estas moléculas pueden originarse al combinar varias moléculas de isopreno (2-metil-1,3-butadieno). Dado que el isopreno consta de 5 átomos de carbono, todos los terpenoides tienen en su estructura un número de carbonos que es un múltiplo de 5 (con la excepción de aquellos que pierden átomos de carbono debido a algún proceso) (Ortuño, 2006).

La clasificación de terpenoides según el número de átomos de carbono se muestra en la tabla 3.

**Tabla 3.**

Clasificación de terpenoides según el número de átomos de carbono que forman la molécula

| Numero de átomos de carbono | Denominación      | Unidades de terpeno |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|
| 10                          | Monoterpenoides   | 1                   |
| 15                          | Sesquiterpenoides | 1.5                 |
| 20                          | Diterpenoides     | 2                   |
| 25                          | Sesterpenoides    | 2.5                 |
| 30                          | Triterpenoides    | 3                   |
| 40                          | Tetraterpenoides  | 4                   |
| >40                         | Politerpenoides   | >4                  |

Nota: adaptado de Ortuño, (2006).



Se dice que la primera medición de las propiedades antibacterianas de los aceites esenciales fue realizada por De la Croix en 1881, sin embargo, al transcurrir los siglos XIX y XX, el uso de AEs se volvió secundario a su uso para el sabor y el aroma (Burt, 2004). Tras mucha investigación se ha demostrado que los AEs y sus principales componentes poseen un amplio rango de actividad biológica (Cristani et al., 2007).

En la literatura se puede encontrar gran cantidad de estudios donde se demuestra la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, sin embargo, en este trabajo hablaremos a fondo del aceite esencial de clavo (AEC) (*Eugenia caryophyllata*) y del aceite esencial de orégano (AEO) (*Lippia berlandieri*), debido a que Cerda Rivera (2021) trabajó con estos aceites esenciales en esta facultad (Facultad de Ciencias Químicas, UACH) y laboratorio (Química III) y encontró que dichos AEs presentaron la mayor actividad antimicrobiana (CMBI y CMB) ante el resto de los aceites en dicho estudio.

#### **2.4.1. Aceite esencial de clavo**

El principal componente antimicrobiano del clavo es el eugenol [2-metoxi-4-(2-propenil) fenol] (figura 1). El clavo contiene 0,5-1,0% de aceite volátil, 95% del cual es eugenol (Baines & Seal, 2012). El aceite de clavo y el eugenol cumplen con las especificaciones del "Código de productos químicos alimentarios" (FDA, 2022). El eugenol es un líquido de transparente a amarillo pálido con una consistencia aceitosa y un aroma especiado. Es escasamente soluble en agua y bien soluble en disolventes orgánicos, tiene baja estabilidad química y es sensible a la oxidación y diversas interacciones químicas (Ulanowska & Olas, 2021).

El eugenol se obtiene comúnmente de los aceites esenciales de plantas de las familias *Myrtaceae*, *Myristicaceae*, *Lamiaceae* y *Lauraceae* y es el componente más importante del aceite de clavo (*Syzygium aromaticum*).



Se sabe que se presenta en diferentes concentraciones dependiendo de la especie, sin embargo, la fuente más abundante es *S. aromaticum*, en la cual constituye entre 9381,7 mg y 14.650 mg por 100 g de material vegetal fresco y es el responsable de su aroma característico (Ulanowska & Olas, 2021).

El aceite esencial es extraído de diferentes partes del clavo y varía su composición. El aceite derivado de los botones florales del clavo se compone principalmente de eugenol (60-90%), acetato de eugenilo, cariofileno y otras sustancias, mientras que el aceite derivado de las hojas del árbol del clavo se compone de eugenol (82-88%) y muy poca cantidad de acetato de eugenilo y otros constituyentes menores Mohammadi et al., 2016.

Desde la antigüedad, el aceite de clavo se ha utilizado como antimicrobiano, antiséptico y antiespasmódico en la medicina tradicional china (Mohammadi et al., 2016). En la actualidad se ha comprobado que cuenta con propiedades antibacterianas frente a diversas especies, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, y este potencial se ha atribuido al grupo OH libre en su estructura. En el caso de las bacterias Gram negativas, se cree que el ejerce su acción al dañar la membrana citoplasmática. Debido a su naturaleza hidrófoba, logra penetrar fácilmente la membrana celular del lipopolisacárido e ingresar al citoplasma. Una vez presente en la célula, puede provocar alteraciones en la estructura celular, provocando la liberación de componentes intracelulares (Ulanowska & Olas, 2021).

Hernández-Ochoa et al., (2011) hicieron estudios sobre la incorporación de aceites esenciales a películas elaboradas con quitosano, esta evaluación se realizó mediante la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB) contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Listeria monocytogenes* por difusión en agar.



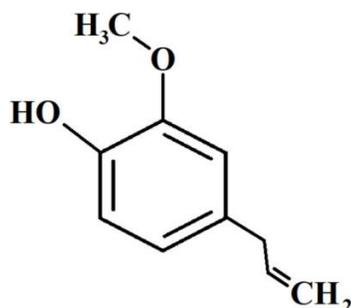
Los resultados de dicho estudio señalaron que los aceites esenciales y extractos funcionales que exhibieron las mejores CMI's frente a los microorganismos estudiados fueron: clavo a 500 mg/L y clavo-E7 a 500 mg/L.

En otro estudio, Andrade-Ochoa et al., (2013) utilizaron el aceite de clavo para MIC contra cepas de *Mycobacterium tuberculosis*. Se encontró que el aceite esencial de clavo fue activo contra todas las cepas utilizadas en el estudio (sensibles o resistentes a medicamentos), con valores de MIC en el rango de 6,25 µg/ml - 25 µg/ml.

Por su parte Hernández-Ochoa et al., (2014) determinaron la MIC y la CMB de cinco cepas patógenas *E. coli O157:H7*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *C. jejuni*, *C. perfringens*, *S. aureus* y *T. gondi* mostrando que el aceite esencial de clavo y sus extractos funcionales son efectivos en concentraciones de 500 mg/L a 750 mg/L.

**Figura 1.**

Estructura química del eugenol Mohammadi et al., (2016)



**2.4.2. Aceite esencial de orégano**

El aceite esencial obtenido del orégano se caracteriza por un contenido muy alto en monoterpenos, hidrocarburos (como el  $\gamma$ -terpineno, 2-52 %, y p-cimeno, 52 %) y compuestos oxigenados (principalmente timol, 64 %, y carvacrol, a 80 %) (Cristani et al., 2007).



El carvacrol es un componente de aceite esencial de orégano generalmente reconocido como un aditivo alimentario seguro (FDA, 2022), este fitoquímico se utiliza como agente saborizante en varios productos, como productos horneados, dulces, bebidas y goma de mascar (Knowles et al., 2005).

El carvacrol también se considera un antimicrobiano de amplio espectro, efectivo contra bacterias, levaduras y hongos. Los patógenos, como *S. aureus* y *S. enterica serovar Typhimurium*, son susceptibles al carvacrol. El carvacrol es biocida, lo que provoca perturbaciones en la membrana bacteriana que provocan la fuga de ATP intracelular y los iones de potasio y, en última instancia, la muerte celular.

A pesar de su amplio espectro antimicrobiano, la aplicación de carvacrol y otros aceites esenciales en la conservación de alimentos se ha visto limitada por sus potentes propiedades aromáticas (Knowles et al., 2005). Burt, (2004) menciona que el carvacrol actúa como antibacteriano al impedir la síntesis de flagelina, lo que hace que las bacterias no sean móviles.

El timol, también conocido como 2-isopropil-5-metilfenol, constituye el fenol monoterpénico predominante presente en los aceites esenciales obtenidos de plantas pertenecientes a la familia *Lamiaceae*. Este compuesto se encuentra en géneros como *Thymus*, *Ocimum*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* y *Monarda* (Marchese et al., 2016). La molécula de timol es un fenol natural derivado monoterpénico del cimeno y un isómero del carvacrol (Gholami-Ahangaran et al., 2022). El timol se biosintetiza mediante la aromatización de c-terpineno a p-cimeno seguida de hidroxilación de p-cimeno. Los aceites esenciales obtenidos de las especies anteriores se han utilizado en la industria alimentaria desde la antigüedad como agentes aromatizantes y conservantes gracias a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Marchese et al., 2016). Debido a su naturaleza hidrofóbica, la solubilidad del timol es bastante reducida en el dominio hidrofóbico de la membrana citoplasmática de las células bacterianas entre las cadenas de



lípidos acilo. El timol tiene amplio campo de aplicación, se utiliza en pequeñas concentraciones en alimentos, como conservante contra microorganismos transmitidos por alimentos, incluso en medicamentos debido a sus propiedades de conservación (Marchese et al., 2016). Desde los años sesenta, los aceites esenciales con timol han sido evaluados por sus posibles beneficios en aplicaciones médicas, dentro de las cuales sus propiedades antimicrobianas son una de las más estudiadas. Durante las últimas dos décadas varios estudios in vitro han demostrado que el timol posee propiedades antibacterianas y anti fúngicas (Marchese et al., 2016). Además, se sabe que el carvacrol y el timol tienen coeficientes de partición en octanol/agua de 3,64 y 3,30 respectivamente, y los compuestos con un valor log  $P_{o/w}$  superior a 3 se dividen profundamente en las membranas celulares y se acumulan dentro de las cadenas de ácidos grasos de la membrana, lo que produce cambios conformacionales en la bicapa lipídica de la membrana (Kachur & Suntres, 2020). Las propiedades químicas de ambos compuestos, timol y carvacrol se enlistan en la tabla 4.

**Tabla 4.**

Propiedades químicas del timol y carvacrol

| Propiedad química   | Timol                                 | Carvacrol                             |
|---------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Peso molecular      | 150 C <sup>10</sup> H <sup>14</sup> O | 150 C <sup>10</sup> H <sup>14</sup> O |
| Fórmula química     | 5-methyl-2-(1-methylethyl)phenol      | 2-methyl-5-(1-methylethyl)phenol      |
| FEMA-GRAS           | 3066                                  | 2245                                  |
| FDA                 | 21CFR 172.515                         | 21CFR 172.515                         |
| Apariencia          | Cristales blancos                     | Incoloro a amarillo pálido            |
| Olor                | Pungente, caustico                    | Olor a timol                          |
| Punto de ebullición | 233°C                                 | 237°C                                 |
| Densidad (g/ml)     | 0.969                                 | 0.976                                 |
| LD 50               | 980 mg/kg en ratas, vía oral          | 810 mg/kg. en ratas, vía oral         |
| Estabilidad         | Buena                                 | Buena                                 |

Adaptado de: Gholami, et al, (2022)

**Figura 2.**

Estructura química de (a) timol y (b) carvacrol (Gholami, et al, 2022).



Los aceites esenciales son utilizados en múltiples aplicaciones, entre ellas como se mencionó, su incorporación a películas de empaque, muchas de las cuales están elaboradas con biopolímeros.

## 2.5. Biopolímeros

Un polímero es una macromolécula compuesta por la repetición de unidades estructurales repetitivas conectadas por enlaces químicos covalentes. Los polímeros naturales, también llamados biopolímeros, son producidos por organismos vivos (Mitura et al., 2020).

Estos cumplen múltiples funciones como preservar el material genético, la estabilidad celular y metabólica de la célula, el almacenamiento de energía y funciones de defensa o mantenimiento de la actividad acuosa (Marroquín-De Jesus et al., 2020).

Las fuentes de biopolímeros provienen de varios grupos biológicos como lo son las plantas, algas, animales, hongos y bacterias, como se observa en la tabla 5.



**Tabla 5.**

Tipos de biopolímeros

| Origen  | Biopolímero       | Composición  |
|---------|-------------------|--|
|         | Algarrobo         | Polisacárido lineal constituido de un esqueleto de $\beta$ -1-4) manosa con cadenas laterales sencillas de de D-galactopiranosil unidas por enlaces $\beta$ -(1-6).  |
|         | Almidón           | Polímero de D-glucosa unidos por enlaces $\alpha$ -glucosídicos formado por una molécula lineal (amilosa) y una ramificada (amilopectina).   |
|         | Celulosa          | $\beta$ -glucosa unido por enlaces glucosídicos -1,4   |
|         | Goma Arábica      | Conformada por residuos de $\beta$ -D-galactopiranosil unidos por enlaces 1 $\rightarrow$ 3, ramificada con cadenas laterales en el carbono 6  |
|         | Goma Guar         | Unidades de $\beta$ -D-manopiranosil unidas por enlaces 1 $\rightarrow$ 4. Cada dos residuos presenta un residuo de D-galactopiranosil unido a la cadena principal por un enlace $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6).   |
|         | Goma Karaya       | Galactano formado por D-galactosa, L-rhamnosay ácido D-galacturónico con un peso molecular de 9500 kDa.  |
|         | Goma Tragacanto   | Conformada por dos componentes principales el ácido tragacántico (soluble en agua) y la basorina(insoluble en agua). El ácido tragacántico contiene el 43% de ácido D-galacturónico, 40% de D-xilosa, 10% D-fucosa y 4% de D-galactosa   |
| Vegetal | Pectinas          | Heteropolisacáridos conformados por tres componentes principales: homogalacturonano, l-rhamnogalacturano y galacturanos sustituidos  |
|         | Agar              | Mezcla heterogénea de polisacáridos. Los principales componentes de la cadena son $\beta$ -D-galactopiranososa y 3,6-anhidro- $\alpha$ -L-galactopiranososa, con enlaces alternados 1 $\rightarrow$ 4y 1 $\rightarrow$ 3   |
|         | Agarosa           | Heteropolisacárido lineal conformado por $\beta$ -D-galactosa y unidades de 3,6-anhidro- $\alpha$ -L-galactosa, acopladas a través de enlaces glucosídicos $\beta$ -1,4 y $\alpha$ -1,3 glucosídicos.  |
|         | Alginato          | Ácido $\beta$ -D-manurónico y ácido -L-gulurónico unidos por enlaces glucosídicos $\beta$ -1,4   |
|         | Carragenina       | Mezcla heterogénea de polisacáridos fraccionados por precipitación con iones potasio. Las fracciones mayoritarias son -carragenina(gelificante) y la -carragenina (no gelificante). Sus componentes principales son D-Galactosa-4-sulfato, 3,6-anhidro-D-galactosa-2-sulfato o 3,6-anhidro-D-galactosa |
| Algas   | Fucoidan          | L-fucosa unida por enlaces glucosídicos-1,4.   |
|         | Ácido hialurónico | Ácido D-glucurónicoy N-acetil-D-glucosamina unidos por enlaces glucosídicos $\beta$ -1,4 y $\beta$ -1,3..  |
| Animal  | Colágeno          | Aminoácidos unidos por enlaces tipo amida  |



*Continuación*

|                     |   |
|---------------------|---|
| Gelatina            | Peptidoproducto de la desnaturalización del colágeno  |
| Quitosano           | Mucopolisacárido lineal catiónico producido por la desacetilación de la quitina.  |
| Quitina             | N-acetil glucosamina unidas por enlaces glucosídicos $\beta$ -1,4.  |
| Ácido itacónico     | Producido por algunas especies de <i>Aspergillus</i>  |
| $\beta$ -glucanos   | Esqueletos lineales de moléculas unidas por enlaces $\beta$ (1-3) con ramificaciones frecuentes a lo largo de la cadena a partir de enlaces tipo $\beta$ (1-6)  |
| Schizofilano        | Homoglucano no iónico soluble en agua compuesto por un esqueleto unido por enlaces $\beta$ (1-3) con ramificaciones de glucosa cada tres residuos unidos por enlaces $\beta$ -(1-6)   |
| Ácido poliglicólico | Polímero de ácido poliglicólico.  |
| Ácido poliláctico   | Polímero de ácido láctico   |
| Exopolisacáridos    | Precusores nucleótidos activos, el incremento en su peso molecular se lleva a cabo en la superficie celular.  |
| Curdano             | Formado por unidades de glucano unidos por enlaces glucosídicos $\beta$ -(1,3), producido por <i>Agrobacterium</i> sp   |
| Dextrano            | Polímero de unidades de D-glucopiranosas unidas por enlaces $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6; 1 $\rightarrow$ 3).  |
| Gelano              | Polisacárido aniónico por unidades repetidas de una molécula de L-ramnosa, ácido D-glucurónico y dos residuos de D-glucosa  |
| Kefiran             | Producido por la microbiota asociada a granos kefir, el kefiran es un exopolisacárido soluble en agua, formado por unidades de glucosa y galactosa en proporciones equivalentes   |
| Levano              | Homopolisacárido altamente ramificado constituido por monómeros de fructosa unidos por enlaces $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 6)   |
| Polihidroxicanoatos | Polímeros lineales formados principalmente de ácido hidroxialcanoico como unidad monomérica donde el grupo carboxilo forma un enlace tipo éster con el grupo hidroxilo del monómero adyacente. Se dividen en tres clases principales dependiendo del hidrógeno que lo constituye, aquellos de cadena corta (SCL-PHAs), poli-3-hidroxibutirato (PHB) y poli-3-hidroxivalerato (PHV), entre otros |
| Pululano            | Homopolisacárido no ramificado compuesto de unidades maltotriosa y maltotetrosa unidos por enlaces glucosídicos $\alpha$ -1,6 y $\alpha$ -1,4.  |
| Microbiano Xanтана  | Glucosa, manosa, y ácido glucurónico $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4; 1 $\rightarrow$ 2; 1 $\rightarrow$ 3)  |

Nota: Adaptado de Marroquín-De Jesus et al., (2020).



**Tabla 6.**

Clasificación de biopolímeros por su funcionalidad

| Función       | Biopolímero  |
|---------------|--|
| Gelificante   | Agar, agarosa, alginato, schizofilano, gelatina, quitosano, pectinas, curdlano |
| Espesante     | Gomas guar, arábica, xantana, tragacanto, algarrobo, alginato, dextrano        |
| Emulsificador | Alginato, goma xantana, pectinas   |
| Estabilizador | Gomas arábica, algarrobo, xantana, carragenina, alginato                       |

Nota: Adaptado de Marroquín-De Jesus et al., (2020)

### 2.5.1. Almidón de maíz

El almidón es un biopolímero que se extrae de plantas como la papa, el arroz, el maíz, la tapioca, entre las cuales el almidón de maíz es el más predominante y constituye casi el 65% de la producción de almidón en el mundo, seguido por el camote (13 %), la yuca (11 %) y otros (Agama-Acevedo et al., 2013).

El almidón de maíz contiene el mayor contenido de amilosa (28–33 %) en comparación con otros tipos de almidones (Debnath et al., 2022; Othman et al., 2021) y las características fisicoquímicas y funcionales de este polisacárido están íntimamente vinculadas a su estructura. (Agama-Acevedo et al., 2013).

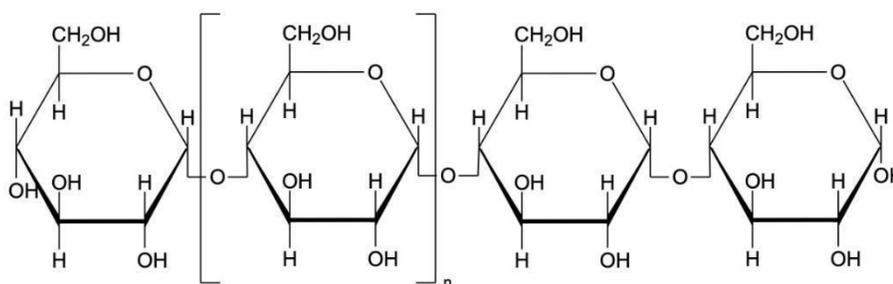
El almidón se compone de dos polisacáridos, la amilosa y la amilopectina. Estas moléculas se organizan en anillos concéntricos para dar lugar a la estructura granular (Agama-Acevedo et al., 2013).

La amilosa y la amilopectina tienen diferentes estructuras y propiedades que han sido discutidas y revisadas por muchos autores.

La amilosa (Figura 3) es un  $\alpha$ -glucano lineal relativamente largo que contiene aproximadamente del 99% de enlaces (1 - 4) -  $\alpha$  - y (1-6) -  $\alpha$  - y varían en tamaño y estructura dependiendo del origen botánico. La amilosa tiene un peso molecular de aproximadamente  $1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ . Cada cadena contiene un aproximado de 200 - 700 residuos de glucosa (Tester et al., 2004).

**Figura 3.**

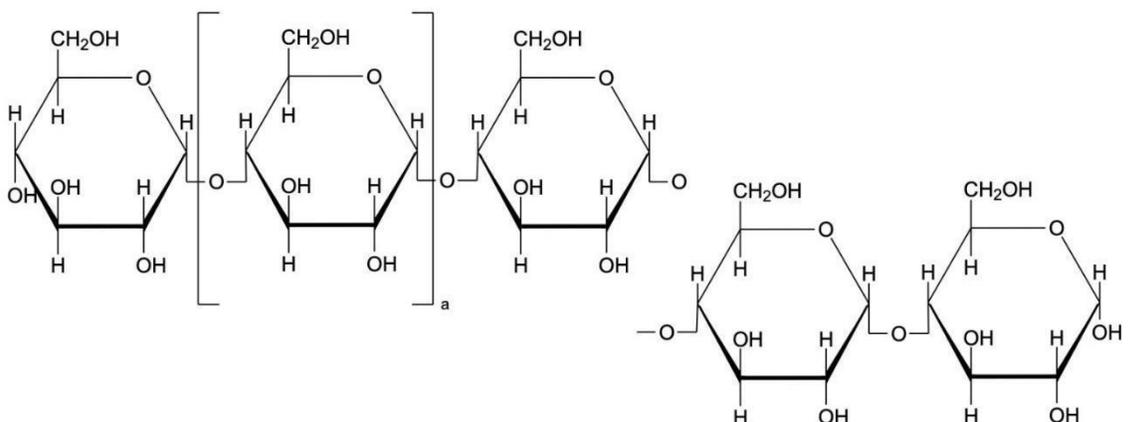
Estructura de amilosa de almidón de maíz (Tester et al., 2004)



La amilopectina (Figura 4) es una molécula mucho más grande que la amilosa con un peso molecular de  $1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$  y una estructura fuertemente ramificada construida a partir de aproximadamente 95% de enlaces  $\alpha$  (1 - 4) y 5% enlaces  $\alpha$  (1 - 6). Al igual que la amilosa, el tamaño molecular, la estructura y forma de la molécula varían según la procedencia botánica (Tester et al., 2004).

**Figura 4.**

Estructura de amilopectina de almidón de maíz (Tester et al., 2004)



Debnath et al., (2022); Othman et al., (2021) refieren que el almidón de maíz presenta un alto contenido de amilosa, la cual facilita la formación de películas fuertes y rígidas, lo que las hace adecuadas para aplicaciones relacionadas al envasado de alimentos.

Este polímero se puede procesar bajo la acción del calor y la cizalla en presencia de agua y plastificantes, lo que da como resultado almidones termoplásticos (TPS), estos tienen pobres propiedades mecánicas y térmicas y fuerte carácter hidrófilo en comparación con los polímeros sintéticos, sin embargo, se pueden incorporar otros materiales para superar estas debilidades y lograr utilizarlos como material de envase (Merci et al., 2019; Othman et al., 2021).

Respecto a su uso seguro como aditivo alimentario, la FDA, (2022) lo menciona como una sustancia GRAS (Generally recognized as safe).



### 2.5.1. Quitosano

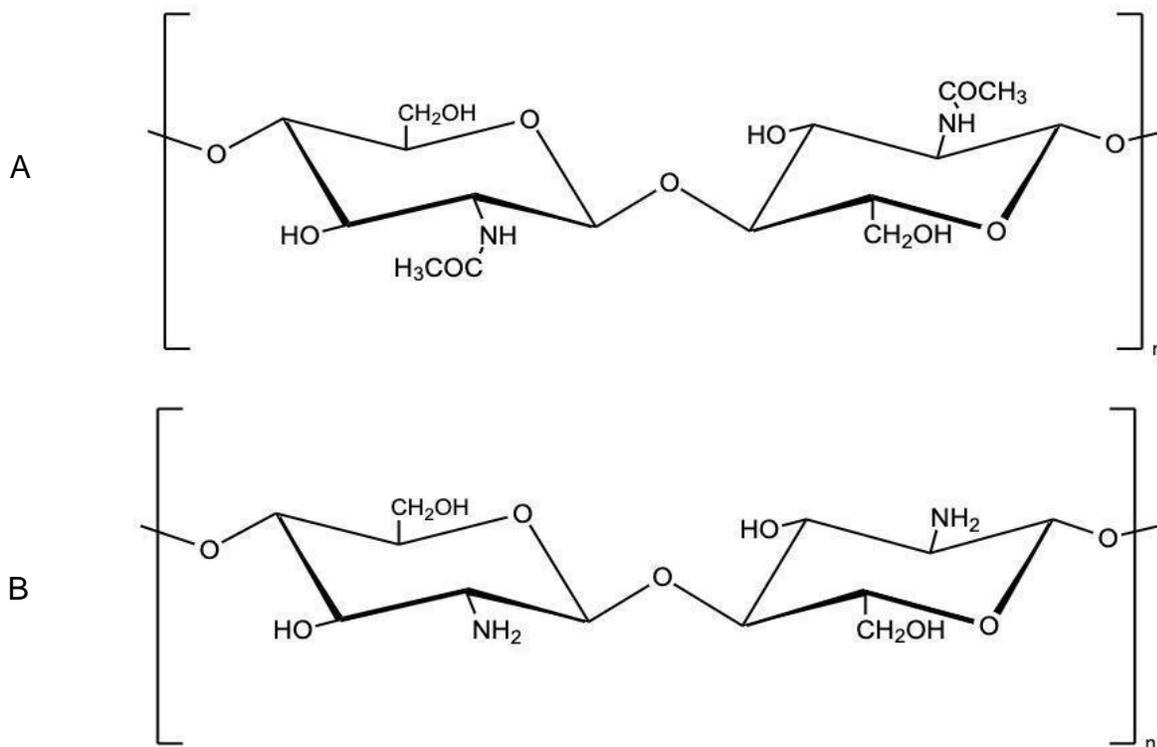
El quitosano es un biopolímero que existe de unidades de D-glucosamina obtenidas a través de la desacetilación de quitina usando álcali caliente, es un  $\beta$  glucano (1  $\rightarrow$  4) y se ha descrito como "el biomaterial más versátil de la naturaleza". Otros polisacáridos de origen natural son de naturaleza ácida, por el contrario el quitosano es básico y, como tal experimenta las reacciones de neutralización de los compuestos alcalinos (Kim, 2010).

El quitosano se diferencia de la quitina por su grado de acetilación. Durante este proceso, se eliminan los grupos acetilo, lo que provoca una reacción de despolimerización que se refleja en cambios en el peso molecular del quitosano (Bautista-Baños et al., 2017). El quitosano se puede encontrar en muchos organismos acuáticos, organismos terrestres y algunos microorganismos (Kim, 2010) y es una parte importante en la composición de la pared celular de hongos, especialmente en aquellos que pertenecen a la clase *Zygomycetes* (Bautista-Baños et al., 2017). El quitosano no es tóxico para los mamíferos y los animales superiores y activa los mecanismos de defensa de las plantas (Palma-Guerrero et al., 2010).

**Figura 5.**

Estructura química de la quitina y quitosano (Abd El-Hack et al., 2020).

A: Quitina, B: Quitosano



Como se indica en varias investigaciones, los cambios en la permeabilidad celular de los microorganismos resultan de la interacción entre la naturaleza policationica del grupo amino del quitosano y las cargas electronegativas en la superficie externa de la membrana fúngica o bacteriana. Con esta interacción electrostática, que depende de la composición de la membrana citoplasmática puede haber afinidad elevada en membranas sensibles que contienen ácidos grasos poliinsaturados (Palma-Guerrero et al., 2010).

El quitosano también exhibe actividad antibiótica contra bacterias y levaduras, y se ha informado que daña sus membranas plasmáticas (Palma-Guerrero et al., 2010).



Uno de los mecanismos es que el quitosano funciona como agente quelante. El segundo es que el quitosano puede entrar en la nucleasa de la célula, luego interactúa con el ADN e interfiere con la síntesis de proteínas del ARNm, por lo que inhibe la acción de varias enzimas. El tercero indica que el quitosano produciría mayores cambios en la estructura de la pared celular y en la permeabilidad de la membrana celular, ya que actúa sobre las superficies celulares cargadas negativamente. En consecuencia, tendrá un gran efecto sobre las bacterias gram negativas (Fathy et al., 2019)

Se han realizado diversos estudios con la intención de explotar la actividad antimicrobiana del quitosano a la par de sus características para producir materiales con características mejoradas (Perinelli et al., 2018). En general, se acepta que el principal efecto antimicrobiano del quitosano se relaciona a la capacidad de sus grupos amino cargados positivamente para unirse a la superficie cargada negativamente de la pared bacteriana o la membrana plasmática. Esto provoca una modificación de la permeabilidad celular, dando lugar a un daño osmótico provocando la salida de iones y proteínas desde el citoplasma hacia el espacio extracelular (Liu et al., 2004).

Por lo tanto, todos los factores característicos del quitosano que influyen en su densidad de carga positiva son sumamente importantes, se cree que cuanto mayor sea la densidad de carga positiva del quitosano, más fuertes serán las interacciones electrostáticas con la superficie celular bacteriana. El grado de desacetilación (GD) y el grado de sustitución (GS) en los grupos amino, son factores relacionados con la estructura química del quitosano que afectan la densidad de carga positiva. La literatura generalmente coincide en que los quitosanos con mayor GD presentan una actividad antimicrobiana superior debido a la mayor cantidad de grupos amino libres en la cadena principal del polímero.



Sin embargo, algunos datos han sido reportados en la literatura debido a que tanto características estructurales del quitosano (como el peso molecular) y otros factores extrínsecos (como el pH o solvente utilizado para las soluciones) no fueron controlados con precisión (Perinelli et al., 2018).

Hoy en día, comercialmente el quitosano se produce a partir de biorresiduos obtenidos de organismos acuáticos, sin embargo, dicha producción presenta características fisicoquímicas inconsistentes de los productos debido al suministro estacional y variable de materias primas, así como a la variabilidad y dificultades de condiciones del proceso (Kim, 2010). Para superar estos problemas, los organismos terrestres como insectos, crustáceos terrestres y hongos se consideran fuentes alternativas para la producción de quitina y quitosano (Kim, 2010).

El quitosano es más accesible a los reactivos, lo que puede deberse a su estructura menos cristalina. Casi todos los ácidos acuosos disuelven fácilmente el quitosano, siendo los más utilizados el ácido fórmico y el ácido acético. A diferencia del quitosano, los oligómeros de este tienen una viscosidad más baja con una mayor solubilidad en agua a pH neutro debido a su cadena más corta longitud y grupos amino libres en unidades D-glucosamina (GlcN) (Kim, 2010).

Este biopolímero se utiliza como aditivo alimentario, en material de embalaje y como suplemento dietético. El quitosano y derivados son fibras no digeribles que a su vez se utilizan como suplementos dietéticos con funciones que incluyen la unión de grasas y acción prebiótica (Ruiz-Rico et al., 2022). Se considera biodegradable y biocompatible, sin toxicidad ni efectos secundarios (Bautista-Baños et al., 2017).



### 3. JUSTIFICACIÓN

Existen múltiples fuentes renovables que se pueden utilizar para fabricar películas antimicrobianas lo que puede reducir el uso de materiales sintéticos. Estas pueden diseñarse para contener antioxidantes naturales, vitaminas y antimicrobianos con el fin de prolongar la vida útil del producto. Los aceites esenciales han sido considerados principios activos para películas antimicrobianas debido a sus propiedades biológicas. Los aceites esenciales de orégano y clavo, son reconocidos como potentes antimicrobianos y se han estudiado previamente en el grupo de investigación, es por esto que con este proyecto se pretende obtener una película antimicrobiana constituida por quitosano, almidón de maíz y aceites esenciales de orégano y clavo con características fisicoquímicas, mecánicas y microbiológicas idóneas para poder utilizarse como empaque de la carne roja e incrementar su vida de anaquel.

### 4. HIPÓTESIS

Películas antimicrobianas elaboradas con diferentes mezclas de quitosano, almidón de maíz y aceites esenciales de clavo (*Eugenia caryophyllata*) y de orégano mexicano (*Lippia berlandieri*) pueden ser utilizadas como empaque para la preservación microbiológica de la carne de res debido a sus propiedades microbiológicas, fisicoquímicas y mecánicas.



## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. General**

Elaborar películas antimicrobianas utilizando diferentes mezclas de quitosano, almidón de maíz y aceites esenciales para ser utilizadas como empaque para la preservación microbiológica de la carne de res, utilizando sus propiedades fisicoquímicas y mecánicas.

### **5.2. Particulares**

1. Formular películas antimicrobianas utilizando diferentes mezclas de quitosano, almidón de maíz y aceites esenciales de orégano y clavo.
2. Evaluar las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las películas obtenidas.
3. Evaluar la efectividad antimicrobiana in vitro de las películas desarrolladas
4. Determinar cuenta total de microorganismos en carne de res cubierta con las formulaciones seleccionadas



## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Materiales

- Micropipetas de 10-100  $\mu\text{L}$  y 100-1000  $\mu\text{L}$  (Eppendorf research)
- Pipeta 10 mL (Kimax)
- Puntillas para micropipetas 100 y 1000  $\mu\text{L}$
- Cajas Petri de vidrio (Pyrex)
- Cajas Petri de plástico (BD)
- Vasos de precipitados (Pyrex)
- Probeta de 50 mL (Pyrex)
- Espátula
- Micrómetro digital (Surtek)
- Pinzas de precisión de acero inoxidable
- Cápsulas de aluminio
- Cápsulas de medición de actividad de agua (Decagon devices, Inc., Estados Unidos)

### 6.2. Equipo

- Parrilla de agitación (CORNING, España)
- Texturómetro (TA XT plus, 11288)
- Medidor de pH (CONDUCTRONIC pH110)
- Desecador de vidrio
- Microbalanza analítica electrónica (Ohaus Adventurer AR2140)
- Incubadora (Fisher Scientific, EE. UU)
- Autoclave (ALL AMERICAN)
- Campana de flujo laminar (LABCONCO)
- Cromatógrafo de gases GC- MS (Agilent technologies 5975C inert MSD, EE. UU).
- Calorímetro diferencial Thermal Analyst (TA Instruments, EE. UU)



- Analizador simultáneo DSC-TGA SDT Q600 (TA Instruments, EE. UU)
- Texturómetro (TA XT plus, 11288)
- Horno de secado (FE-291 Felisa, México)
- Colorímetro (Konica Minolta CR-410, Japón)
- LabMaster-  $a_w$  (Novasina, Suiza)

### 6.3. Reactivos

- Almidón de maíz grado alimenticio (Sigma-Aldrich, Alemania) CASS 9005-25-8
- Quitosano de bajo peso molecular (Sigma-Aldrich, Alemania) CASS 9012-76-4
- Ácido acético glacial (Faga Lab, México) CASS 64-19-7
- Glicerol reactivo analítico (Faga Lab, México)
- Agar TSA (BD Bioxon, México)
- Agar para cuenta estándar (BD Bioxon, México)
- Agua peptonada (BioMérieux, USA)
- Sílica gel (J.T. Baker EE.UU.)
- Cloruro de Litio (LiCl) (Fermont, México)
- Carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ) (60, Merk, Alemania)
- Yoduro de potasio (KI) (229, J.T. Baker)
- Cloruro de potasio (KCl) (81, Merk)

### 6.4. Materia prima

Aceite esencial de clavo (*Eugenia caryophyllata*) y aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia berlandieri*) obtenidos previamente por arrastre de vapor en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.



## 7. Métodos

### 7.1. Caracterización de los aceites esenciales

La cromatografía de gases (GC) es usada para analizar el material biológico que contiene constituyentes volátiles. Esto se llevó a cabo con el equipo GC- MS, Agilent technologies 5975C inert MSD con triple detector, la columna seleccionada fue Thermofisher 5G apolar. La temperatura inicial fue de 55 °C con una rampa de 15 °C, hasta llegar a 200 °C y se mantuvo durante 3 minutos. El tiempo de corrida fue de 12.66 min, el inyector se mantuvo a 250 °C con presión de 11.35 PSI y un flujo de 68.83 ml/minuto.

#### Figura 6.

Cromatógrafo de gases GC- MS (Agilent technologies 5975C inert MSD, EE. UU)



Nota: Fuente propia



## 7.2. Elaboración de películas antimicrobianas con quitosano, almidón y aceites esenciales

Para la elaboración de películas antimicrobianas a base quitosano se utilizó la metodología de Reyes-Chaparro et al., (2015). Se elaboraron al disolver quitosano de bajo peso molecular (2% p/v) en una solución acuosa de ácido acético (1% v/v), se colocó en una parrilla con agitación por 30 minutos, posteriormente se colocó glicerol como plastificante por 15 minutos más, y por último se agregó el correspondiente aceite esencial (AEs) dejándolo por agitación 15 minutos.

Con base en estos experimentos, se estandarizaron las condiciones para la elaboración de las películas y se agregó un nuevo polímero (almidón de maíz) siguiendo la metodología de Navarro et al., (2019) con modificaciones.

Se preparó una solución acuosa de almidón al 2% (p/v) en 100 ml de agua destilada mediante agitación a 30 °C durante 30 min y luego a 90 °C durante 60 min para asegurar la gelatinización total del almidón. La solución se mantuvo a temperatura ambiente (25°C aproximadamente) para realizar la mezcla. La solución de quitosano y la solución de almidón se mezclaron en proporción 50/50 para preparar la solución final. La mezcla se agitó durante 30 min y se agregó glicerol (4 % v/v) agitando durante 15 minutos, posteriormente se agregaron AEC o AEO según correspondía y se agitó durante 15 minutos más.

Finalmente, se colocaron 50 ml de la mezcla sobre cajas de Petri acrílicas de 9 cm de diámetro. Las muestras se secaron a 30 °C durante 48 h, pasado el tiempo de evaporación de solvente se despegaron cuidadosamente con la ayuda de una espátula, las películas producidas se almacenaron para su posterior análisis. Todos los análisis se realizaron cuando las películas tenían 1 día de elaboración.



### **7.3. Propiedades de la película antimicrobiana**

#### **7.3.1. Propiedades fisicoquímicas**

##### **7.3.1.1. Análisis de espesor**

La prueba se llevó a cabo acorde a la metodología de Reyes-Chaparro et al., (2015). se midió el espesor en 5 puntos distintos de 10 películas de cada formulación elaborada y del control (PC). Para ello se utilizó un micrómetro digital (Surtek), se obtuvo el espesor promedio de cada muestra.

##### **7.3.1.2. Colorimetría**

El color de las películas fue medido usando un colorímetro Konica Minolta (CR-410, Japón) usando los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , establecidos por la Comisión Internacional de Iluminación. El colorímetro se usó sobre la película con un fondo blanco. Se realizaron mediciones en 5 puntos diferentes de cada película. Los resultados fueron convertidos a RGB usando el software Nix color sensor <sup>TM</sup>.

##### **7.3.1.3. pH**

Se determinó el pH de cada una de las soluciones filmógenas con un Medidor de pH (CONDUCTRONIC pH110), previa calibración del aparato con buffers de calibración de 4, 7 y 10. Las lecturas se realizaron por triplicado.

##### **7.3.1.4. Isotermas de sorción**

Se utilizó el método gravimétrico estático según Monte et al., (2018) con modificaciones. Las isotermas se determinaron a una temperatura de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ . Las muestras fueron películas redondas de 55 mm de diámetro, se colocaron por triplicado en 6 recipientes herméticamente cerrados que contenían sílica gel (Sg) y soluciones saturadas de cloruro de Litio (LiCl), carbonato de potasio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ), yoduro de potasio (KI), cloruro de potasio (KCl) y agua desionizada, para mantener la actividad de agua ( $a_w$ ) valores en el rango de 0%, 19%, 40%, 70%, 87% y 100%



respectivamente, como se muestra en la figura 6. Las películas y los platillos de pesaje de aluminio con y sin película, se pesaron con una balanza electrónica Ohaus de 0.0001 g de precisión, y se colocaron en los microclimas hasta alcanzar masa constante (14 días).

Después de alcanzar el equilibrio, las muestras se colocaron en un horno de secado (FE-291 Felisa, México) a 100 °C durante 24 h. Posteriormente para el análisis de datos se llevó a cabo un ANOVA y análisis post hoc de Tukey Kramer, para observar si había diferencias estadísticas en la ganancia/pérdida de agua.

**Figura 7.**

Isotermas de sorción de películas de quitosano (CH) y de quitosano con almidón (CH-AL) con aceite esencial de clavo (AEC) y aceite esencial de orégano (AEO) en seis diferentes sales saturadas.





### 7.3.1.5. Humedad y actividad de agua ( $a_w$ )

La cantidad de agua en las películas se evaluó midiendo la pérdida de peso en un horno de secado (FE-291 Felisa, México) a 100 °C hasta un peso constante (peso de la muestra seca). Las muestras se analizaron por triplicado. El contenido de humedad de equilibrio (%) se calculó considerando el peso inicial de cada muestra y el peso seco, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{(P_1 - P_2)}{P_2} \times 100$$

Donde  $P_1$  es el peso inicial de la muestra y  $P_2$  es el peso de la muestra después de haberse sometido al secado.

La actividad de agua se calculó a 4°C utilizando el equipo LabMaster-  $a_w$  (Novasina, Suiza), se cortaron trozos redondos de 4 cm de diámetro de cada una de las formulaciones por triplicado y se colocaron dentro de las cápsulas de medición de actividad de agua (Decagon devices, Inc., Estados Unidos) hasta cubrir toda la superficie de la cápsula.

También se determinó la humedad en base seca, para comparar la masa de agua que contiene un material sólido con su masa seca. Para esto se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%H_{bs} = \frac{m_{H_2O}}{m_s} \times 100$$

Donde  $m_{H_2O}$  es la masa de agua en la película y  $m_s$  es su masa seca. Las determinaciones se realizaron por triplicado.



### **7.3.2. Propiedades térmicas**

#### **7.3.2.1. Calorimetría diferencial de barrido**

La temperatura de inicio de descomposición y la entalpía de fusión de las películas se obtuvieron mediante análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) usando un calorímetro diferencial (Q-200, TA Instruments, Japón) siguiendo el método descrito por (Sutharsan et al., 2022).

Las muestras de película (5–6 mg) se calentaron de 30 °C a 300 °C a una velocidad de calentamiento de 20 °C/min. Se usó una bandeja de aluminio vacía como referencia. La temperatura de fusión y la entalpía se registraron a partir de los termogramas obtenidos utilizando el software Universal Analysis 2000 (TA Instruments, Japón). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

#### **7.3.2.2. Análisis termogravimétrico**

El análisis termogravimétrico (TGA) se realizó utilizando un analizador termogravimétrico (Q 600, TA Instruments, Japón) siguiendo la metodología descrita por (Sutharsan et al., 2022). La pérdida de peso de las muestras de película en el rango de temperatura de 25 °C – 500 °C se registró a una velocidad de calentamiento de 10 o 15°C/min. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

### **7.3.3. Propiedades mecánicas**

#### **7.3.3.1. Pruebas de tensión**

La fuerza de ruptura (FR) y el alargamiento a la rotura (AR) se midieron usando la máquina Texturómetro (TA XT plus), siguiendo la metodología de (Sutharsan et al., 2022) Las películas se cortaron en piezas rectangulares (20 mm x 50 mm) y se colocaron entre las mordazas de la máquina. La distancia de agarre inicial y la velocidad se fijaron en 55 mm y 5 mm/min respectivamente. La fuerza y el desplazamiento se registraron en el punto de ruptura de la película.

La resistencia a la tracción y el alargamiento a la rotura fueron calculadas con la siguiente fórmula:

$$FR (MPa) = \frac{F}{(A * E)}$$

$$AR(\%) = \frac{l_f}{L} \times 100$$

Donde F es fuerza (N), A representa el ancho (mm) y E representa el espesor de la película ( $\mu\text{m}$ ),  $l_f$  representa la longitud de la película en el punto de ruptura y L la longitud inicial de la película.

**Figura 8.**

Texturómetro (TA XT Plus) utilizado para pruebas mecánicas (AR y FR) en las formulaciones de películas.





### 7.3.4. Propiedades antimicrobianas

#### 7.3.4.1. Propiedades antimicrobianas *in vitro*

Para llevar a cabo la evaluación antimicrobiana para los 7 tratamientos (CH AEC, CH AEO, CH-AL AEC, CH-AEO, CH-AL y CH y PC como control) las cepas utilizadas en este estudio fueron:

1. *Escherichia coli*
2. *Listeria monocytogenes*
3. *Salmonella typhimurium*
4. *Staphylococcus aureus*

Las cuales se seleccionaron debido a que son patógenas para el hombre. Dichas cepas fueron obtenidas del cepario de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

Se utilizó la metodología de Hernández-Ochoa et al., (2012) con modificaciones.

Para preparar el agar, se pesaron 12 gramos de agar TSA en una balanza granataria (Ohaus), se colocaron en un matraz Erlenmeyer y se aforaron con agua destilada hasta alcanzar 300 mL. Este proceso se repitió tres veces para obtener un total de 900 mL de agar. Antes de esterilizar, se cubrió el matraz con un gorro de gases y se envolvió en papel estraza con cinta indicadora. La mezcla se clarificó cuidadosamente utilizando un mechero de Bunsen y luego se sometió a esterilización a 121°C durante 15 minutos en autoclave. Posteriormente, se llenó (según el indicador) con agua destilada.

Luego, se limpió la campana de flujo laminar (LABCONCO) utilizando etanol, seguido de la activación de luz UV durante 15 minutos para lograr la esterilización. Posteriormente, se encendió el extractor antes de abrir la compuerta.



Una vez que el medio de cultivo estuvo esterilizado, se procedió a verter 15 mL de agar TSA en cada una de las cajas Petri. Una vez solidificado el agar, se sembraron los 4 patógenos en las cajas con TSA.

Al día siguiente el inóculo microbiano se preparó en agua peptonada con aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL según escala de McFarland, para esto se tomaron los patógenos sembrados y utilizando un asa de nicromio previamente flameada, se tomaron colonias aisladas de bacterias proporcionadas por el cepario de la Facultad de Ciencias Químicas de la UACH y se agitaron hasta alcanzar la turbidez requerida. La inoculación de las cajas con TSA se llevó a cabo en dos etapas, en la primera se analizaron las películas de quitosano (CH) y la segunda las formulaciones de quitosano con almidón (CH-AL). Dichas cajas se inocularon por estrías superficiales usando hisopos previamente esterilizados. Se colocó un cuadrado de  $1 \text{ cm}^2$  de las películas en el centro de la placa inoculada y se presionó con pinzas previamente esterilizadas para asegurar el mayor contacto posible con la superficie del agar. Como control se agregaron películas de CH sin antimicrobianos (control positivo) y una película comercial (control negativo) de polietileno de baja densidad (LDPE) (Kleen Pack) (PC).

Por último, se invirtieron y se llevaron a incubadora a  $37^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Al finalizar este período, se retiraron de la incubadora y se llevó a cabo una revisión para determinar si hubo halo de inhibición.

#### 7.3.4.2. Propiedades antimicrobianas *in vivo* en carne de res

Para el análisis microbiológico de la carne de res se seleccionaron los dos tratamientos que funcionaron mejor en las pruebas *In vitro* (CH AEC y CH AEO), sin embargo, se aumentó la concentración a 1000 ppm debido a que sería aplicado sobre un alimento con alta  $a_w$  como lo es la carne fresca ( $0.996 \pm 0.0053$ ).



La carne fresca de res tiene una vida de anaquel de 3-5 días en refrigeración (4°C o menos), por lo cual se buscó prolongar la vida de anaquel hasta 7 días buscando no comprometer ninguna de sus características organolépticas.

Los procedimientos para el análisis microbiológico se llevaron a cabo acorde a las NOM-110-SSA1-1994 y NOM-092-SSA1-1994. Todos los procedimientos se realizaron por triplicado. La carne utilizada fue milanesa de res, obtenida de la cadena comercial AISuper el día de su empacado, a temperatura de refrigeración.

Se cortó la carne y se pesaron 2 gr con una precisión de  $\pm 0.1$  g, posteriormente cada muestra fue colocada en cajas Petri estériles (Figura 9), fueron selladas con parafilm para evitar su contaminación y se colocaron en refrigerador (4°C) hasta el día de su análisis.

En el día de su análisis, las muestras fueron elegidas al azar y se colocó 1 g en una bolsa estéril de Stomacher y se diluyeron con 9 ml de una solución estéril de agua peptonada al 1% con NaCl al .5% y se homogenizó en un equipo Stomacher durante dos minutos para obtener la primera dilución (1:10 p/v); a partir de ella se realizaron diluciones seriadas con el agua peptonada estéril. Se llevó a cabo una siembra a partir de 1 ml de las diluciones seriadas en placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro, posteriormente se añadieron 15 ml de medio a una temperatura de 45°C  $\pm 1^\circ\text{C}$ . Se mezcló cuidadosamente con el inóculo según recomendaciones de la NOM-092-SSA1-1994 y se dejó solidificar, colocando las placas sobre una superficie sin inclinaciones. Las placas se introdujeron de manera invertida a incubación a 35  $\pm 2^\circ\text{C}$  por 48  $\pm 2$  h.

Para describir escribir curvas de supervivencia y modelar el crecimiento de microorganismos en el tiempo, se realizó un ajuste utilizando la distribución de Weibull (Peleg and Shetty, 1997).

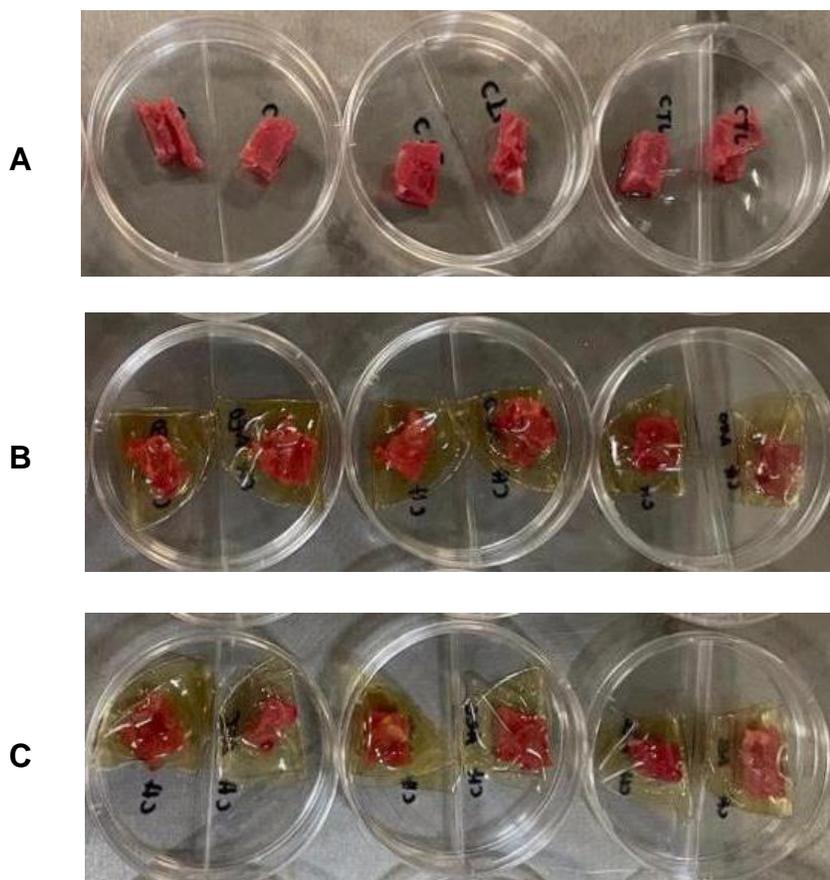
Los parámetros biológicos  $b$  y  $n$  se estimaron por regresión no lineal (Kaleida Graph, Version 3.51, Synergy Software, Reading PA, USA). Para esto se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Log}(N/N_0) = -btn \quad \text{Log}\left(\frac{N}{N_0}\right) = -btn$$

Donde  $b$  es la proporción de inactivación y  $n$  es la resistencia de los microorganismos a los tratamientos.

**Figura 9.**

Muestras de carne de res cubierta con películas antimicrobianas. A: Muestra control (sin tratamiento), B: muestras cubiertas con películas de quitosano con aceite esencial de clavo (CH AEC), C: muestras cubiertas con películas de quitosano con aceite esencial de orégano (CH AEO)





#### 7.4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía (nivel de significancia del 95%, alfa de .05 con un análisis post hoc de Tukey Kramer, para cada prueba realizada a las 4 diferentes formulaciones de películas y el control correspondiente. Posteriormente mediante comparación de medias, se pudo observar si había o no diferencia estadística significativa ( $p > 0.05$ ) entre dichas formulaciones, Se utilizaron letras diferentes para indicar una diferencia entre los mismos datos del indicador ( $p < 0,05$ ), y la misma letra indica que no hay diferencia.



## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1. Caracterización de los aceites esenciales

Se realizó la identificación de los componentes volátiles de los aceites esenciales de clavo y orégano mediante cromatografía de gases (GC-MS). La identificación de los compuestos se fundamentó en la comparación de sus espectros de masas con los datos de la biblioteca NIST 17 del sistema de GC-MS. Se pudieron observar las principales moléculas de los aceites esenciales, Eugenol en el caso del aceite esencial de clavo (AEC) y Timol y Carvacrol para el aceite esencial de orégano (AEO), como lo muestran las figuras 6 y 7 en los tiempos de retención (rt) del minuto (5.952) para el Eugenol y (7.227) para el acetyleugenol. Para el caso del orégano los rt (5.4) para el Timol y (5.4) para el Carvacrol.

Lo encontrado en el AEC, concuerda con lo reportado por Al-Hashimi et al., (2020) y por Goñi et al., (2009) quienes encontraron eugenol como componente mayoritario, seguido por cariofileno y humuleno como en el presente estudio, sin embargo, ambos autores presentan tr's más elevados, con 15.80, 16.59, 16.96 respectivamente.

Otras moléculas similares fueron reportadas por Cerda (2021) y Chaieb et al., (2007) donde el Eugenol es el componente mayoritario seguido de acetyl eugenol y cariofileno. También Uddin et al., (2017) encontraron acetyl eugenol, cariofileno y oxido de cariofileno, sin embargo, lo que coincide con las moléculas encontradas sin embargo tienen tiempos de retención más elevados (15.903,14.63,16.823 respectivamente). Cabe destacar que para los estudios los resultados fueron diferentes, debido a que utilizaron equipos y condiciones diferentes.

La variación de las propiedades fisicoquímicas del AEC depende de varios factores, como lo son el tejido y el origen de la planta, la temporada de crecimiento, el clima y el tiempo de cosecha. Otro factor importante es el tiempo entre la cosecha de la materia prima y la producción de aceite. Más que 100 ingredientes del AEC han sido detectados en todo el mundo (Al-Hashimi et al., 2020).



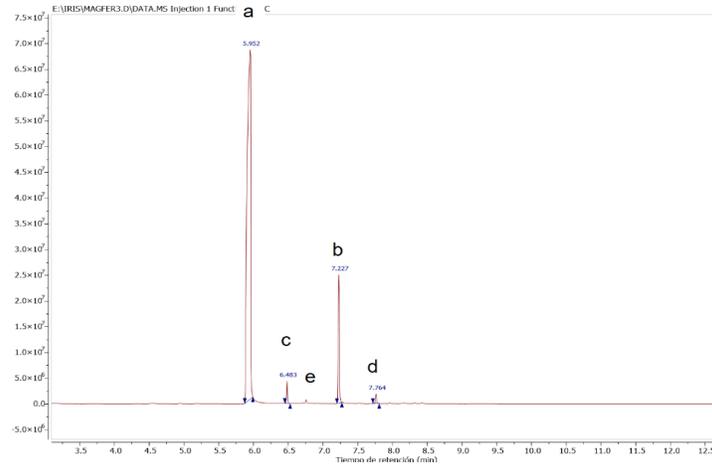
Por otra parte, para el AEO, las moléculas encontradas coinciden con lo reportado por Córscico et al., (2014) y Rivero-Cruz et al., (2011) quienes encontraron que Carvacrol y Timol eran los componentes mayoritarios (18.348, 18.596) y (14.43, 16.07) con tiempos de retención mayores. Milovanović et al., (2009) encontraron linalool, a-terpineol, timol, carvacrol, oxido de cariofileno, siendo timol y carvacrol las principales moléculas identificadas. Resultados similares fueron encontrados por Medina-Romero et al., (2021), quienes encontraron linalool, 4 terpineol, a-terpineol, trans cariofileno, carvacrol y timol, siendo estos últimos los de mayor cantidad, sin embargo, los tiempos de retención fueron mayores en ambos estudios (10.44, 14.16, 18.74, 19.51, 30.83), (5.398, 6.143, 6.237, 8.027 6.925, 6.989), probablemente por las condiciones de la prueba, tipo de columna, fase móvil, etc.

A continuación, en las figuras 9 y 10 se observan los cromatogramas obtenidos para los extractos analizados.

**Figura 10.**

Cromatograma del aceite esencial de clavo (AEC) donde se observan sus moléculas antimicrobianas.

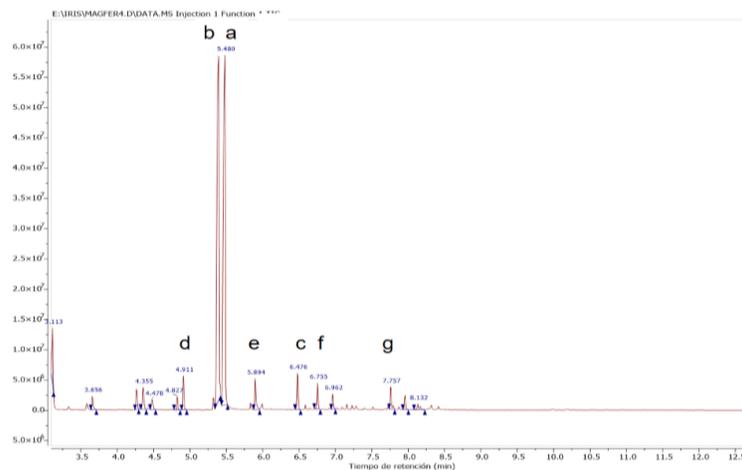
a: eugenol, b: acetyleugenol, c: cariofileno, d: óxido de cariofileno, e: alfa humuleno, a y b son los componentes mayoritarios.



**Figura 11.**

Cromatograma del aceite esencial de orégano (AEO), donde se observan sus componentes antimicrobianos.

a: carvacrol, b: timol, c: transcariofileno, d: 2-metoxi-4-metil-1-propan-2-ilbenceno, f: alfa humuleno, g: óxido de cariofileno, a y b son los componentes mayoritarios.





En la tabla 7, se pueden apreciar los componentes mayoritarios en los aceites esenciales de orégano y clavo y los tiempos de retención (tr) para cada uno de ellos.

**Tabla 7.** Componentes mayoritarios en los aceites esenciales de orégano y clavo

| Tipo de aceite y tiempo de retención (tr) |     |  |                 |
|---|-----|--|-----------------|
| Clavo                                     | tr  | Orégano  | Tr              |
| Eugenol                                   | 5.9 | Cineol   | 3               |
| Cariofileno                               | 6.4 | 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4- (1-metiletilo). | 3.3             |
| Alfa humuleno                             | 6.7 | Ciclohexeno, 1-metil-4- (1-metiletilideno)     | 3.5             |
| Acetyeugenol                              | 7.2 | Linalool                                       | 3.6             |
| Óxido de cariofileno.                     | 7.7 | Borneol  | 4.2             |
|   | 7.5 | 4-terpineol                                    | 4.3             |
| Óxido de cariofileno.                     | 7.9 | Alfa terpineol                                 | 4.4             |
| Óxido de cariofileno.                     | 8   | 2-metoxi-4-metil-1-propan-2-ilbenceno.         | 4.8             |
| Óxido de cariofileno.                     | 8.3 | Timol  | 5.3             |
| Óxido de cariofileno.                     | 8.4 | Timol  | 5.4             |
|   |     | Carvacrol                                      | 5.4             |
|   |     | Transcariofileno.                              | 6.4             |
|   |     | Alfa humuleno                                  | 6.7             |
|   |     | Óxido de cariofileno.                          | 7.7             |
|   |     | Óxido de cariofileno.                          | 7.9, 8.0 y 8.3, |
|   |     |  | 8.4             |

Fuente: NIST 17 (2021).

Para calcular la cantidad de aceite esencial para alcanzar 500 ppm a colocar en la solución formadora de película, se utilizó la densidad obtenida por Cerda Rivera (2021), debido a que en este estudio se usaron los aceites que dicho autor extrajo previamente en el laboratorio de Química III de esta facultad.

Se realizaron cálculos para alcanzar 500 ppm de los aceites de AEC y AEO, según la densidad; 2.69 g/cm<sup>3</sup> para el AEC y 1.39 g/ cm<sup>3</sup> para el AEO.



## 8.2. Obtención de películas antimicrobianas con quitosano, almidón y aceites esenciales

Para la elaboración de películas antimicrobianas a base quitosano se utilizó la metodología descrita por Reyes-Chaparro et al., (2015). Se realizaron 40 formulaciones diferentes, variando factores como el tiempo de agitación y tiempo de evaporación del solvente, cantidad de glicerina, cantidad vertida en los recipientes y el tipo de recipiente utilizado. De estas formulaciones se seleccionaron 2, las cuales difieren en la cantidad de solución formadora de película (SFP) vertida, se eligió la de 50 ml por tener menor tendencia a romperse al despegarse del envase.

Con base en estos experimentos, se estandarizaron las condiciones para la elaboración de las películas y se agregó un nuevo polímero (almidón de maíz) siguiendo la metodología de Navarro et al., (2019) con modificaciones.

La elaboración de las películas quitosano (CH) y quitosano con almidón (CH-AL) fue posible, sin embargo, no concuerdan con los resultados de otros autores. Para películas de CH, Reyes-Chaparro et al., (2015), utilizaron condiciones diferentes de elaboración; 2% de glicerina y vaciando 20 ml de SFP en cajas Petri, el tiempo y temperatura de secado fue de 60 °C por 4 h, sin embargo, bajo estas condiciones nuestras películas se resecaron y no fue posible despegarlas. Sutharsan et al., (2022) incorporaron quitosano de medio peso molecular y 40% de glicerol, sin embargo, al vaciar tan poca cantidad no fue posible despegar la película, lo cual puede ser explicado debido a que a mayor peso molecular aumenta la fuerza necesaria para romperlas (Zhong et al., 2019). Por otra parte, Monte et al., (2018) utilizaron menor cantidad de quitosano y este fue disuelto en menor concentración de solución de ácido acético, con 10% de glicerol, sin embargo, en este trabajo no fue posible despegar la película del recipiente bajo estas condiciones.



En las películas de la mezcla CH-AL Navarro et al., (2019) utilizaron menor cantidad de glicerol y secaron a 60°C por 23 h, sin embargo, al verter mayor cantidad de SFP no se evaporó el solvente bajo dichas condiciones.

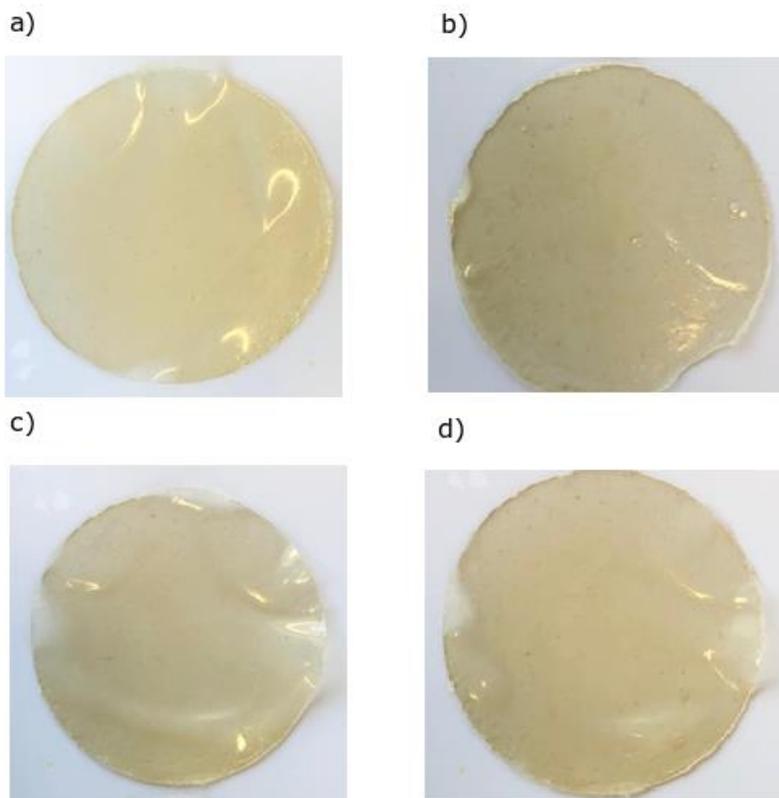
También en otro estudio de Jiménez-Regalado et al., (2021) utilizaron 6% almidón y el glicerol fue añadido al 40%, al evaporar el solvente utilizaron una temperatura de 65°C por 5 horas, sin embargo, utilizando estas condiciones tampoco fue posible elaborar la película.

La concentración de quitosano en la formación de las películas es fundamental, ya que las altas concentraciones dan lugar a una solución muy viscosa que es difícil de disolver y manipular. En contraste, las soluciones diluidas y con una viscosidad muy baja generan problemas relacionados con la incapacidad para formar películas que puedan adherirse efectivamente a un producto. Es esencial desarrollar una matriz densa y libre de defectos para lograr materiales con propiedades mecánicas y de barrera adecuadas (Bof et al., 2015).

**Figura 12.**

Películas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales.

a: película de quitosano con aceite esencial de orégano (CH AEC), b: película de quitosano con aceite esencial de orégano (CH AEO), c: película de quitosano y almidón con aceite esencial de orégano (CH AEC), película de quitosano y almidón con aceite esencial de orégano (CH AEO).



### **8.3. Propiedades de las películas antimicrobianas**

#### **8.3.1. Propiedades fisicoquímicas**

##### **8.3.1.1. Análisis de espesor**

El grosor de las películas comestibles constituye un parámetro importante, ya que incide directamente en las propiedades biológicas y la durabilidad del alimento. La efectividad de las películas comestibles para la protección de los alimentos depende principalmente del control de la dispersión de las soluciones de recubrimiento, que afectan el espesor de la película (Skurtys, 2010).



En la tabla 8, se observan los resultados del análisis de grosor de las formulaciones de biopolímeros y aceites esenciales, se observó que el mayor grosor lo tuvo CH AEC ( $0.4868 \pm 0.068$ ), seguida de CH AEO ( $0.482 \pm 0.052$ ), posteriormente CH-AL AEC ( $0.402 \pm 0.040$ ) y por último CH-AL AEO ( $0.458 \pm 0.066$ ). Por otra parte, el grosor de las PC tuvo una media de  $0.0619 \pm 0.0913$ , medida la cual no se pretende alcanzar en este trabajo, sin embargo, es útil conocerla debido a que es un medio muy utilizado para empacar alimentos, entre otros.

**Tabla 8.**

Resultados del análisis de grosor de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales

|             | Tipo de película    |                      |                     |                     |                     |
|-------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|             | PC                  | CH AEC               | CH AEO              | CH-AL AEC           | CH-AL AEO           |
| Grosor (mm) | $0.0619 \pm 0.0913$ | $0.4868 \pm 0.068^b$ | $0.482 \pm 0.052^b$ | $0.402 \pm 0.040^a$ | $0.458 \pm 0.066^b$ |

Los valores mostrados son el promedio de mediciones por triplicado  $\pm$  desviación estándar. Los valores promedio en cada columna con letras diferentes representan una diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

CH AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: quitosano con aceite esencial de orégano, PC: película comercial.

Al analizarse estadísticamente por Tukey Kramer, se observa que las mayores diferencias estadísticas están entre las películas elaboradas con CH y las elaboradas con la mezcla CH-AL independientemente del aceite esencial utilizado.

Esto contradice lo reportado por Jiménez-Regalado et al., (2021) quienes, al aumentar la concentración de almidón, obtuvieron películas más gruesas.



La adición de aceite esencial incrementa el grosor de las películas, como lo reporta (do Evangelho et al., 2019) quienes elaboraron películas de almidón de maíz con aceite esencial de naranja, y su incorporación incrementó el espesor de las películas. También Dashipour et al., (2015) reportaron aumento de espesor para películas de carboximetilcelulosa que contenían AE de *Zataria multiflora*.

Resultados similares fueron obtenidos (Luís et al., 2019) quienes incorporaron de aceite esencial de regaliz, ellos atribuyen esto al atrapamiento de microgotas de aceite en la matriz de la película, como resultado del procedimiento de homogeneización, que dan lugar a películas menos densas; es decir la presencia del aceite esencial disminuye su densidad aparente y esta puede estar asociada con el proceso de emulsión creado por el mezclado, dando como resultado una cantidad sustancial de espacio vacío en la película, aumentando también su espesor.

Estos resultados difieren con los de Shen & Kamdem, (2015) quienes reportan que al incorporar aceite esencial de orégano en su película de quitosano, no afectó significativamente el espesor ( $p > 0.05$ ), y con Gómez-Contreras et al., (2021) quienes, al agregar aceites esenciales de lima, hinojo y lavanda a la matriz a base de almidón, el espesor disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ).

Los datos obtenidos no coinciden con lo obtenido por otros autores como Ojagh et al., (2010) quienes trabajaron con quitosano y aceite esencial de canela, donde el espesor de las películas varió entre 0.095 y 0.107 mm, o Nisar et al., (2018) donde con la adición de aceite esencial de yema de clavo a películas condujo a un espesor que osciló entre 0.057 y 0.094 mm. Tampoco coincide con los estudios de Li, (2019) quienes incorporaron aceite esencial de clavo a películas de quitosano con almidón y reportaron grosor entre 0.065 y 0.072 mm, o Jiménez-Regalado et al., (2021) quienes obtuvieron espesores en rangos de 0.049 a 0.110 mm.



### 8.3.1.2. Colorimetría

Las propiedades ópticas son características de las superficies que son detectadas por la visión humana y afectan algunos aspectos cruciales de la calidad de los alimentos. La microestructura interna y superficial de la película juega un papel importante en las propiedades ópticas de la película. El color de las películas influye directamente en la apariencia del producto y la preferencia del consumidor (López et al., 2014). Como se observa en la tabla 7, los resultados para el parámetro  $L^*$  arrojan los mayores valores en CH-AL AEC ( $90.3030 \pm 1.295$ ), seguida de CH-AL AEO ( $89.704 \pm 1.323$ ), CH AEC ( $87.181 \pm 1.568$ ) y por último CH AEO ( $86.886 \pm 1.671$ ). Para el atributo  $a^*$  los valores más bajos estuvieron en CH AEC ( $-1.525 \pm 0.722$ ), seguida de CH-AL AEC ( $-1.14420 \pm 0.197$ ), CH AEO ( $-1.1044 \pm 0.928$ ) y por último CH-AL AEO ( $-0.8575 \pm 0.655$ ). Por otra parte, para el parámetro  $b^*$ , se obtuvo valores mayores para CH AEO ( $35.606 \pm 4.569$ ), seguida de CH AEC ( $32.75 \pm 4.762$ ), CH-AL ( $20.7950 \pm 2.248$ ) y por último CH-AL AEO ( $18.486 \pm 2.3659$ ).

**Tabla 9.**

Parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de colorimetría de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales

| Parámetro | Tipo de película     |                          |                       |                       |
|-----------|----------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|
|           | CH AEC               | CH AEO                   | CH-AL AEC             | CH-AL AEO             |
| $L^*$     | $87.181 \pm 1.568^a$ | $86.886 \pm 1.671^a$     | $90.3030 \pm 1.295^b$ | $89.704 \pm 1.323^b$  |
|           | $-1.525 \pm 0.722^a$ | $-1.1044 \pm 0.928^{ab}$ | $-1.14420 \pm .197^a$ | $-.8575 \pm .655^b$   |
| $a^*$     | $32.75 \pm 4.762^b$  | $35.606 \pm 4.569^b$     | $20.7950 \pm 2.248^a$ | $18.486 \pm 2.3659^a$ |
| $b^*$     |                      |                          |                       |                       |

Los valores mostrados son el promedio de mediciones por triplicado  $\pm$  desviación estándar. Los valores promedio en cada columna con letras diferentes representan una diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). CH AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: quitosano con aceite esencial de orégano.



Al hacer el análisis de Tuckey Kramer, se observó que para los parámetros  $L^*$  (luminosidad) y  $b^*$  (amarillo/azul) de las películas de CH y CH-AL tienen diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), independientemente del aceite esencial utilizado. Dicho resultado coincide con lo reportado por Ren et al., (2017), quienes hicieron películas de almidón con 5 concentraciones de quitosano, donde la luminosidad ( $L^*$ ) de la película de almidón disminuyó ligeramente al agregar quitosano.

Para el parámetro  $b^*$  lo encontrado coincide con Bof et al., (2015) donde las películas preparadas con quitosano tenían un color ligeramente amarillento, y con Ren et al., (2017) en el cual los valores  $b^*$  de las películas adicionadas con quitosano aumentaron significativamente ( $p < 0,05$ ), y explican que el aumento de la concentración de quitosano es el factor principal del cambio de color. Se ha reportado que, aunque las películas a base de polisacáridos suelen ser incoloras, las de quitosano presentan un ligero color amarillento, lo cual se atribuye a las reacciones de Maillard ocurridas entre los grupos amino e hidroxilo de las moléculas de quitosano (López et al., 2014).

Para el parámetro  $a^*$  (rojo/verde) las películas de CH AEC y CH-AL AEC (a), presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) respecto a CH-AL AEO (b), sin embargo, CH AEO no presenta diferencias estadísticas con el resto de formulaciones (ab). El parámetro  $a^*$  tiene valores negativos, lo que denota que el color verde está presente con más o menos intensidad en todas las películas.

Lo anteriormente expuesto, explica que la adición del almidón a nuestras películas incrementa la luminosidad de las formulaciones y disminuye la coloración amarilla, independientemente del aceite utilizado, en comparación con las películas de quitosano. Las propiedades relativas al color de las películas son muy importantes para definir su utilización como empaque de un producto determinado.



La transparencia y el color de las películas afectan la apariencia del producto, por lo cual se consideran un factor de calidad importante (Reyes-Chaparro et al., 2015).

### 8.3.1.3. pH

El valor del pH de la mezcla filmógena es un indicador de la calidad y actividad antimicrobiana de las películas Elshamy et al., (2021). Como resultado del análisis de pH, se observa que los valores más altos los tuvieron las películas de CH AEO ( $4.88 \pm 0.046$ ), seguidas de CH AEC ( $4.652 \pm 0.052$ ), CH-AL AEO ( $4.422 \pm 0.272$ ) y en último sitio CH-AL AEC ( $4.348 \pm 0.131$ ). Esto significa que las películas de quitosano con aceites esenciales son más ácidas que las de la mezcla CH-AL con aceites esenciales. Al realizar el análisis estadístico, se observa que las películas que tienen mayor diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) entre sí, son CH AEC y CH-AL AEO, lo que podría deberse a que tienen diferencia en los polímeros y en el tipo de aceite utilizado en su formulación.

Autores como Homayonpour et al., (2021) mencionan que las soluciones formadoras de película con quitosano tienen pHs bajos, debido a que este se diluye en soluciones ácidas, contrario a las soluciones de almidón que se diluyen solo en agua destilada.

**Tabla 10.**

Resultados del análisis de pH de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales

|    | Tipo de película        |                    |                     |                      |
|----|-------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|
|    | CH AEC                  | CH AEO             | CH-AL AEC           | CH-AL AEO            |
| pH | $4.652 \pm 0.052$<br>bc | $4.88 \pm 0.046$ c | $4.348 \pm 0.131$ a | $4.422 \pm 0.272$ ab |

Los valores mostrados son el promedio de mediciones por triplicado  $\pm$  desviación estándar. Los valores promedio en cada columna con letras diferentes representan una diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). CH AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: quitosano con aceite esencial de orégano.



#### 8.3.1.4. Isotermas de sorción

Uno de los factores que más incide y preocupa a la hora de diseñar y utilizar un material completamente biodegradable es la susceptibilidad o daño del material por el contacto con el agua ya que la mayoría de los biopolímeros son hidrófilos (Zhang, et al., 2021). Las isotermas de sorción son una representación gráfica que muestra la relación entre el contenido de humedad en un alimento y la actividad del agua a una temperatura constante. En este contexto, el material se encuentra en equilibrio higroscópico con su entorno, y no hay cambios en el peso de la muestra. Estas gráficas son dependientes de la estructura y composición del material sorbente, así como de la temperatura ambiente (Omana et al., 2010). Las isotermas son útiles para calcular el contenido final de humedad y determinar las condiciones más apropiadas para la estabilidad durante el almacenamiento (Mayor et al., 2005).

El comportamiento de adsorción de vapor de agua de los materiales es un parámetro importante que debe evaluarse al considerar su uso como película de empaque. La humedad que estos envases pueden adsorber cuando se exponen a determinadas condiciones ambientales es un factor que influye y puede modificar sus propiedades mecánicas y de barrera a gases (Jiménez-Regalado et al., 2021).

Los resultados de los isotermas de sorción se muestran en la tabla 8, en la cual podemos observar el comportamiento de los 4 tipos de películas en las 6 diferentes sales con sus respectivas humedades relativas.

Así mismo en las figuras 13-16 se muestra el comportamiento de las películas de CH AEC, CH AEO, CH-AL AEC, CH-AL AEO, donde resalta que las películas más higroscópicas fueron las de las formulaciones CH AEC y CH AEO.



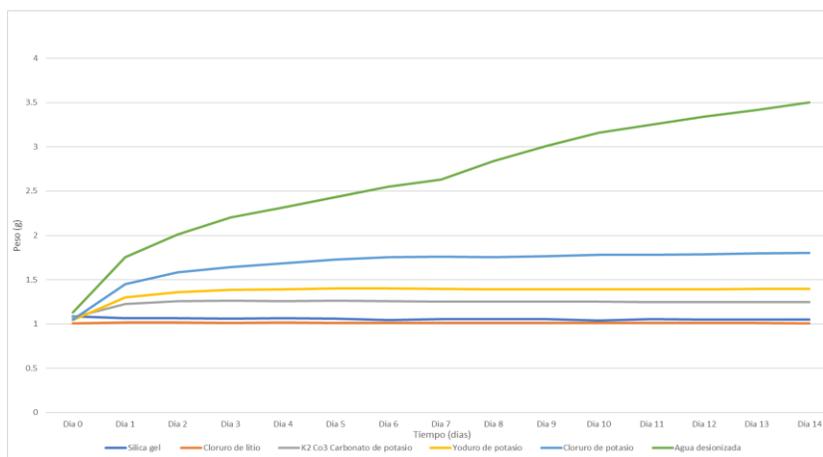
Tabla 11.

Resultados de los isotermas de sorción para las 4 formulaciones de películas con biopolímeros y aceites esenciales a diferentes humedades relativas

| Película  | Compuesto            | Humedad relativa | Humedad inicial (g agua/g base seca) |      | Humedad final en el equilibrio (g agua/g base seca) |       | Ganancia o pérdida de agua ( $\Delta$ g agua) | Ecuación de Landrock y Proctor (H <sub>2</sub> O/100 gr muestra) |         |
|-----------|----------------------|------------------|--------------------------------------|------|---|-------|---|--|---------|
|           |                      |                  | Promedio                             | SD   | Promedio  | SD    |   | Promedio   | SD      |
| CH AEC    | Sílica gel           | 0%               | 2.11                                 | 0.03 | 1.177   | 0.322 | -0.937  | -3.570   | 0.0489  |
|           | Cloruro de litio     | 19%              | 2.11                                 | 0.03 | 1.252   | 0.398 | -0.862  | 0.272  | 0.4294  |
|           | Carbonato de potasio | 40%              | 2.11                                 | 0.03 | 1.555   | 0.346 | -0.558  | 15.848   | 0.7390  |
|           | Yoduro de potasio    | 70%              | 2.11                                 | 0.03 | 3.054   | 0.498 | 0.940   | 33.579   | 0.3241  |
|           | Cloruro de potasio   | 87.41%           | 2.11                                 | 0.03 | 3.371   | 0.406 | 1.257   | 71.876   | 0.4348  |
| CH AEO    | Agua desionizada     | 100%             | 2.11                                 | 0.03 | 10.199  | 1.626 | 8.086   | 210.609  | 51.8443 |
| CH AEO    | Sílica gel           | 0%               | 2.17                                 | 0.01 | 1.177   | 0.322 | -0.998  | -0.776   | 0.8322  |
|           | Cloruro de litio     | 19%              | 2.17                                 | 0.01 | 1.252   | 0.398 | -0.923  | 2.661  | 0.5017  |
|           | Carbonato de potasio | 40%              | 2.17                                 | 0.01 | 1.555   | 0.346 | -0.620  | 16.487   | 0.4529  |
|           | Yoduro de potasio    | 70%              | 2.17                                 | 0.01 | 3.054   | 0.498 | 0.879   | 30.704   | 0.2764  |
|           | Cloruro de potasio   | 87.41%           | 2.17                                 | 0.01 | 3.371   | 0.406 | 1.196   | 66.215   | 0.5930  |
| CH-AL AEC | Agua desionizada     | 100%             | 2.17                                 | 0.01 | 10.199  | 1.626 | 8.025   | 270.447  | 11.4251 |
| CH-AL AEC | Sílica gel           | 0%               | 1.17                                 | 0.04 | 1.431   | 0.289 | 0.259   | -0.577   | 1.1289  |
|           | Cloruro de litio     | 19%              | 1.17                                 | 0.04 | 1.686   | 0.114 | 0.515   | 3.491  | 3.0245  |
|           | Carbonato de potasio | 40%              | 1.17                                 | 0.04 | 2.166   | 0.457 | 0.995   | 17.409   | 11.7977 |
|           | Yoduro de potasio    | 70%              | 1.17                                 | 0.04 | 1.932   | 1.092 | 0.760   | 27.714   | 7.5177  |
|           | Cloruro de potasio   | 87.41%           | 1.17                                 | 0.04 | 3.015   | 1.690 | 1.843   | 46.533   | 31.5672 |
| CH-AL AEO | Agua desionizada     | 100%             | 1.17                                 | 0.04 | 5.348   | 1.593 | 4.177   | 104.948  | 59.1235 |
| CH-AL AEO | Sílica gel           | 0%               | 1.67                                 | 0.39 | 0.167   | 0.039 | -1.503  | -2.090   | 0.1232  |
|           | Cloruro de litio     | 19%              | 1.67                                 | 0.39 | 0.283   | 0.101 | -1.387  | 1.576  | 0.1508  |
|           | Carbonato de potasio | 40%              | 1.67                                 | 0.39 | 0.399   | 0.027 | -1.271  | 20.841   | 3.4607  |
|           | Yoduro de potasio    | 70%              | 1.67                                 | 0.39 | 0.585   | 0.024 | -1.085  | 32.962   | 0.1478  |
|           | Cloruro de potasio   | 87.41%           | 1.67                                 | 0.39 | 1.144   | 0.076 | -0.526  | 61.195   | 4.3961  |
| CH-AL AEO | Agua desionizada     | 100%             | 1.67                                 | 0.39 | 2.235   | 0.217 | 0.565   | 152.111  | 23.1434 |

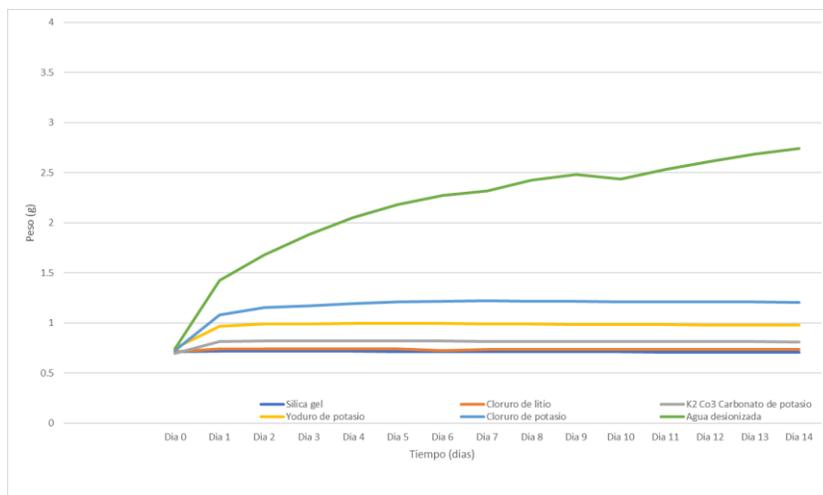
**Figura 13.**

Isotermas de sorción en películas de CH con AEC, se observa que los compuestos que más agua absorbieron fueron agua desionizada (210.609), seguido de KCl (71.876), KI (33.579), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15.848), LiCl (0.272) y por último Sg (-3.570). Estos últimos compuestos se mantuvieron y perdieron agua, respectivamente.



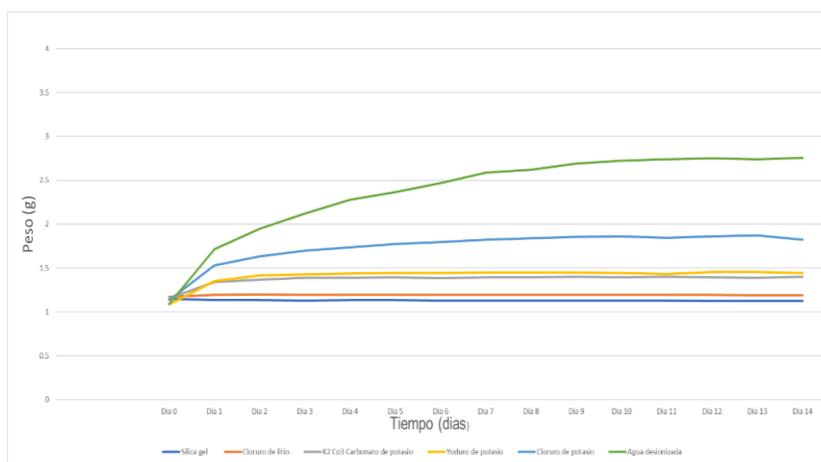
**Figura 14.**

Isotermas de sorción en películas de CH con AEO, se observa que los compuestos que más agua absorbieron fueron agua desionizada (270.447), seguido de KCl (66.215), KI (30.704), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(16.487), LiCl (2.661) y por último Sg (-0.776). Estos últimos compuestos se mantuvieron y perdieron agua, respectivamente.



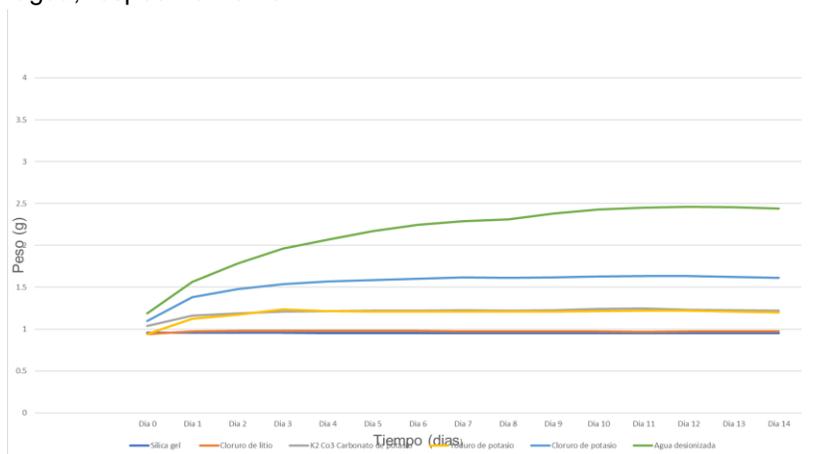
**Figura 15.**

Isotermas de sorción en películas de AL-CH con AEO, se observa que los compuestos que más agua absorbieron fueron agua desionizada (152.111), seguido de KCl (61.195), KI (32.962), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20.841), LiCl (1.576) y por último Sg (-2.09). Estos últimos compuestos se mantuvieron y perdieron agua, respectivamente.



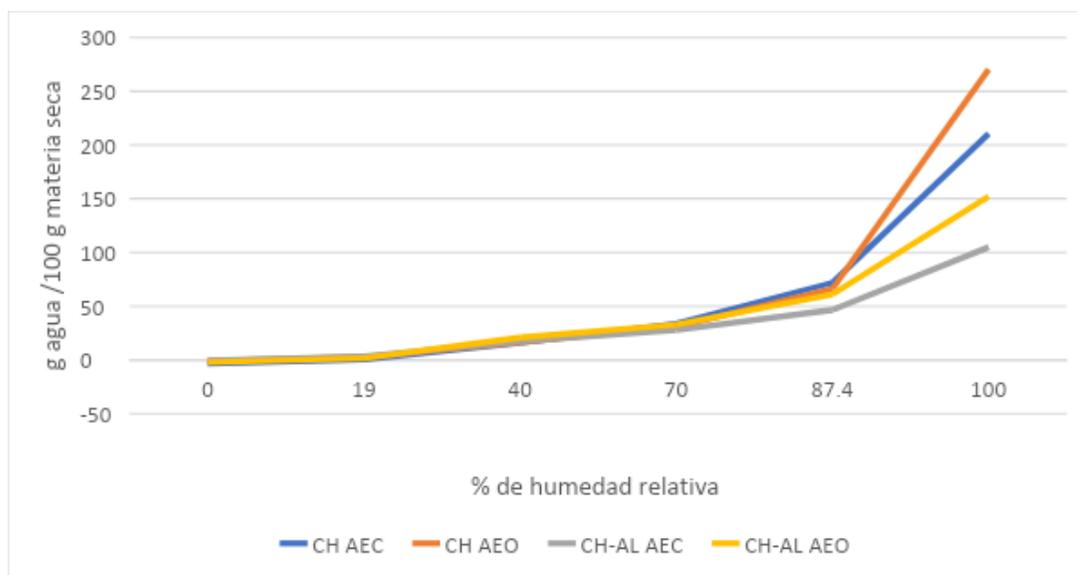
**Figura 16.**

Isotermas de sorción en películas de AL-CH con AEC, se observa que los compuestos que más agua absorbieron fueron agua desionizada (104.948), seguido de KCl (46.533), KI (27.714), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(17.409), LiCl (3.491) y por último Sg (-0.577). Estos últimos compuestos se mantuvieron y perdieron agua, respectivamente.



**Figura 17.**

Isotermas de sorción de humedad de películas de CH AEC, CH AEO, CH-AL AEC y CH-AL AEO a  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  datos experimentales y ajustados a los modelos GAB (Guggenheim, Anderson y De Boer).



Como se puede observar en la Figura 17, las 4 formulaciones de películas con biopolímeros comenzaron a mostrar diferencias en la absorción de agua a partir de 70% de humedad. Las películas que presentan mayores valores de g agua /100 g materia seca al alcanzar el equilibrio, fueron CH AEO (270.446), seguida de CH AEC (210.608) CH-AL AEO (152.11), y por último CH-AL AEC (104.948).

Estudios por parte de Ghasemlou et al., (2013) reportaron que, al añadir aceites esenciales a sus formulaciones, hubo una reducción en la permeabilidad al vapor de agua en sus películas. Ellos relacionaron este comportamiento con la presencia de interacciones de hidrógeno entre la red de almidón y compuestos polifenólicos de los aceites esenciales. Estas interacciones pueden restringir la disponibilidad de grupos de hidrógeno para la formación de enlaces hidrófilos con el agua, lo que puede resultar en una disminución en la afinidad de la película por esta última.



Zhang, et al, (2021) explica que la presencia de moléculas de agua y su interacción con los grupos polares de los biopolímeros a través de enlaces de hidrógeno entre cadenas reducen de forma progresiva la energía cohesiva del polímero, dando como resultado la plastificación de la matriz y aumentando el coeficiente de difusión. En el quitosano, este comportamiento puede explicarse por una mayor hidrofilia debido a la presencia de grupos  $-NH_3^+$ , grupos amino e hidroxilo que representan sitios de unión para las moléculas de agua en la cadena del quitosano.

Esto se complementa con lo reportado en el estudio de Jiménez-Regalado et al., (2021) donde se demostró que la adsorción de vapor de agua de las películas aumentó a medida que aumentaba la cantidad de quitosano en la formulación, por otra parte, las películas de almidón puro tuvieron la absorción de humedad más baja.

También, López et al (2014) y Xu et al., (2005) explican que al añadir quitosano a películas de almidón, se volvieron más permeable al vapor de agua. Se menciona que es debido al aumento de las interacciones entre quitosano y almidón de maíz (enlaces de hidrógeno), que disminuye la disponibilidad de los grupos hidrofílicos, por lo tanto, la tasa de transmisión de vapor de agua de la matriz disminuyó. Por otra parte, Chillo et al., (2008) encontraron que la permeabilidad también está fuertemente influenciada por el glicerol. La mayor hidrofiliidad en el estudio de Ojagh et al., (2010) se atribuyó a la capacidad de unión de agua del glicerol y de los grupos funcionales del quitosano, debido a que la adición de aceite esencial aumentó el ángulo de contacto con el agua de las películas y resultó en una disminución de la hidrofiliidad de las películas de quitosano, lo que podría deberse a la pérdida de grupos funcionales libres (grupos amino e hidroxilo).



### 8.3.1.5. Humedad y actividad de agua

El contenido de humedad es un indicador crítico de la actividad del agua de las películas Elshamy et al., (2021). Además, controlar el contenido de humedad es crucial para producir películas de alta calidad con mejores propiedades de barrera.

Los resultados de los análisis de humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) de las formulaciones elaboradas se muestran en la tabla 9. Para humedad se observa que, los mayores valores se encontraron en CH AEO ( $2.174 \pm 0.012$ ), seguido de CH AEC ( $2.113 \pm 0.028$ ), CH-AL AEC ( $1.171 \pm 0.04$ ) y por último ( $1.67 \pm 0.326$ ). Por otra parte, para  $a_w$ , se encontraron los mayores valores para CH AEC ( $0.0533 \pm 0.001$ ) y CH AEO ( $0.0533 \pm 0.0005$ ), seguido de CH-AL AEC ( $0.0486 \pm 0.002$ ) y CH-AL AEO ( $0.0486 \pm 0.002$ ).

**Tabla 12.**

Humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales

| Propiedad                   | Tipo de película  |                                  |  |                                 |
|-----------------------------|---|----------------------------------|--|---------------------------------|
|                             | Películas elaboradas con quitosano y aceites esenciales |                                  | Películas elaboradas con quitosano (50%), almidón (50%) y aceites esenciales |                                 |
|                             | AEC   | AEO                              | AEC  | AEO                             |
| Humedad                     | $2.113 \pm 0.028$ <sup>c</sup>                          | $2.174 \pm 0.012$ <sup>c</sup>   | $1.171 \pm 0.04$ <sup>a</sup>  | $1.67 \pm 0.326$ <sup>b</sup>   |
| Actividad de agua ( $a_w$ ) | $0.0533 \pm 0.001$ <sup>a</sup>                         | $0.0533 \pm 0.0005$ <sup>a</sup> | $0.0486 \pm 0.002$ <sup>b</sup>  | $0.0486 \pm 0.001$ <sup>b</sup> |

Los valores mostrados son el promedio de mediciones por triplicado  $\pm$  desviación estándar. Los valores promedio en cada columna con letras diferentes representan una diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

CH AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: quitosano con aceite esencial de orégano.



Ojagh et al., (2010) encontraron que a medida que aumentó la concentración de aceites esenciales, el contenido de humedad de las películas disminuye significativamente. Esto coincide con resultados de Elshamy et al., (2021) quienes elaboraron películas de quitosano con aceite esencial de tomillo y hubo aumento en el contenido de humedad. La incorporación del aceite esencial tiene un impacto en la hidrofobicidad de la película con quitosano y aumenta la capacidad de la película para retener agua. Podría explicarse por el posible efecto del aceite esencial sobre las fuerzas de cohesión de la matriz de quitosano, provocando un cambio en la longitud de la cadena del polímero, afectando la hidrofobicidad de la película. Esos resultados se complementan con lo encontrado en los isothermas de sorción, demostrando que las películas no cambiarían sus propiedades ni las de los alimentos en cuestión mientras se mantengan en  $a_w$ 's cercanas a la suya.

### **8.3.1. Propiedades térmicas**

#### **8.3.1.1. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)**

Se realizó un análisis de calorimetría diferencial de barrido para evaluar la transición térmica de películas compuestas de quitosano (CH) y quitosano con almidón (CH-AL) con aceite esencial de clavo (AEC) y aceite esencial de orégano (AEO). La tabla 10 muestra las temperaturas de inicio de descomposición, máximo pico endotérmico (temperatura de fusión) y entalpías asociadas, para los picos observados. En la figura 18 se muestran los termogramas para las formulaciones y controles implementados.



Tabla 13.

Resultados del análisis térmico de formulaciones de películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales

| Tipo de película | CH                         |                            |                                  | Glicerol                    |                                  |                             |
|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
|                  | Inicio descomposición (°C) | Entalpía (J)               | Punto máximo descomposición (°C) | Inicio descomposición (°C)  | Punto máximo descomposición (°C) | Entalpía (J)                |
| CH AEC           | 52.98 ± 12.14 <sup>a</sup> | 23.885 ± 0.92 <sup>a</sup> | 84.485 ± 2.60 <sup>a</sup>       | 186.48 ± 5.91 <sup>a</sup>  | 235.77 ± 2.81 <sup>a</sup>       | 314.15 ± 8.13 <sup>a</sup>  |
| CH AEO           | 65.59 ± 10.91 <sup>a</sup> | 21.56 ± 1.32 <sup>a</sup>  | 91.21 ± 6.88 <sup>a</sup>        | 178.98 ± 1.39 <sup>a</sup>  | 238.11 ± 0.83 <sup>a</sup>       | 311.4 ± 9.33 <sup>a</sup>   |
| CH-AL AEC        | 53.93 ± 14.46 <sup>a</sup> | 28.44 ± 3.49 <sup>a</sup>  | 89.27 ± 0.90 <sup>a</sup>        | 178.65 ± 7.17 <sup>a</sup>  | 233.95 ± 6.78 <sup>a</sup>       | 367.05 ± 17.60 <sup>b</sup> |
| CH-AL AEO        | 76.06 ± 12.50 <sup>a</sup> | 31.22 ± 4.91 <sup>a</sup>  | 98.26 ± 4.87 <sup>a</sup>        | 184.48 ± 15.61 <sup>a</sup> | 240.08 ± 11.24 <sup>a</sup>      | 378.35 ± 14.35 <sup>b</sup> |
| CH AEC SG        | 123.97 ± 5.43              | 63.30 ± 4.00               | 140.05 ± 1.52                    | ND                          | ND                               | ND                          |
| CH POLVO         | 89.90 ± 4.75               | 112.48 ± 4.83              | 127.06 ± 7.86                    | ND                          | ND                               | ND                          |

Los valores son el promedio de mediciones por triplicado ± desviación estándar. Los valores promedio en cada columna con letras diferentes representan una diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). CH: quitosano, G: glicerol, CH AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: quitosano con almidón y aceite esencial de orégano, PC: película comercial, CH AEC SG: quitosano con aceite esencial de clavo sin glicerol, CH POLVO: quitosano en polvo, ND: no detectada.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis post hoc de Tukey Kramer, donde se observa diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) solo para la entalpía del segundo pico de las cuatro formulaciones elaboradas, difiriendo entre las formulaciones de CH (a) y CH-AL (b) independientemente del aceite esencial utilizado.

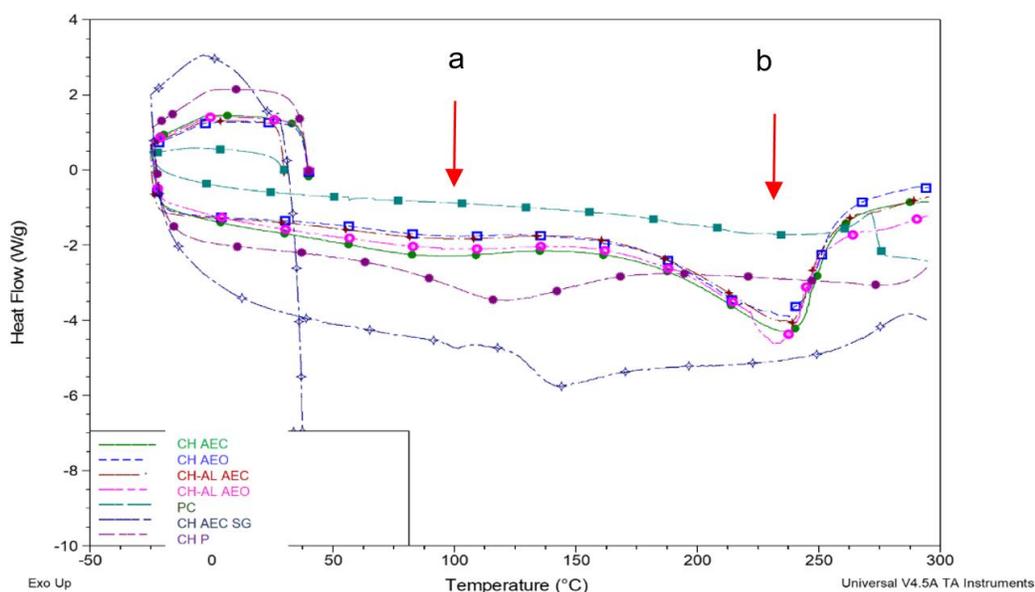
Los resultados de las propiedades térmicas muestran una tendencia similar en las 4 formulaciones lo que pudiera deberse a que la adición de almidón en las películas CH-AL AEC y CH-AL AEO solo representó el 1% p/v total.

Se observó un primer pico endotérmico (Figura 18) a 80-88 °C la cual pudiera asociarse a la gelatinización del almidón. En el estudio de Pineda et al., (2010),

estudiaron la gelatinización de almidón por DSC y encontraron que para para dicho proceso requiere de una temperatura entre 60 y 75 °C. En otro estudio de Chandra Dey et al., (2016) donde caracterizaron quitosano, encontraron que este mostró un pico endotérmico entre 77.78 – 80.44 °C, reportaron que es la temperatura de deshidratación, donde ocurre la pérdida de agua asociada con los grupos hidrófilos del quitosano. Refieren que estado sólido, el polisacárido del quitosano tiene una estructura desordenada y una fuerte afinidad por el agua y, como resultado, puede hidratarse fácilmente. Este pico sugirió que el quitosano no se secó por completo y aún había agua unida que no se eliminó durante el secado. Los picos endotérmicos indican la pérdida de agua o energía necesaria para la evaporación del agua de los recubrimientos, que se produjo debido a grupos hidrófilos del quitosano.

**Figura 18.**

Termogramas del DSC para las 4 formulaciones de películas elaboradas y el control. CH AEC: Quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, PC: Película comercial, CH AEC SG: Quitosano con aceite esencial de clavo sin glicerol, CH P: Quitosano en polvo, a: primer pico endotérmico, b: segundo pico endotérmico.





Se observa una segunda señal endotérmica (Figura 18), en el intervalo de temperatura de 170 a 270 °C, autores como de Morais Lima et al., (2017) señalan que la descomposición del glicerol ocurre en el rango de 120 y 300 °C. Por otro lado, Jiménez-Regalado et al., (2021) al elaborar películas de quitosano con almidón y encontraron picos endotérmicos, donde señalaron que el glicerol se evapora a aproximadamente 290 °C. Esto se pudo corroborar con las muestras de quitosano en polvo (CH P) y la película de quitosano con aceite esencial de clavo sin glicerol (CH AEC SG) las cuales no presentan este pico endotérmico.

En el termograma de CH P se observa que la temperatura de degradación para el quitosano puro fue de 120°C, este resultado coincide con estudios realizados por Thomas et al., (2016) en el cual evaluaron estabilidad térmica de películas con quitosano y polímero CMC con glicerol y formaldehído. También coincide con la temperatura de Zuo et al., (2013) quienes hicieron películas de quitosano y óxido de grafeno, y reportan el pico endotérmico correspondiente al quitosano a 120°C.

Del mismo modo en el tratamiento CH AEC SG se observan dos picos endotérmicos, el primero correspondiente a la temperatura de transición vítrea del quitosano, la cual es reportada en el estudio de Jiménez-Regalado et al., (2021) en aproximadamente 120°C. Entre los factores que afectan esta señal está el plastificante (glicerol). (Jiménez-Regalado et al., 2021) esto explicaría por qué en esta película donde no se adicionó es posible detectar dicha señal. El segundo pico podría corresponder a la degradación térmica del quitosano, debido a que al no haber plastificante aumenta la temperatura de degradación térmica del polímero (Suyatma et al., 2005).

Finalmente, para la mayoría de las muestras, excepto ACH AEC SG, no se observó transición vítrea debido a que los componentes de la solución formadora de película poseen temperaturas de evaporación y descomposición similares donde se genera esta transición.



Esto puede se puede complementar con el estudio de Arik Kibar & Us, (2013) quienes elaboraron películas con almidón de maíz y carboximetilcelulosa/metilcelulosa, y mencionan que es poco probable esperar transiciones vítreas de matrices compuestas de polisacáridos debido a su comportamiento de plastificación similar en presencia de plastificantes. Estos reducen las fuerzas entre moléculas y aumentan la movilidad de las cadenas de polímeros, de esta forma, los plastificantes disminuyen la temperatura de transición vítrea. En dicho estudio, mencionan que en las formulaciones de películas sin glicerol se observaron más transiciones vítreas en comparación con la formulación que sí lo contenía.

Para la película comercial PC se encontraron valores de  $181.95 \pm 4.21$  para el inicio de descomposición, un punto máximo de descomposición de  $278.49 \pm 0.47$  y entalpía de  $71.87 \pm 2.77$ .

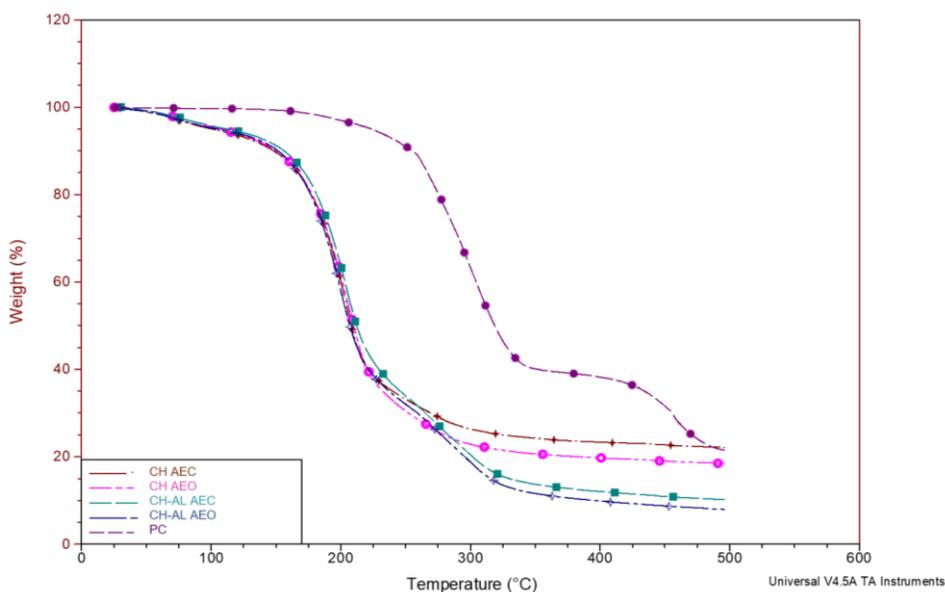
### **8.3.1.2. Análisis termo gravimétrico (TGA)**

El análisis termogravimétrico se utilizó para evaluar la estabilidad térmica a altas temperaturas (hasta 500 °C) de los materiales utilizados para elaborar películas antimicrobianas. Esto es importante ya que estas pueden estar expuestas a temperaturas más altas durante la operación de empaque (sellado). Se realizó TGA para comparar la estabilidad térmica de las cuatro formulaciones de películas compuestas de quitosano (CH) y quitosano con almidón (CH-AL) con aceites esenciales (AEs), los resultados se muestran en la figura 19.

Estas pérdidas de peso se asocian con la evaporación del agua (TA-150 °C) (Zuo et al., 2013) descomposición de sustancias volátiles como el glicerol (a 150-225 °C) y finalmente descomposición pirolítica del quitosano (a partir de 280 °C) (Pelissari et al., 2009).

**Figura 19.**

Termogramas TGA para las 4 formulaciones de películas elaboradas y el control. CH AEC: Quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, PC: Película comercial.



Autores como Dos pasos et al., (2020) mencionan que el primer evento térmico, suele ocurrir por evaporación de agua y ácido acético. En el segundo evento térmico, la pérdida de masa podría estar asociada con la degradación de compuestos de menor peso molecular, agua unida y glicerol (Shen & Kamdem, 2015) Finalmente, el tercer evento térmico podría corresponder a la degradación del quitosano, los eventos térmicos restantes podrían estar asociados con la degradación de los componentes volátiles que componen a los aceites esenciales, sin embargo, autores como Shen et al., (2021) encontraron que el contenido de aceite esencial no afectó significativamente la estabilidad térmica de la película.



Los resultados de TGA indican que las películas formuladas con quitosano (CH) y quitosano con almidón (CH-AL) con aceite esencial de clavo (AEC) y aceite esencial de orégano (AEO) generaron una estabilidad térmica satisfactoria ya que los cambios ocurren a temperaturas superiores a 100 °C.

El propósito de este tipo de película es ser utilizado sobre una matriz alimentaria, la cual, para su elaboración, manipulación y almacenamiento se dará a bajas temperaturas, 7°C máximo según la NOM-251-SSA1-(2009)

La muestra control (PC) posee mayor estabilidad térmica, debido a que empieza a degradarse aproximadamente a los 230°C, sin embargo, estas películas son elaboradas de cloruro de polivinilo (PVC), el cual al utilizarse a altas temperaturas es propenso a liberar materiales tóxicos al medio ambiente (Boettner & Ball., 2010). Las formulaciones elaboradas con biopolímeros y AEs pueden ser una alternativa de reemplazo de dicho material, debido a que este material causa daños ambientales al ser un polímero sintético con baja biodegradabilidad (Navarro et al., 2019).

### **8.3.2. Propiedades mecánicas**

#### **8.3.2.1. Pruebas de tensión**

Las propiedades mecánicas de las películas de empaque son importantes para mantener la integridad de los alimentos envasados, ya que a menudo están sujetas a tensiones externas y deben mantener la integridad de su estructura durante el embalaje, transporte y almacenamiento (Xu et al., 2020).

La fuerza de ruptura (FR) se reconoce como la tensión máxima soportada por la película antes de la rotura y el porcentaje de alargamiento a la rotura (AR) es una propiedad mecánica que brinda información sobre la deformación de un material antes de romperse.



Si el material se propone para algunas aplicaciones de envasado de alimentos, es obligatoria cierta deformación antes de la fractura (Nizar et al., 2017).

Los valores de FR y AR obtenidos para las películas de CH, CH-AL con aceites esenciales y PC se observan en la Tabla 11 y en la Figura 19 y 20. De las películas analizadas, la PC tuvo una FR y un AR notablemente superior (2.8153 MPa y 145.063 %) al resto. Sin embargo, dentro de las películas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales, las elaboradas con CH AEC tuvieron FR y AR superior al resto de ellas (0.261 MPa y 25.36% respectivamente), seguidas de CH AEO (0.247a MPa y 23.734%), CH-AL AEO (0.159 MPa y 20.745%) y por último CH-AL AEC (0.147 MPa y 17.564%).

El análisis estadístico de formulaciones de películas con biopolímeros y aceites esenciales se observa en la (tabla 11). Para el parámetro alargamiento a la rotura (AR) los tratamientos CH AEC y CH AEO no muestran diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), sin embargo, los tratamientos CH-AL AEC y CH-AL AEO con adición de almidón, muestran una reducción en la fuerza de ruptura (FR). En el estudio de Kalateh-Seifari et al., (2021) se caracterizaron películas de almidón con quitosano en diferentes proporciones (70:30, 50:50, and 30:70 (p/p) con nanoemulsiones de aceites esenciales. Los resultados mostraron que la resistencia a la tracción estaba directamente relacionada con la relación de quitosano y almidón y los aceites esenciales incorporados.

De los componentes, los que tuvieron mayor impacto en la fuerza de ruptura fueron las diferentes concentraciones de los polímeros. Mencionan que al aumentar aceite esencial hubo un aumento en la fuerza de ruptura.

En el estudio de Xuan et al., (2022) se elaboraron películas de quitosano y almidón, reportando que la fuerza de ruptura de sus películas disminuyó significativamente de 3,22 MPa a 0,78 MPa ( $p < 0,05$ ) con el cambio en la concentración de almidón del 2,5 % al 7,5 % en peso.

**Tabla 14.**

Fuerza de ruptura (FR) y alargamiento a la rotura (AR) de las películas antimicrobianas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales

| Propiedad mecánica           | PC               | CH AEC                      | CH AEO                      | CH-AL AEC                   | CH-AL AEO                   |
|------------------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Fuerza de ruptura (MPa)      | 2.815 ± 0.115    | 0.261 ± 0.037 <sup>a</sup>  | 0.247 ± 0.021 <sup>a</sup>  | 0.147 ± 0.035 <sup>b</sup>  | 0.159 ± 0.018 <sup>b</sup>  |
| Alargamiento a la rotura (%) | 145.063 ± 20.334 | 25.363 ± 4.393 <sup>a</sup> | 23.734 ± 1.162 <sup>a</sup> | 17.564 ± 4.037 <sup>a</sup> | 20.745 ± 0.876 <sup>a</sup> |

Los valores son el promedio de mediciones por triplicado ± desviación estándar. Los valores promedio en cada columna con letras diferentes representan una diferencia significativa según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

CH: quitosano, G: glicerol, CH AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: quitosano con almidón y aceite esencial de orégano, PC: película comercial.

Dichos autores reportan disminución del alargamiento de rotura, parámetro que no se vio afectado en este estudio. Li et al., (2013) elaboraron películas de quitosano con almidón y mencionan que la reticulación entre almidón y quitosano restringe el movimiento molecular de ambas macromoléculas y puede reducir el alargamiento de rotura de las películas de la mezcla, sin embargo, en este trabajo no se observó diferencia entre los tratamientos.

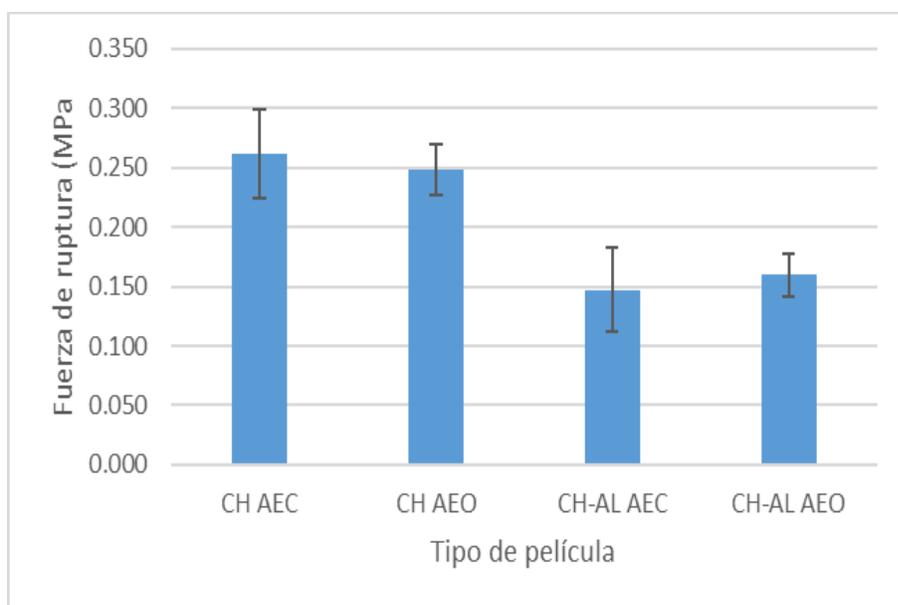
Skurtys, (2010) reportan que, para películas de polisacáridos, los valores de FR pueden variar entre 10 y 100 MPa (Megapascasles), mientras que los valores de AR oscilan entre 1 y 80%. De lo anteriormente citado, el AR coincide a nuestros resultados, debido a que tuvo un alargamiento de 17.564 ± 4.037 hasta 25.363 ± 4.393.

Todos los tratamientos muestran diferencias con PC ya que este material está elaborado a base de cloruro de polivino (PVC). Autores como Taweecat et al., (2021) que elaboraron películas con extracto de cascara de plátano, reportan que las películas de PVC mostraron un mayor valor de FR en comparación con sus formulaciones.



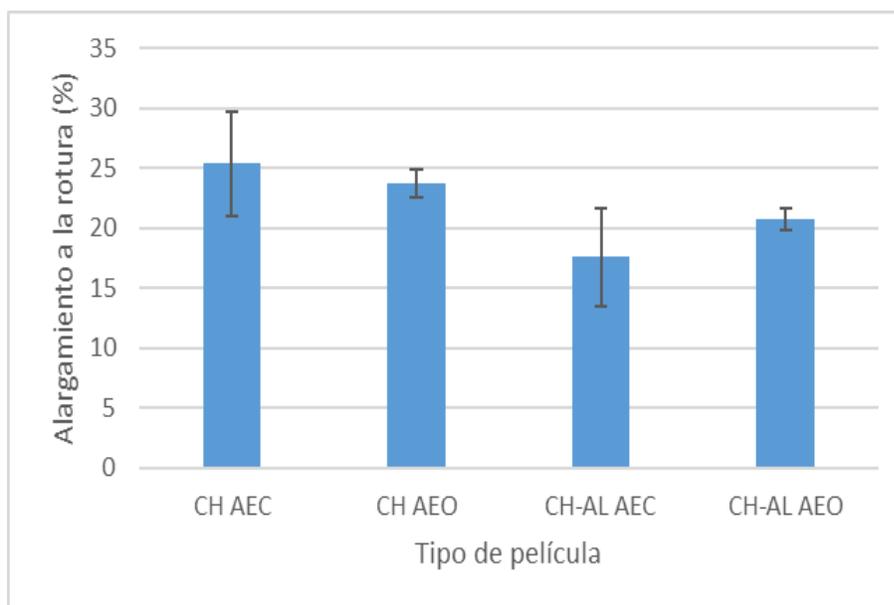
En otro estudio de Flórez et al., (2022) evaluaron el efecto de la elaboración de películas de quitosano con aceite esencial de *Santalum album* en diferentes concentraciones (0.5, 1, 1.5 y 2%) encontrando rangos de 2.20-11.40 MPa en FR y de 27.68-94.53% en AR. Los valores de FR disminuyeron mientras que AR aumentaron por la adición de AE.

**Figura 20.** Resultados de fuerza de ruptura de las 4 formulaciones de películas elaboradas. CH AEC: Quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo.



**Figura 21.**

Resultados de alargamiento de las 4 formulaciones de películas elaboradas. CH AEC: Quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano, CH-AL AEC: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo, CH-AL AEO: Quitosano con almidón y aceite esencial de clavo.



Hosseini et al., (2015) proponen que la incorporación de aceite esencial en películas de quitosano podría interrumpir las interacciones polímero-polímero, lo que conduciría a interacciones aceite-polímero más débiles, dando como resultado un efecto plastificante del aceite esencial.

Estas interacciones provocan estructuras menos rígidas, debido a la reducción de las fuerzas de cohesión entre los polímeros, disminuyendo los valores de FR y aumentando el AR. La misma tendencia se observó cuando se agregaron aceites esenciales de *Origanum vulgare* (Hosseini et al., 2015) o *Melaleuca alternifolia* (Cazon et al., 2021) a películas de quitosano.



Los resultados de Hosseini et al., (2015) mostraron que la incorporación de aceite esencial de *Origanum vulgare* provocó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) en la resistencia a la tracción (FR) aunque no se observó un cambio significativo en el alargamiento a la rotura (AR) lo que coincide con lo encontrado en este estudio.

Ojagh et al., (2010) encontraron que la incorporación de AE de en las películas de quitosano aumentó significativamente los valores de resistencia a la tracción ( $p < 0.05$ ).

Feng et al., (2012) elaboraron películas de quitosano con almidón con alto contenido de amilosa, y mencionan que las películas de almidón suelen ser muy quebradizas. Aunque la adición de quitosano facilitó la flexibilidad de las películas reduciendo la cristalinidad del almidón, incorporar demasiado puede reducirla, como resultado de la formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares en lugar de intermoleculares entre almidón y quitosano.

Según Kalateh-Seifari et al., (2021) diferentes aceites esenciales han mostrado diferentes efectos sobre las propiedades mecánicas de las películas de quitosano. Mencionan que los aceites esenciales de tomillo, clavo y canela aumentan el alargamiento a la rotura y la fuerza de ruptura, la canela y el jengibre condujeron a una mejora del 328% y el 111% del alargamiento a la rotura.

Generalmente, los aceites esenciales actúan como plastificantes y aumentan la flexibilidad de las cadenas poliméricas. La presencia de aceites esenciales en las películas puede provocar la formación de estructuras de red débiles, como resultado, la fuerza de ruptura puede disminuir y el alargamiento a la rotura puede aumentar Kalateh-Seifari et al., (2021) corroborado con los estudios de Pelissari et al., (2009).



### **8.3.3. Propiedades antimicrobianas de películas elaboradas con biopolímeros**

#### **8.3.4.1 Actividad antimicrobiana de las películas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales *in vitro***

El método de pruebas en placa de agar se utilizó debido a que simula el envoltorio de alimentos y brinda ideas de lo que puede suceder cuando las películas entran en contacto con superficies contaminadas y el agente antimicrobiano migra de la película al alimento (Appendini & Hotchkiss, 2002).

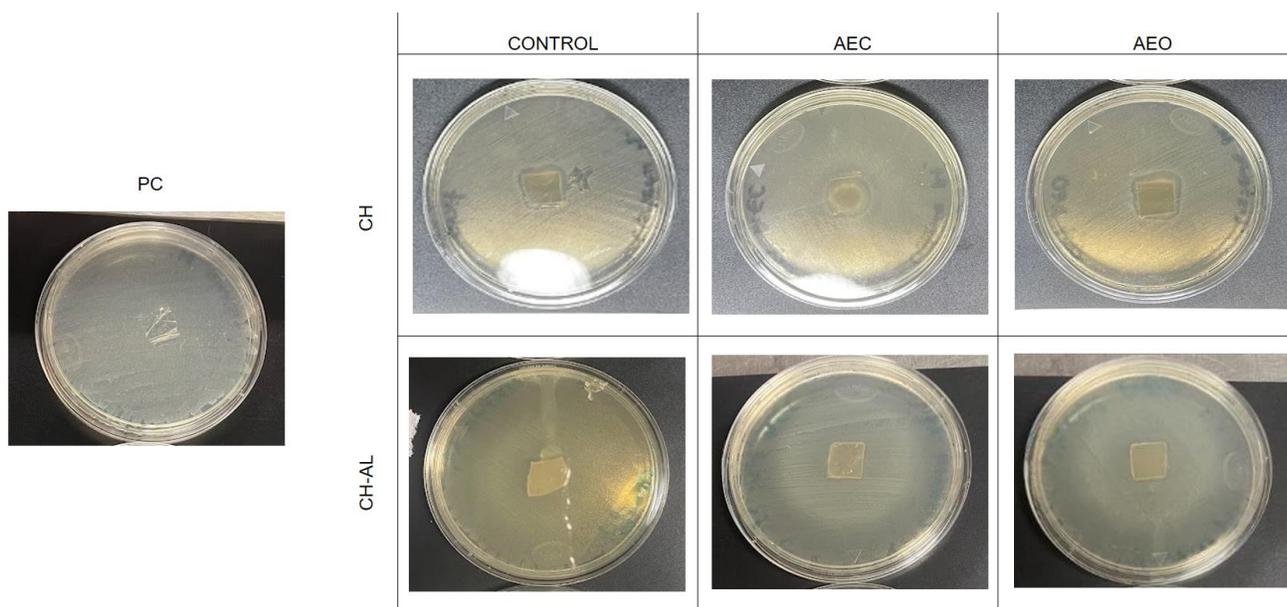
##### **8.3.4.1.1. Efecto antimicrobiano contra *Listeria monocytogenes***

Como se observa en la figura 10, para las películas de quitosano con *Listeria monocytogenes*, se observa que en los tres tratamientos con quitosano no se observó crecimiento microbiano sobre la película ni debajo de ella, contrario a lo sucedido en la PC donde si hubo crecimiento microbiano en el agar. En las películas de CH-AL se observa que en los dos tratamientos de CH-AL con aceites esenciales (AEs) no hubo crecimiento microbiano sobre las películas, sin embargo, se observa que en el tratamiento sin AE si hubo crecimiento de microorganismos.

**Figura 22.**

Resultados del análisis in vitro contra *Listeria monocytogenes*.

PC: película comercial, CH: quitosano, CH-AL: quitosano con almidón, CONTROL: película sin adición de aceite esencial, AEC: aceite esencial de clavo, AEO: aceite esencial de orégano.



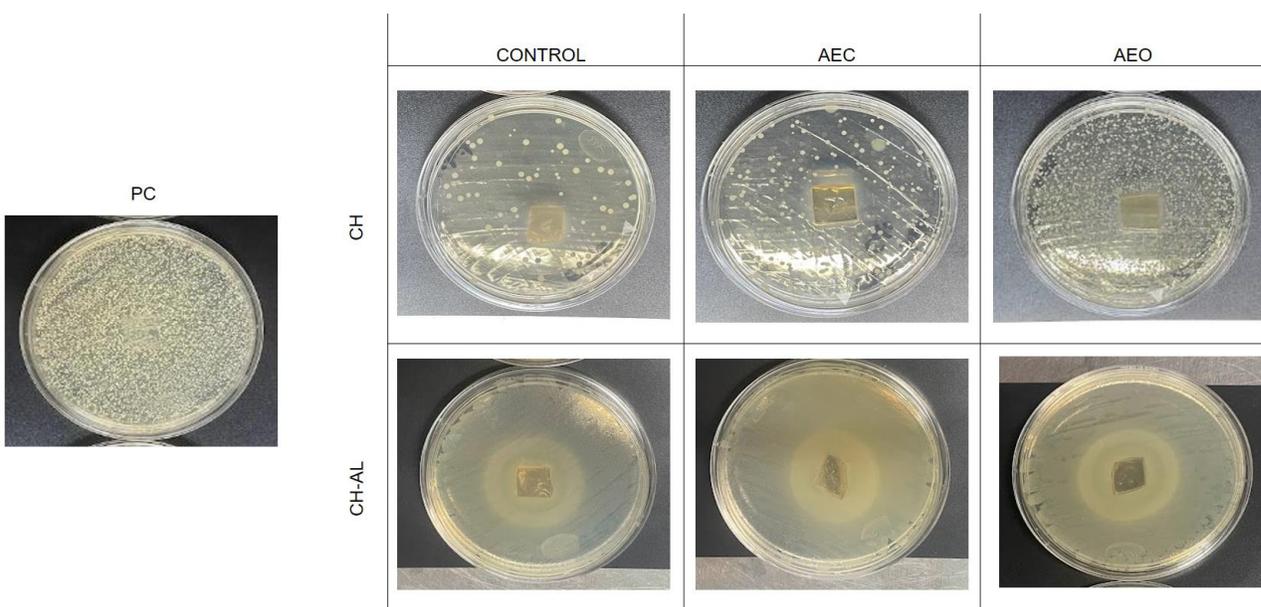
#### 8.3.4.1.2. Efecto antimicrobiano contra *E. coli*

Como se observa en la figura 11, las películas de CH y CH con AEs inhibieron el crecimiento microbiano debajo y sobre sí mismas. Respecto a las películas de CH-AL, se observa que las películas con estos biopolímeros con y sin AEs inhibieron el crecimiento microbiano debajo y sobre sí mismas.

**Figura 23.**

Resultados del análisis in vitro contra *Escherichia coli*

PC: película comercial, CH: quitosano, CH-AL: quitosano con almidón, CONTROL: película sin adición de aceite esencial, AEC: aceite esencial de clavo, AEO: aceite esencial de orégano.



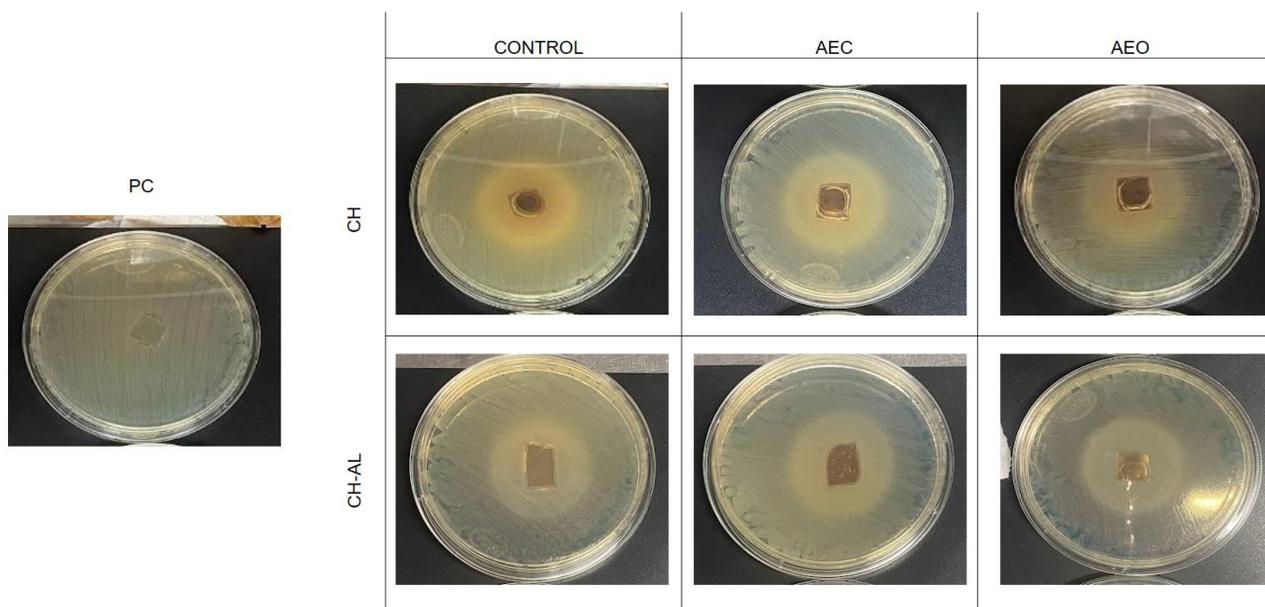
#### 8.3.4.1.3. Efecto antimicrobiano contra *Salmonella typhimurium*

En la figura 12 se observa que las películas de CH con y sin AEs inhibieron el crecimiento microbiano sobre y debajo de ellas. Respecto a las películas de CH-AL se observó que las formulaciones con y sin AEs no presentaron crecimiento microbiano sobre ni debajo de ellas.

**Figura 24.**

Resultados del análisis in vitro contra *Salmonella typhimurium*

PC: película comercial, CH: quitosano, CH-AL: quitosano con almidón, CONTROL: película sin adición de aceite esencial, AEC: aceite esencial de clavo, AEO: aceite esencial de orégano.



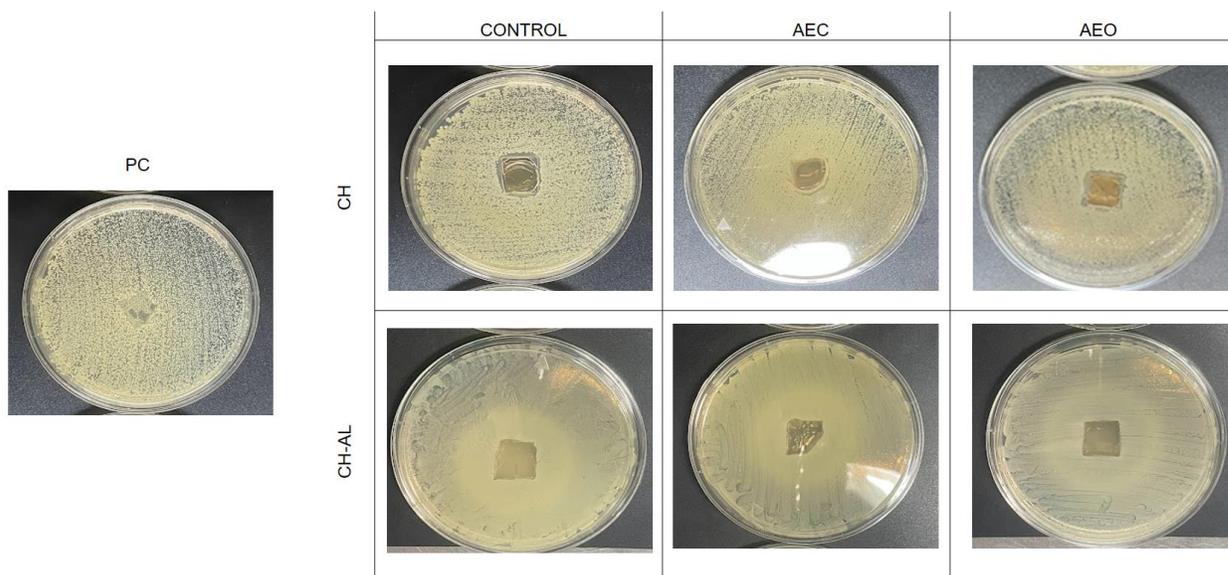
#### 8.3.4.1.4. Efecto antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus*

Se observa que las películas de CH con y sin AEs no tuvieron crecimiento microbiano. Respecto a las películas de CH-AL se observa que las películas con y sin AEs no presentaron crecimiento microbiano, contrario a PC, la cual presentó crecimiento microbiano.

**Figura 25.**

Resultados del análisis in vitro contra *Staphylococcus aureus*

PC: película comercial, CH: quitosano, CH-AL: quitosano con almidón, CONTROL: película sin adición de aceite esencial, AEC: aceite esencial de clavo, AEO: aceite esencial de orégano.



A pesar de su reconocida actividad antimicrobiana, las películas elaboradas con biopolímeros y AEs de orégano y clavo no presentaron halo de inhibición para ninguno de los microorganismos evaluados, sin embargo, en las figuras se aprecia que no hubo crecimiento microbiano sobre, ni debajo de las películas de biopolímeros con AEs, lo cual coincide con los resultados reportados por Souza et al., (2018). Estos resultados pueden indicar que las películas funcionan como una barrera entre el alimento y el ambiente. Appendini & Hotchkiss, (2002) señalan que la falta de crecimiento debajo de una película puede indicar inhibición, incluyendo los controles apropiados porque podría deberse a una simple restricción al oxígeno.



Lo anterior se puede comprobar debido a que en el control implementado (PC) si hubo crecimiento microbiano debajo del material. Souza et al., (2018) también reportan que al añadir AE de jengibre a sus películas se redujo la actividad antimicrobiana, probablemente debido a una pérdida parcial de AE volátil en la película por evaporación y debido a que las películas atraparon los compuestos activos en la cadena polimérica, reduciendo su difusión hacia el agar y, por lo tanto, limitando su actividad solo debajo de las películas.

Sheng et al., (2019) elaboraron películas de quitosano con almidón y eugenol y mencionan que este efecto puede estar relacionado con el hecho de que el quitosano no se difunde a través de los medios de agar adyacentes en el método de prueba de difusión en agar; sólo se inhibieron los microorganismos en contacto directo con la película.

En dicho estudio se demostró que había una fuerte interacción de enlaces de hidrógeno y una buena compatibilidad entre el quitosano y las moléculas de almidón en las películas. Por lo cual se supuso que las moléculas de quitosano se quedan inmóviles dentro de la película y no se difunden para generar una zona de inhibición. De los cuatro tratamientos con biopolímeros y AEs, los dos tratamientos que funcionaron mejor para evitar el crecimiento de las cepas bacterianas, fueron las formulaciones elaboradas con quitosano: CH AEC y CH AEO. En base a estos resultados se utilizaron estas formulaciones para colocarlas en pruebas *In vivo* sobre carne de res.

#### **8.3.4.2. Actividad antimicrobiana de las películas elaboradas con biopolímeros y aceites esenciales en carne de res**

Para realizar el análisis microbiológico sobre carne fresca de res, se hizo el recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales. Estos comprenden todas bacterias que requieren oxígeno para crecer, tienen afinidad por temperaturas moderadas, en el rango de 30°C a 37°C, y que pueden desarrollarse en diversos medios de agar nutritivo.



Estos no son necesariamente patógenos, no obstante, podrían servir como un indicador de las condiciones higiénicas del alimento. A mayor cantidad de microorganismos aerobios totales, se deteriora la calidad del producto (González, 2018).

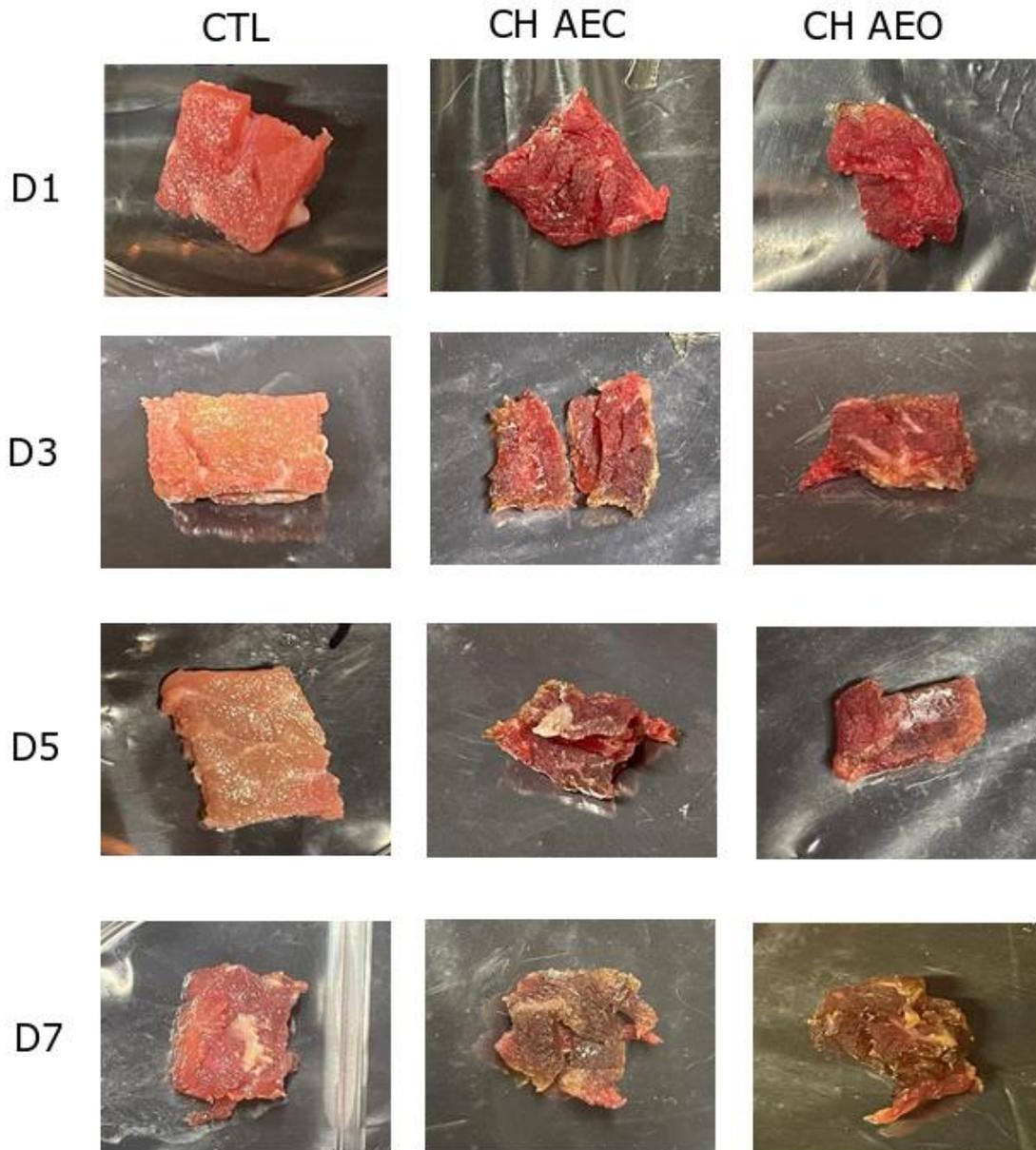
En la figura 14 se pueden observar los cambios físicos que experimentaron las muestras de carne fresca de res a los 1,3,5 y 7 días de almacenamiento con y sin las películas elaboradas. Al transcurrir los días, las muestras cubiertas con películas de CH AEC y CH AEO mostraron deshidratación y pérdida de color. Las muestras control se mantuvieron hidratadas durante los 7 días de almacenamiento, teniendo también mal olor al final de este periodo.

La actividad de agua ( $a_w$ ) como se mencionó anteriormente, es el contenido de agua de un producto que está libre y disponible para que crezcan los microorganismos y se usa para correlacionar el contenido de agua con la calidad de un alimento (Ramírez-Miranda et al., 2014). Debido a que la carne tiene una  $a_w$  de  $(0.996 \pm 0.0053)$  y las películas elaboradas se encuentran entre  $0.0486 \pm 0.001$  a  $0.0533 \pm 0.0005$  y debido a la naturaleza hidrofílica del quitosano, se observó una absorción de agua en el polímero, lo cual ocasionó una deshidratación de la carne.

Estudios de Shen & Kamdem, (2015) donde elaboraron películas de quitosano con AEs de citronela y de cedro, reportan que el quitosano tiene un carácter hidrófilo y débil resistencia al agua. También mencionan que las películas de quitosano generalmente son muy hidrófilas y aumentan su volumen debido a que absorben agua rápidamente.

**Figura 26.**

Cambios visibles en carne de res con y sin películas de biopolímeros y aceites esenciales (AEs), al día 1,3,5 y 7. CTL: control, carne no tratada, CH AEC: quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Quitosano con aceite esencial de orégano.





Souza et al., (2018) elaboraron películas de quitosano con aceite esencial de jengibre y encontraron pérdida de peso en las muestras de carne de ave cubierta con película, y reportan que este comportamiento puede atribuirse al carácter hidrófilo de las películas de quitosano que son capaces de absorber agua y que son muy permeables al vapor de esta, lo que explica la reducción en el contenido de agua de la carne envasada. Estos resultados también coinciden con lo reportado por Zhang et al., (2021) quienes elaboraron películas de quitosano y montmorillonita con aceite esencial de jengibre.

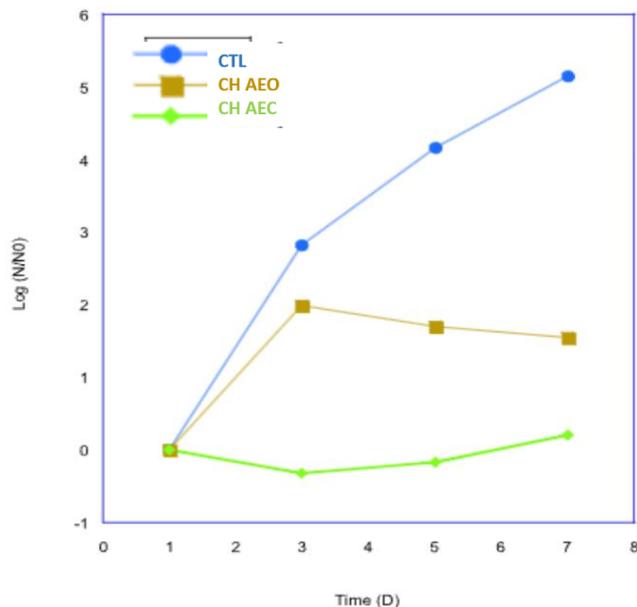
Esto y los resultados de nuestros isoterms de sorción, pueden explicar que las muestras de carne fresca de res cubiertas con películas hayan perdido agua durante el tiempo de almacenamiento.

La actividad antimicrobiana de la película probablemente se debe un efecto sinérgico de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, aunado a la disminución en la hidratación de la carne, provocada por el quitosano, el cual también presenta actividad antimicrobiana como se describió anteriormente. El mecanismo de acción antimicrobiano del quitosano está relacionado con sus cargas positivas ( $\text{NH}_3^+$ ) que interferirían con los residuos cargados negativamente de las macromoléculas en la superficie celular microbiana, causando permeabilización y fuga de material intracelular dando como resultado la muerte celular (Souza et al., 2018).



Figura 27.

Modelo de Weibull que representa el crecimiento de los microorganismos. CTL: Control, CH AEC: Película de quitosano con aceite esencial de clavo, CH AEO: Película de quitosano con aceite esencial de orégano.



De los tres tratamientos, la carne sin cubierta de película o control (CTL) si se ajustó al modelo, al igual que la película con aceite esencial de orégano (AEO). En el caso de las películas con aceite de clavo (AEC), no hubo crecimiento durante el almacenamiento. En el caso de los dos tratamientos que sí se ajustaron al modelo de Weibull, el ajuste al modelo arrojó los siguientes datos:

Control:  $b = -0.805 \pm 0.418$   $n = 0.98 \pm 0.294$   $R^2 = 0.966$

Control:  $b = -0.667 \pm 0.618$   $n = 0.539 \pm 0.0.5602$   $R^2 = 0.702$

El modelo de Weibull fue útil ya que permite modelar curvas de supervivencia no lineales y puede resultar útil para identificar efectos causados por la colocación de las películas antimicrobianas sobre el alimento (Van Boekel, 2022).



## 9. CONCLUSION

Se utilizaron varias técnicas para elaborar y caracterizar películas de quitosano y almidón de maíz de grado alimenticio, utilizando glicerol como plastificante y aceites esenciales de clavo (*Eugenia caryophyllata*) y de orégano mexicano (*Lippia Berlandieri*) como agentes antimicrobianos. La elaboración de películas fue posible, debido a que los biopolímeros utilizados (quitosano y almidón) cuentan con características adecuadas para formar estas estructuras. Además, al introducir los aceites esenciales a las formulaciones estos se incorporaron homogéneamente. Al realizar las pruebas fisicoquímicas se observaron mejores características para las películas de quitosano independientemente del aceite esencial utilizado, lo que las hace adecuadas para su uso como empaque de alimentos. La desventaja que se observó en estas es que son muy higroscópicas y como se discutió anteriormente, la diferencia en la cantidad de vapor de agua absorbido comienza a ser notoria al 70% de humedad.

En las pruebas *in vitro*, no se observó halo de inhibición, sin embargo, las películas con biopolímeros y aceites esenciales funcionaron como una barrera entre el medio y el agar, al no permitir el crecimiento microbiano en la parte superior e inferior de estas. Al realizar pruebas *in vivo* en carne de res, se observó una tendencia a la deshidratación de las muestras de carne debido a la higroscopicidad de las películas elaboradas. La actividad antimicrobiana de la película probablemente se debe un efecto sinérgico de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, aunado a la disminución en la hidratación de la carne, provocada por el quitosano. Por esto se recomienda aplicar estas formulaciones en alimentos que tengan una humedad menor.



## 10. BIBLIOGRAFIA

- Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Shafi, M. E., Zaberawi, N. M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Abd El-Hakim, Y. M., & Al-Sagheer, A. A. (2020). Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 164, pp. 2726–2744). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153>
- Agama-Acevedo, E., Juárez-García, E., Evangelista-Lozano, S., Rosales-Reynoso, O. L., & Bello-Pérez, L. A. (2013). Características del almidón de maíz y su relación con las enzimas de su biosíntesis. *Agrociencia*, 1–12.
- Al-Hashimi, A. G., Ammar, A. B., Lakshmanan, G., Cacciola, F., & Lakhssassi, N. (2020). Development of a millet starch edible film containing clove essential oil. *Foods*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/foods9020184>
- Andrade-Ochoa, S., Chacón-Vargas, F., Nevarez-Moorillon, G., Rivera-Chavira, B., & Hernández-Ochoa, L. (2013). Evaluation of antimycobacterium activity of the essential oils of cumin, clove, cinnamon, laurel and anis against *Mycobacterium tuberculosis*. *Advances in Biological Chemistry*, 03(05). <https://doi.org/10.4236/abc.2013.35052>
- Appendini, P., & Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. In *Innovative Food Science & Emerging Technologies* (Vol. 3). www.bioka.
- Arik Kibar, E. A., & Us, F. (2013). Thermal, mechanical and water adsorption properties of corn starch-carboxymethylcellulose/methylcellulose biodegradable films. *Journal of Food Engineering*, 114(1), 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.07.034>
- Baines, D., & Seal, R. (2012). *Natural food additives ingredients and flavourings*. Woodhead Publishing.
- Bautista-Baños, S., Ventura-Aguilar, R. I., Correa-Pacheco, Z., & Corona-Rangel, M. L. (2017). Chitosan: a versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest-a



- review. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XXIII, 103–121. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.11.030>
- Bof, M. J., Bordagaray, V. C., Locaso, D. E., & García, M. A. (2015). Chitosan molecular weight effect on starch-composite film properties. *Food Hydrocolloids*, 51, 281–294. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.018>
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Cerda Rivera, I. L., Hernandez Ochoa, L., & Amaya, N. (2021). *Análisis de las interacciones entre aceites esenciales y/o moléculas terpénicas incorporadas como aditivos alimentarios antimicrobianos con proteínas y lípidos de la carne roja*.
- Chaieb, K., Hajlaoui, H., Zmantar, T., Ben Kahla-Nakbi, A., Rouabhia, M., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2007). Chemical composition of clove oil 501, The Chemical Composition and Biological Activity of Clove Essential Oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzgium aromaticum* L. Myrtaceae): A Short Review. *Phytother. Res*, 21, 501–506. <https://doi.org/10.1002/ptr>
- Chandra Dey, S., Al-Amin, M., Ur Rashid, T., Sultan, Z., Zakir Sultan, M., Ashaduzzaman, M., Sarker, M., & Md Shamsuddin, S. (2016). Preparation, characterization and performance evaluation of chitosan as an adsorbent for remazol red performance evaluation of chitosan as an adsorbent for remazol red. *International Journal of Latest Research in Engineering and Technology (IJLRET) Www.Ijlret.Comll*, 2, 52–62. <https://www.researchgate.net/publication/296830983>
- Cristani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., Venuti, V., Bisignano, G., Saija, A., & Trombetta, D. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6300–6308. <https://doi.org/10.1021/jf070094x>
- Dashipour, A., Razavilar, V., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., German, J. B., Ghanati, K., Khakpour, M., & Khaksar, R. (2015). Antioxidant and antimicrobial carboxymethyl cellulose



- films containing *Zataria multiflora* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 606–613. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.006>
- de Moraes Lima, M., Carneiro, L. C., Bianchini, D., Dias, A. R. G., Zavareze, E. da R., Prentice, C., & Moreira, A. da S. (2017). Structural, Thermal, Physical, Mechanical, and Barrier Properties of Chitosan Films with the Addition of Xanthan Gum. *Journal of Food Science*, 82(3), 698–705. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13653>
- Debnath, B., Duarah, P., Haldar, D., & Kumar Purkait, M. (2022). Improving the properties of corn starch films for application as packaging 2 material via reinforcement with microcrystalline cellulose synthesized from 3 elephant grass. *Elsevier*. <https://ssrn.com/abstract=4093729>
- do Evangelho, J. A., da Silva Dannenberg, G., Biduski, B., el Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Gularte, M. A., Fiorentini, A. M., & da Rosa Zavareze, E. (2019). Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 222. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114981>
- Elshamy, S., Khadizatul, K., Uemura, K., Nakajima, M., & Neves, M. A. (2021). Chitosan-based film incorporated with essential oil nanoemulsion foreseeing enhanced antimicrobial effect. *Journal of Food Science and Technology*, 58(9), 3314–3327. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04888-3>
- Fathy, Y., Azab, W., Ebid, W., Abdeltwab, W. M., Abdelaliem, Y. F., Metry, W. A., & Eldeghedy, M. (2019). *Antimicrobial effect of Chitosan and Nano-Chitosan against some Pathogens and Spoilage Microorganisms Synbiotic dairy products View project Antimicrobial effect of Chitosan and Nano-Chitosan against some Pathogens and Spoilage Microorganisms*. <https://e-journal.sospublication.co.in>
- FDA. (2022a). *CFR - Code of Federal Regulations Title 21*. <https://www.law.cornell.edu/cfr/text/21/172.515>
- FDA. (2022b). *CFR - Código de Regulaciones Federales Título 21*. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1257>



- Flórez, M., Cazón, P., & Vázquez, M. (2022). Active packaging film of chitosan and Santalum album essential oil: Characterization and application as butter sachet to retard lipid oxidation. *Food Packaging and Shelf Life*, 34. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100938>
- Ghasemlou, M., Aliheidari, N., Fahmi, R., Shojaee-Aliabadi, S., Keshavarz, B., Cran, M. J., & Khaksar, R. (2013). Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 1117–1126. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.07.026>
- Gholami-Ahangaran, M., Ahmadi-Dastgerdi, A., Azizi, S., Basiratpour, A., Zokaei, M., & Derakhshan, M. (2022). Thymol and carvacrol supplementation in poultry health and performance. In *Veterinary Medicine and Science* (Vol. 8, Issue 1, pp. 267–288). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/vms3.663>
- González, C. (2018). Análisis de la calidad microbiológica de los alimentos procedentes de cadenas de comida rápida (Tesis de Ing.), Universidad de Coruña
- Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., & Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116(4), 982–989. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.058>
- Han, J. H. (2005). *Innovations in food packaging*. Elsevier Academic.
- Hernández-Ochoa, L., Aguirre-Prieto, Y. B., Nevárez-Moorillón, G. V., Gutierrez-Mendez, N., & Salas-Muñoz, E. (2014). Use of essential oils and extracts from spices in meat protection. *Journal of Food Science and Technology*, 51(5), 957–963. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0598-3>
- Hernández-Ochoa, L., González-Gonzales, A., Gutierrez-Mendez, N., & Muñoz-Castellanos, L. (2011). Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. <https://www.researchgate.net/publication/237037727>



- Hernández-Ochoa, L., Macías-Castañeda, C. A., Nevárez-Moorillón, G. V., Salas-Muñoz, E., & Sandoval-Salas, F. (2012). Antimicrobial activity of chitosan-based films including spices' essential oils and functional extracts. *CYTA - Journal of Food*, 10(2), 85–91. <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.576434>
- Hoffmann, S., & Scallan, E. (2017). Epidemiology, Cost, and Risk Analysis of Foodborne Disease. In *Foodborne Diseases: Third Edition* (pp. 31–63). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385007-2.00002-4>
- Homayonpour, P., Jalali, H., Shariatifar, N., & Amanlou, M. (2021). Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free /nano-encapsulated cumin (*Cuminum cyminum* L.) essential oil on quality characteristics of sardine fillet. *International Journal of Food Microbiology*, 341. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109047>
- Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Farahmandghavi, F. (2015). Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Industrial Crops and Products*, 67, 403–413. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.062>
- Irkin, R., & Kizilirmak, O. (2015). *Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents*. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-015-1780-9>
- Jiménez-Regalado, E. J., Caicedo, C., Fonseca-García, A., Rivera-Vallejo, C. C., & Aguirre-Loredo, R. Y. (2021). Preparation and physicochemical properties of modified corn starch–chitosan biodegradable films. *Polymers*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/polym13244431>
- Kachur, K., & Suntres, Z. (2020). The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 60, Issue 18, pp. 3042–3053). Bellwether Publishing, Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1675585>
- Kalateh-Seifari, F., Yousefi, S., Ahari, H., & Hosseini, S. H. (2021). Corn starch-chitosan nanocomposite film containing nettle essential oil nanoemulsions and starch nanocrystals: Optimization and characterization. *Polymers*, 13(13). <https://doi.org/10.3390/polym13132113>
- Kim, S.-K. (2010). *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications*.



- Knowles, J. R., Roller, S., Murray, D. B., & Naidu, A. S. (2005). Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual-species biofilm development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2), 797–803. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.797-803.2005>
- Liu, H., Du, Y., Wang, X., & Sun, L. (2004). Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *International Journal of Food Microbiology*, 95(2), 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.022>
- Luís, Â., Pereira, L., Domingues, F., & Ramos, A. (2019). Development of a carboxymethyl xylan film containing licorice essential oil with antioxidant properties to inhibit the growth of foodborne pathogens. *LWT*, 111, 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.040>
- Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., Gortzi, O., Izadi, M., & Nabavi, S. M. (2016). Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. In *Food Chemistry* (Vol. 210, pp. 402–414). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>
- Marroquín-De Jesús, A., Olivares-Ramírez, J. M., Cruz-Carpio, L. E., & Bautista-Jiménez, A. (2020). *Handbook T-IX CIERMMI Mujeres en la Ciencia Biología: Vol. IX*. ECORFAN. [www.ecorfan.org](http://www.ecorfan.org)
- Martínez, Y., & López-Malo, A. (2011). Envases activos como agentes antimicrobianos y su aplicación en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*.
- Merci, A., Marim, R. G., Urbano, A., & Mali, S. (2019). Films based on cassava starch reinforced with soybean hulls or microcrystalline cellulose from soybean hulls. *Food Packaging and Shelf Life*, 20. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100321>
- Mitura, S., Sionkowska, A., & Jaiswal, A. (2020). Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review. In *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* (Vol. 31, Issue 6). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10856-020-06390-w>
- Mohammadinejad, R., Kumar, A., Marziyeh, R.-M., Milad, A., Sung So, H., Hilson, K., & Ziba, R. (2020). Recent Advances in Natural Gum-Based Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine A Review. *MDPI*.



- Monte, M. L., Moreno, M. L., Senna, J., Arrieche, L. S., & Pinto, L. A. A. (2018). Moisture sorption isotherms of chitosan-glycerol films: Thermodynamic properties and microstructure. *Food Bioscience*, 22, 170–177. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.02.004>
- Navarro, Y. M., Soukup, K., Jandová, V., Gómez, M. M., Solis, J. L., Cruz, J. F., Siche, R., Šolcová, O., & Cruz, G. J. F. (2019). Starch/chitosan/glycerol films produced from low-value biomass: Effect of starch source and weight ratio on film properties. *Journal of Physics: Conference Series*, 1173(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1173/1/012008>
- Nisar, T., Wang, Z. C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., & Guo, Y. (2018). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670–680. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.068>
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122(1), 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.033>
- OMS. (2022). *Food safety*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
- OPS. (2015). *Educación en inocuidad de alimentos: Glosario de términos*. [https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10433:educacion-inocuidad-alimentos-glosario-terminos-inocuidad-de-alimentos&Itemid=41278&lang=es](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10433:educacion-inocuidad-alimentos-glosario-terminos-inocuidad-de-alimentos&Itemid=41278&lang=es)
- OPS. (2019). *Análisis de peligro y puntos críticos de control (HACCP)*.
- Ortuño, M. F. (2006). *Manual práctico de Aceites esenciales, aromas y perfumes*.
- Othman, S. H., Nordin, N., Azman, N. A. A., Tawakkal, I. S. M. A., & Basha, R. K. (2021). Effects of nanocellulose fiber and thymol on mechanical, thermal, and barrier properties of corn starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1352–1361. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.082>
- Ouattara, B., Simard, R. E., Piette, G., Begin, A., & Holley, R. A. (2000). Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with



- chitosan. In *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 62).  
[www.elsevier.nl/locate/ijfoodmicro](http://www.elsevier.nl/locate/ijfoodmicro)
- Palma-Guerrero, J., López-Jiménez, J. A., Pérez-Berná, A. J., Huang, I. C., Jansson, H. B., Salinas, J., Villalaín, J., Read, N. D., & López-Llorca, L. V. (2010). Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan. *Molecular Microbiology*, *75*(4), 1021–1032. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.07039.x>
- Pelissari, F. M., Grossmann, M. V. E., Yamashita, F., & Pined, E. A. G. (2009). Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16), 7499–7504. <https://doi.org/10.1021/jf9002363>
- Perinelli, D. R., Fagioli, L., Campana, R., Lam, J. K. W., Baffone, W., Palmieri, G. F., Casettari, L., & Bonacucina, G. (2018). Chitosan-based nanosystems and their exploited antimicrobial activity. In *European Journal of Pharmaceutical Sciences* (Vol. 117, pp. 8–20). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.01.046>
- Quintero, J., Falguera, V., & Muñoz, A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola Films and edible coatings: importance, and recent trends in fruit and vegetable value chain. *Revista Tumbaga*.
- Ren, L., Yan, X., Zhou, J., Tong, J., & Su, X. (2017). Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *105*, 1636–1643. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.008>
- Reyes-Chaparro, P., Gutierrez-Mendez, N., Salas-Muñoz, E., Ayala-Soto, J. G., Chávez-Flores, D., & Hernández-Ochoa, L. (2015). Effect of the Addition of Essential Oils and Functional Extracts of Clove on Physicochemical Properties of Chitosan-Based Films. *International Journal of Polymer Science*, *2015*. <https://doi.org/10.1155/2015/714254>
- Rivero-Cruz, I., Duarte, G., Navarrete, A., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2011). Chemical Composition and Antimicrobial and Spasmolytic Properties of *Poliomintha longiflora* and *Lippia graveolens* Essential Oils. *Journal of Food Science*, *76*(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02022.x>



- Ruiz-Rico, M., Renwick, S., Vancuren, S. J., Robinson, A. V., Gianetto-Hill, C., Allen-Vercoe, E., & Barat, J. M. (2022). Influence of free and immobilized chitosan on a defined human gut microbial ecosystem. *Food Research International*, 161. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111890>
- Sahana, T. G., & Rekha, P. D. (2018). Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering. In *Molecular Biology Reports* (Vol. 45, Issue 6, pp. 2857–2867). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4296-3>
- Secretaría de salud Comisión, & Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (2009). *NORMA Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios*.
- Shen Yi, Zhi-Jing Ni, Thakur Kiran, Zhang Jian-Guo, Hu Fei, Wei Zhao-Jun. (2021). Preparation and characterization of clove essential oil loaded nanoemulsion and pickering emulsion activated pullulan-gelatin based edible film. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.133>
- Shen, Z., & Kamdem, D. P. (2015). Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.046>
- Skurtys, O. (2010). Food Hydrocolloid Edible Films and Coatings. *Food Science and Technology*.
- Souza, V. G. L., Pires, J. R. A., Vieira, É. T., Coelho, I. M., Duarte, M. P., & Fernando, A. L. (2018). Shelf life assessment of fresh poultry meat packaged in novel bionanocomposite of chitosan/montmorillonite incorporated with ginger essential oil. *Coatings*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/coatings8050177>
- Stashenko, E. (2009). *Del laboratorio al campo: el desarrollo y perspectivas de la industria de aceites esenciales en Colombia*. [www.trademap.org](http://www.trademap.org),
- Sutharsan, J., Boyer, C. A., & Zhao, J. (2022). Physicochemical properties of chitosan edible films incorporated with different classes of flavonoids. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 4. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100232>



- Suyatma, N., Tighzert, L., & Copinet, A. (2005). Effects of Hydrophilic Plasticizers on Mechanical, Thermal, and surface properties of chitosan films (1). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Taweecat, C., Wongsooka, T., & Rawdkuen, S. (2021). Properties of banana (Cavendish spp.) starch film incorporated with banana peel extract and its application. *Molecules*, 26(5). <https://doi.org/10.3390/molecules26051406>
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch - Composition, fine structure and architecture. In *Journal of Cereal Science* (Vol. 39, Issue 2, pp. 151–165). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>
- Thomas, S., Soloman, P. A., & Rejini, V. O. (2016). Preparation of Chitosan- CMC Blends and Studies on Thermal Properties. *Procedia Technology*, 24, 721–726. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2016.05.201>
- Uddin, M. A., Shahinuzzaman, M., Rana, M. S., & Yaakob, Z. (2017). Study of chemical composition and medicinal properties of volatile oil from clove buds (eugenia caryophyllus). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(2), 895–899. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8\(2\).895-99](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8(2).895-99)
- Ulanowska, M., & Olas, B. (2021). Biological properties and prospects for the application of eugenol—a review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 7). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>
- Valero-Valdivieso, M. F., Ortegón, Y., & Uscategui, Y. (2013). *Biopolímeros: avances y perspectivas biopolymers: progress and prospects*. 80, 171–180.
- Xu Yaoyao, Chu Yifu , Feng Xiao, Gao Chengcheng, Wu Di, Cheng Weiwei, Meng Linghan, Zhang Yan, Tang Xiaozhi (2020). Effects of zein stabilized clove essential oil Pickering emulsion on the structure and properties of chitosan-based edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.027>
- Xu Y.X., Kimb K.M., Hanna M.A., Nag D. (2005), Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Industrial Crops and products*, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.03.002>



Zhong, Y., Zhuang, C., Gu, W., & Zhao, Y. (2019). Effect of molecular weight on the properties of chitosan films prepared using electrostatic spraying technique. *Carbohydrate Polymers*, 212, 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.048>

Zuo, P.-P., Feng, H.-F., Xu, Z.-Z., Zhang, L.-F., Zhang, Y.-L., Xia, W., & Zhang, W.-Q. (2013). *Fabrication of biocompatible and mechanically reinforced graphene oxide-chitosan nanocomposite films*. <http://journal.chemistrycentral.com/content/7/1/39>



## 11. APENDICES

### 11.1. Apéndice 1. Análisis estadístico

#### 11.1.1. Análisis univariado de varianza para GROSOR

| Notas                      |  |  |
|----------------------------|--|--|
| Salida creada              |  | 15-AUG-2023 09:57:34   |
| Comentarios                |  |  |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA<br>MCCTA\TESIS\ESTADISTICO<br>S\GROSOR\ANOVA Y TUKEY<br>GROSOR FINAL.sav   |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1   |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>  |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>  |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>  |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 160  |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.   |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.  |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA GROSOR BY<br>PELICULA<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULA(TUKEY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULA. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.00  |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.02  |

[ConjuntoDatos1] C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA  
MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\GROSOR\ANOVA Y TUKEY GROSOR FINAL.sav



### Factores inter-sujetos

|          |      | N  |
|----------|------|----|
| PELICULA | 1,00 | 40 |
|          | 2,00 | 40 |
|          | 3,00 | 40 |
|          | 4,00 | 40 |

### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: GROSOR

| PELICULA | Media | Desv. Desviación | N   |
|----------|-------|------------------|-----|
| 1,00     | ,4868 | ,06848           | 40  |
| 2,00     | ,4829 | ,05299           | 40  |
| 3,00     | ,4026 | ,04010           | 40  |
| 4,00     | ,4589 | ,06346           | 40  |
| Total    | ,4578 | ,06601           | 160 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: GROSOR

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl  | Media cuadrática | F         | Sig. |
|------------------|-------------------------------|-----|------------------|-----------|------|
| Modelo corregido | ,181 <sup>a</sup>             | 3   | ,060             | 18,336    | ,000 |
| Intersección     | 33,535                        | 1   | 33,535           | 10214,263 | ,000 |
| PELICULA         | ,181                          | 3   | ,060             | 18,336    | ,000 |
| Error            | ,512                          | 156 | ,003             |           |      |
| Total            | 34,228                        | 160 |                  |           |      |
| Total corregido  | ,693                          | 159 |                  |           |      |

a. R al cuadrado = .261 (R al cuadrado ajustada = .246)



**Pruebas post hoc**

**PELICULA**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: GROSOR  
HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00         | 2,00         | ,0039                      | ,01281      | ,990 | -,0293                        | ,0372           |
|              | 3,00         | ,0842*                     | ,01281      | ,000 | ,0509                         | ,1174           |
|              | 4,00         | ,0279                      | ,01281      | ,133 | -,0053                        | ,0612           |
| 2,00         | 1,00         | -,0039                     | ,01281      | ,990 | -,0372                        | ,0293           |
|              | 3,00         | ,0802*                     | ,01281      | ,000 | ,0470                         | ,1135           |
|              | 4,00         | ,0240                      | ,01281      | ,244 | -,0093                        | ,0573           |
| 3,00         | 1,00         | -,0842*                    | ,01281      | ,000 | -,1174                        | -,0509          |
|              | 2,00         | -,0802*                    | ,01281      | ,000 | -,1135                        | -,0470          |
|              | 4,00         | -,0562*                    | ,01281      | ,000 | -,0895                        | -,0230          |
| 4,00         | 1,00         | -,0279                     | ,01281      | ,133 | -,0612                        | ,0053           |
|              | 2,00         | -,0240                     | ,01281      | ,244 | -,0573                        | ,0093           |
|              | 3,00         | ,0562*                     | ,01281      | ,000 | ,0230                         | ,0895           |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .003.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

**Subconjuntos homogéneos**

**GROSOR**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA | N  | Subconjunto |       |
|----------|----|-------------|-------|
|          |    | 1           | 2     |
| 3,00     | 40 | ,4026       |       |
| 4,00     | 40 |             | ,4589 |
| 2,00     | 40 |             | ,4829 |
| 1,00     | 40 |             | ,4868 |
| Sig.     |    | 1,000       | ,133  |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .003.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 40.000.

b. Alfa = .05.



### 11.1.2. Análisis univariado de varianza para atributo pH

#### Notas

|                            |  |   |
|----------------------------|--|---|
| Salida creada              |  | 21-AUG-2023 16:55:43  |
| Comentarios                |  |   |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\PH\anova y tuckey ph peliculas.sav   |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1  |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>   |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>   |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>   |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 20  |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.  |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.   |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA PH BY PELICULA /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=PELICULA(TUKEY) /PRINT DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=PELICULA. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.00   |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.02   |

[ConjuntoDatos1] C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\PH\anova y tuckey ph peliculas.sav

#### Factores inter-sujetos

|          | N    |   |
|----------|------|---|
| PELICULA | 1,00 | 5 |
|          | 2,00 | 5 |
|          | 3,00 | 5 |
|          | 4,00 | 5 |



### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: PH

| PELICULA | Media | Desv. Desviación | N  |
|----------|-------|------------------|----|
| 1,00     | 4,652 | ,0522            | 5  |
| 2,00     | 4,880 | ,0464            | 5  |
| 3,00     | 4,348 | ,1318            | 5  |
| 4,00     | 4,422 | ,2723            | 5  |
| Total    | 4,576 | ,2570            | 20 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: PH

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F         | Sig. |
|------------------|-------------------------------|----|------------------|-----------|------|
| Modelo corregido | ,869 <sup>a</sup>             | 3  | ,290             | 12,024    | ,000 |
| Intersección     | 418,704                       | 1  | 418,704          | 17371,808 | ,000 |
| PELICULA         | ,869                          | 3  | ,290             | 12,024    | ,000 |
| Error            | ,386                          | 16 | ,024             |           |      |
| Total            | 419,959                       | 20 |                  |           |      |
| Total corregido  | 1,255                         | 19 |                  |           |      |

a. R al cuadrado = .693 (R al cuadrado ajustada = .635)

### Pruebas post hoc

#### PELICULA

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: PH

HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00         | 2,00         | -,228                      | ,0982       | ,134 | -,509                         | ,053            |
|              | 3,00         | ,304*                      | ,0982       | ,032 | ,023                          | ,585            |
|              | 4,00         | ,230                       | ,0982       | ,130 | -,051                         | ,511            |
| 2,00         | 1,00         | ,228                       | ,0982       | ,134 | -,053                         | ,509            |
|              | 3,00         | ,532*                      | ,0982       | ,000 | ,251                          | ,813            |
|              | 4,00         | ,458*                      | ,0982       | ,001 | ,177                          | ,739            |
| 3,00         | 1,00         | -,304*                     | ,0982       | ,032 | -,585                         | -,023           |
|              | 2,00         | -,532*                     | ,0982       | ,000 | -,813                         | -,251           |
|              | 4,00         | -,074                      | ,0982       | ,874 | -,355                         | ,207            |
| 4,00         | 1,00         | -,230                      | ,0982       | ,130 | -,511                         | ,051            |
|              | 2,00         | -,458*                     | ,0982       | ,001 | -,739                         | -,177           |
|              | 3,00         | ,074                       | ,0982       | ,874 | -,207                         | ,355            |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .024.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.



**Subconjuntos homogéneos**

**PH**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA | N | Subconjunto |       |       |
|----------|---|-------------|-------|-------|
|          |   | 1           | 2     | 3     |
| 3,00     | 5 | 4,348       |       |       |
| 4,00     | 5 | 4,422       | 4,422 |       |
| 1,00     | 5 |             | 4,652 | 4,652 |
| 2,00     | 5 |             |       | 4,880 |
| Sig.     |   | ,874        | ,130  | ,134  |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .024.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5.000.

b. Alfa = .05.

**11.1.3. Análisis univariado de varianza para el atributo COLOR (parámetros L\*, a\* y b\*).**

**Notas**

|                            |  |   |
|----------------------------|--|---|
| Salida creada              | 26-JUL-2023 13:41:15                         |   |
| Comentarios                |  |   |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hpl\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICA\anova y tukey color.sav                  |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1  |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>   |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>   |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>   |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 160   |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.                              |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo. |



|          |   |             |
|----------|---|-------------|
| Sintaxis | UNIANOVA L BY<br>PELICULA_A<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULA_A(TUKEY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULA_A. |             |
| Recursos | Tiempo de procesador  | 00:00:00.02 |
|          | Tiempo transcurrido   | 00:00:00.03 |

[ConjuntoDatos1] C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\anova y tukey color.sav

### Factores inter-sujetos

|              |   | N  |
|--------------|---|----|
| PELICUL<br>A | 1 | 20 |
|              | 2 | 18 |
|              | 3 | 20 |
|              | 4 | 20 |

### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: L

| PELICUL<br>A | Media   | Desv.<br>Desviación | N  |
|--------------|---------|---------------------|----|
| 1            | 87,1810 | 1,56849             | 20 |
| 2            | 86,8867 | 1,67105             | 18 |
| 3            | 90,3030 | 1,29514             | 20 |
| 4            | 89,7040 | 1,32343             | 20 |
| Total        | 88,5605 | 2,08498             | 78 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: L

| Origen           | Tipo III de<br>suma de<br>cuadrados | gl | Media<br>cuadrática | F          | Sig. |
|------------------|-------------------------------------|----|---------------------|------------|------|
| Modelo corregido | 175,369 <sup>a</sup>                | 3  | 58,456              | 27,144     | ,000 |
| Intersección     | 609902,609                          | 1  | 609902,609          | 283209,467 | ,000 |
| PELICULA_A       | 175,369                             | 3  | 58,456              | 27,144     | ,000 |
| Error            | 159,362                             | 74 | 2,154               |            |      |
| Total            | 612085,957                          | 78 |                     |            |      |
| Total corregido  | 334,731                             | 77 |                     |            |      |

a. R al cuadrado = .524 (R al cuadrado ajustada = .505)



**Pruebas post hoc**

**PELICULA**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: L  
HSD Tukey

| (I)<br>PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|-----------------|--------------|----------------------------|-------------|------|-------------------------------|-----------------|
|                 |              |                            |             |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1               | 2            | ,2943                      | ,47678      | ,926 | -,9588                        | 1,5475          |
|                 | 3            | -3,1220*                   | ,46406      | ,000 | -4,3417                       | -1,9023         |
|                 | 4            | -2,5230*                   | ,46406      | ,000 | -3,7427                       | -1,3033         |
| 2               | 1            | -,2943                     | ,47678      | ,926 | -1,5475                       | ,9588           |
|                 | 3            | -3,4163*                   | ,47678      | ,000 | -4,6695                       | -2,1632         |
|                 | 4            | -2,8173*                   | ,47678      | ,000 | -4,0705                       | -1,5642         |
| 3               | 1            | 3,1220*                    | ,46406      | ,000 | 1,9023                        | 4,3417          |
|                 | 2            | 3,4163*                    | ,47678      | ,000 | 2,1632                        | 4,6695          |
|                 | 4            | ,5990                      | ,46406      | ,572 | -,6207                        | 1,8187          |
| 4               | 1            | 2,5230*                    | ,46406      | ,000 | 1,3033                        | 3,7427          |
|                 | 2            | 2,8173*                    | ,47678      | ,000 | 1,5642                        | 4,0705          |
|                 | 3            | -,5990                     | ,46406      | ,572 | -1,8187                       | ,6207           |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 2.154.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

**Subconjuntos homogéneos**

**L**

HSD Tukey<sup>a,b,c</sup>

| PELICULA | N  | Subconjunto |         |
|----------|----|-------------|---------|
|          |    | 1           | 2       |
| 2        | 18 | 86,8867     |         |
| 1        | 20 | 87,1810     |         |
| 4        | 20 |             | 89,7040 |
| 3        | 20 |             | 90,3030 |
| Sig.     |    | ,924        | ,583    |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 2.154.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 19.459.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Alfa = .05.



**Análisis univariado de varianza**

**Notas**

|                            |  |  |
|----------------------------|--|--|
| Salida creada              |  | 26-JUL-2023 13:41:40   |
| Comentarios                |  |  |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\anova y tukey color.sav   |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1   |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>  |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>  |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>  |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 160  |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.   |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.  |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA a BY<br>PELICULA_B<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULA_B (TUKEY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULA_B. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.00  |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.00  |

**Factores inter-sujetos**

|              | N |    |
|--------------|---|----|
| PELICUL<br>A | 1 | 20 |
|              | 2 | 18 |
|              | 3 | 20 |
|              | 4 | 20 |



### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: a

| PELICUL | Media   | Desv. Desviación | N  |
|---------|---------|------------------|----|
| A       |         |                  |    |
| 1       | -1,5240 | ,72228           | 20 |
| 2       | -1,1044 | ,92890           | 18 |
| 3       | -1,4420 | ,19795           | 20 |
| 4       | -,8575  | ,65577           | 20 |
| Total   | -1,2353 | ,71332           | 78 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: a

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F       | Sig. |
|------------------|-------------------------------|----|------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 5,684 <sup>a</sup>            | 3  | 1,895            | 4,186   | ,009 |
| Intersección     | 118,141                       | 1  | 118,141          | 261,003 | ,000 |
| PELICULA_B       | 5,684                         | 3  | 1,895            | 4,186   | ,009 |
| Error            | 33,496                        | 74 | ,453             |         |      |
| Total            | 158,197                       | 78 |                  |         |      |
| Total corregido  | 39,180                        | 77 |                  |         |      |

a. R al cuadrado = .145 (R al cuadrado ajustada = .110)

### Pruebas post hoc

#### PELICULA

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: a

HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1            | 2            | -,4196                     | ,21858      | ,229 | -,9941                        | ,1550           |
|              | 3            | -,0820                     | ,21275      | ,980 | -,6412                        | ,4772           |
|              | 4            | -,6665*                    | ,21275      | ,013 | -1,2257                       | -,1073          |
| 2            | 1            | ,4196                      | ,21858      | ,229 | -,1550                        | ,9941           |
|              | 3            | ,3376                      | ,21858      | ,417 | -,2370                        | ,9121           |
|              | 4            | -,2469                     | ,21858      | ,672 | -,8215                        | ,3276           |
| 3            | 1            | ,0820                      | ,21275      | ,980 | -,4772                        | ,6412           |
|              | 2            | -,3376                     | ,21858      | ,417 | -,9121                        | ,2370           |
|              | 4            | -,5845*                    | ,21275      | ,037 | -1,1437                       | -,0253          |
| 4            | 1            | ,6665*                     | ,21275      | ,013 | ,1073                         | 1,2257          |
|              | 2            | ,2469                      | ,21858      | ,672 | -,3276                        | ,8215           |
|              | 3            | ,5845*                     | ,21275      | ,037 | ,0253                         | 1,1437          |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .453.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.



### Subconjuntos homogéneos

**a**

HSD Tukey<sup>a,b,c</sup>

| PELICUL<br>A | N  | Subconjunto |         |
|--------------|----|-------------|---------|
|              |    | 1           | 2       |
| 1            | 20 | -1,5240     |         |
| 3            | 20 | -1,4420     |         |
| 2            | 18 | -1,1044     | -1,1044 |
| 4            | 20 |             | -,8575  |
| Sig.         |    | ,218        | ,663    |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .453.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 19.459.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Alfa = .05.

### Análisis univariado de varianza

#### Notas

|                            |  |   |
|----------------------------|--|---|
| Salida creada              |  | 26-JUL-2023 13:42:01  |
| Comentarios                |  |   |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\anova y tukey color.sav                  |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1  |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>   |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>   |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>   |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 160   |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.                              |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo. |



|          |   |             |
|----------|---|-------------|
| Sintaxis | UNIANOVA b BY<br>PELICULA_C<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULA_C<br>(TUKEY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULA_C. |             |
| Recursos | Tiempo de procesador  | 00:00:00.00 |
|          | Tiempo transcurrido   | 00:00:00.01 |

### Factores inter-sujetos

|         |   | N  |
|---------|---|----|
| PELICUL | 1 | 20 |
| A       | 2 | 18 |
|         | 3 | 20 |
|         | 4 | 20 |

### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: b

| PELICUL | Media   | Desv.<br>Desviación | N  |
|---------|---------|---------------------|----|
| A       |         |                     |    |
| 1       | 32,7530 | 4,76243             | 20 |
| 2       | 35,6061 | 4,56989             | 18 |
| 3       | 20,7950 | 2,24872             | 20 |
| 4       | 18,4865 | 2,36597             | 20 |
| Total   | 26,6872 | 8,21427             | 78 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: b

| Origen           | Tipo III de<br>suma de<br>cuadrados | gl | Media<br>cuadrática | F        | Sig. |
|------------------|-------------------------------------|----|---------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 4207,114 <sup>a</sup>               | 3  | 1402,371            | 104,994  | ,000 |
| Intersección     | 56366,762                           | 1  | 56366,762           | 4220,103 | ,000 |
| PELICULA_C       | 4207,114                            | 3  | 1402,371            | 104,994  | ,000 |
| Error            | 988,398                             | 74 | 13,357              |          |      |
| Total            | 60747,545                           | 78 |                     |          |      |
| Total corregido  | 5195,512                            | 77 |                     |          |      |

a. R al cuadrado = .810 (R al cuadrado ajustada = .802)



**Pruebas post hoc  
PELICULA**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: b  
HSD Tukey

| (I)<br>PELICULA | (J)<br>PELICULA | Diferencia de<br>medias (I-J) | Desv.<br>Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|-----------------|-----------------|-------------------------------|----------------|------|-------------------------------|-----------------|
|                 |                 |                               |                |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1               | 2               | -2,8531                       | 1,18738        | ,085 | -5,9740                       | ,2678           |
|                 | 3               | 11,9580*                      | 1,15571        | ,000 | 8,9203                        | 14,9957         |
|                 | 4               | 14,2665*                      | 1,15571        | ,000 | 11,2288                       | 17,3042         |
| 2               | 1               | 2,8531                        | 1,18738        | ,085 | -,2678                        | 5,9740          |
|                 | 3               | 14,8111*                      | 1,18738        | ,000 | 11,6902                       | 17,9320         |
|                 | 4               | 17,1196*                      | 1,18738        | ,000 | 13,9987                       | 20,2405         |
| 3               | 1               | -11,9580*                     | 1,15571        | ,000 | -14,9957                      | -8,9203         |
|                 | 2               | -14,8111*                     | 1,18738        | ,000 | -17,9320                      | -11,6902        |
|                 | 4               | 2,3085                        | 1,15571        | ,198 | -,7292                        | 5,3462          |
| 4               | 1               | -14,2665*                     | 1,15571        | ,000 | -17,3042                      | -11,2288        |
|                 | 2               | -17,1196*                     | 1,18738        | ,000 | -20,2405                      | -13,9987        |
|                 | 3               | -2,3085                       | 1,15571        | ,198 | -5,3462                       | ,7292           |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 13.357.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

**Subconjuntos homogéneos**

**b**

HSD Tukey<sup>a,b,c</sup>

| PELICULA<br>A | N  | Subconjunto |         |
|---------------|----|-------------|---------|
|               |    | 1           | 2       |
| 4             | 20 | 18,4865     |         |
| 3             | 20 | 20,7950     |         |
| 1             | 20 |             | 32,7530 |
| 2             | 18 |             | 35,6061 |
| Sig.          |    | ,209        | ,079    |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 13.357.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 19.459.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

c. Alfa = .05.



### 11.1.4. Análisis univariado de varianza para el atributo HUMEDAD

#### Notas

|                            |  |  |
|----------------------------|--|--|
| Salida creada              |  | 04-OCT-2023 10:09:19   |
| Comentarios                |  |  |
| Entrada                    | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos0   |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>  |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>  |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>  |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 12   |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.   |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.  |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA HBASESECA BY PELICULA /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=PELICULA(TUKEY) /PRINT DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=PELICULA. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.00  |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.03  |

#### Factores inter-sujetos

|         |      | N |
|---------|------|---|
| PELICUL | 1,00 | 3 |
| A       | 2,00 | 3 |
|         | 3,00 | 3 |
|         | 4,00 | 3 |



### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: HBASESECA

| PELICUL | Media  | Desv. Desviación | N  |
|---------|--------|------------------|----|
| 1,00    | 2,1134 | ,02836           | 3  |
| 2,00    | 2,1746 | ,01261           | 3  |
| 3,00    | 1,1717 | ,04413           | 3  |
| 4,00    | 1,6704 | ,32697           | 3  |
| Total   | 1,7825 | ,44377           | 12 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: HBASESECA

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F        | Sig. |
|------------------|-------------------------------|----|------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 1,947 <sup>a</sup>            | 3  | ,649             | 23,634   | ,000 |
| Intersección     | 38,129                        | 1  | 38,129           | 1388,772 | ,000 |
| PELICULA         | 1,947                         | 3  | ,649             | 23,634   | ,000 |
| Error            | ,220                          | 8  | ,027             |          |      |
| Total            | 40,295                        | 12 |                  |          |      |
| Total corregido  | 2,166                         | 11 |                  |          |      |

a. R al cuadrado = .899 (R al cuadrado ajustada = .861)

### Pruebas post hoc

#### PELICULA

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: HBASESECA

HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00         | 2,00         | -,0612                     | ,13529      | ,967 | -,4945                        | ,3720           |
|              | 3,00         | ,9417*                     | ,13529      | ,001 | ,5084                         | 1,3749          |
|              | 4,00         | ,4430*                     | ,13529      | ,045 | ,0097                         | ,8762           |
| 2,00         | 1,00         | ,0612                      | ,13529      | ,967 | -,3720                        | ,4945           |
|              | 3,00         | 1,0029*                    | ,13529      | ,000 | ,5697                         | 1,4362          |
|              | 4,00         | ,5042*                     | ,13529      | ,024 | ,0710                         | ,9375           |
| 3,00         | 1,00         | -,9417*                    | ,13529      | ,001 | -1,3749                       | -,5084          |
|              | 2,00         | -1,0029*                   | ,13529      | ,000 | -1,4362                       | -,5697          |
|              | 4,00         | -,4987*                    | ,13529      | ,025 | -,9319                        | -,0654          |
| 4,00         | 1,00         | -,4430*                    | ,13529      | ,045 | -,8762                        | -,0097          |
|              | 2,00         | -,5042*                    | ,13529      | ,024 | -,9375                        | -,0710          |
|              | 3,00         | ,4987*                     | ,13529      | ,025 | ,0654                         | ,9319           |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .027.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.



### Subconjuntos homogéneos

| HBASESECA                |   |             |        |        |
|--------------------------|---|-------------|--------|--------|
| HSD Tukey <sup>a,b</sup> |   | Subconjunto |        |        |
| PELICUL                  | N | 1           | 2      | 3      |
| A                        |   |             |        |        |
| 3,00                     | 3 | 1,1717      |        |        |
| 4,00                     | 3 |             | 1,6704 |        |
| 1,00                     | 3 |             |        | 2,1134 |
| 2,00                     | 3 |             |        | 2,1746 |
| Sig.                     |   | 1,000       | 1,000  | ,967   |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .027.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.

b. Alfa = .05.



### 11.1.5. Análisis univariado de varianza para los atributos de FUERZA DE RUPTURA y TENSION A LA ROTURA

#### Notas

|                            |  |  |
|----------------------------|--|--|
| Salida creada              |  | 10-AUG-2023 12:08:58   |
| Comentarios                |  |  |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\TENSIONANOVA y tukey tension.sav  |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos0   |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>  |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>  |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>  |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 15   |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.   |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.  |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA<br>ALARGAMIENTO BY<br>PELICULAS<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULAS(TUKEY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULAS. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.00  |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.00  |

#### Factores inter-sujetos

|          | N    |   |
|----------|------|---|
| PELICULA | 1,00 | 3 |
| S        | 2,00 | 3 |
|          | 3,00 | 3 |
|          | 4,00 | 3 |
|          | 5,00 | 3 |



### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: ALARGAMIENTO

| PELICULA | Media        | Desv.<br>Desviación | N  |
|----------|--------------|---------------------|----|
| 1,00     | 25,3633      | 4,39380             | 3  |
| 2,00     | 23,7347      | 1,16218             | 3  |
| 3,00     | 17,5647      | 4,03769             | 3  |
| 4,00     | 20,7453      | ,87646              | 3  |
| 5,00     | 145,063<br>3 | 20,33421            | 3  |
| Total    | 46,4943      | 51,71580            | 15 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: ALARGAMIENTO

| Origen           | Tipo III de<br>suma de<br>cuadrados | gl | Media<br>cuadrática | F       | Sig. |
|------------------|-------------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 36540,918 <sup>a</sup>              | 4  | 9135,229            | 101,231 | ,000 |
| Intersección     | 32425,752                           | 1  | 32425,752           | 359,322 | ,000 |
| PELICULAS        | 36540,918                           | 4  | 9135,229            | 101,231 | ,000 |
| Error            | 902,415                             | 10 | 90,241              |         |      |
| Total            | 69869,085                           | 15 |                     |         |      |
| Total corregido  | 37443,333                           | 14 |                     |         |      |

a. R al cuadrado = .976 (R al cuadrado ajustada = .966)



**Pruebas post hoc**

**PELICULAS**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: ALARGAMIENTO

HSD Tukey

| (I)<br>PELICULAS | (J)<br>PELICULAS | Diferencia de<br>medias (I-J) | Desv.<br>Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|------------------|------------------|-------------------------------|----------------|------|-------------------------------|-----------------|
|                  |                  |                               |                |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00             | 2,00             | 1,6287                        | 7,75635        | ,999 | -23,8981                      | 27,1555         |
|                  | 3,00             | 7,7987                        | 7,75635        | ,847 | -17,7281                      | 33,3255         |
|                  | 4,00             | 4,6180                        | 7,75635        | ,973 | -20,9088                      | 30,1448         |
|                  | 5,00             | -119,7000*                    | 7,75635        | ,000 | -145,2268                     | -94,1732        |
| 2,00             | 1,00             | -1,6287                       | 7,75635        | ,999 | -27,1555                      | 23,8981         |
|                  | 3,00             | 6,1700                        | 7,75635        | ,926 | -19,3568                      | 31,6968         |
|                  | 4,00             | 2,9893                        | 7,75635        | ,995 | -22,5375                      | 28,5161         |
|                  | 5,00             | -121,3287*                    | 7,75635        | ,000 | -146,8555                     | -95,8019        |
| 3,00             | 1,00             | -7,7987                       | 7,75635        | ,847 | -33,3255                      | 17,7281         |
|                  | 2,00             | -6,1700                       | 7,75635        | ,926 | -31,6968                      | 19,3568         |
|                  | 4,00             | -3,1807                       | 7,75635        | ,993 | -28,7075                      | 22,3461         |
|                  | 5,00             | -127,4987*                    | 7,75635        | ,000 | -153,0255                     | -101,9719       |
| 4,00             | 1,00             | -4,6180                       | 7,75635        | ,973 | -30,1448                      | 20,9088         |
|                  | 2,00             | -2,9893                       | 7,75635        | ,995 | -28,5161                      | 22,5375         |
|                  | 3,00             | 3,1807                        | 7,75635        | ,993 | -22,3461                      | 28,7075         |
|                  | 5,00             | -124,3180*                    | 7,75635        | ,000 | -149,8448                     | -98,7912        |
| 5,00             | 1,00             | 119,7000*                     | 7,75635        | ,000 | 94,1732                       | 145,2268        |
|                  | 2,00             | 121,3287*                     | 7,75635        | ,000 | 95,8019                       | 146,8555        |
|                  | 3,00             | 127,4987*                     | 7,75635        | ,000 | 101,9719                      | 153,0255        |
|                  | 4,00             | 124,3180*                     | 7,75635        | ,000 | 98,7912                       | 149,8448        |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 90.241.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

**Subconjuntos homogéneos**

**ALARGAMIENTO**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA<br>S | N | Subconjunto |          |
|---------------|---|-------------|----------|
|               |   | 1           | 2        |
| 3,00          | 3 | 17,5647     |          |
| 4,00          | 3 | 20,7453     |          |
| 2,00          | 3 | 23,7347     |          |
| 1,00          | 3 | 25,3633     |          |
| 5,00          | 3 |             | 145,0633 |
| Sig.          |   | ,847        | 1,000    |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 90.241.



- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.
- b. Alfa = .05.

**Análisis univariado de varianza**

**Notas**

|                            |  |   |
|----------------------------|--|---|
| Salida creada              |  | 10-AUG-2023 12:09:19  |
| Comentarios                |  |   |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\TENSION\ANOVA y tukey tension.sav  |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos0  |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>   |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>   |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>   |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 15  |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.  |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.   |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA FUERZARUP BY PELICULAS /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=PELICULAS(TUKEY) /PRINT DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=PELICULAS. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.00   |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.01   |

**Factores inter-sujetos**

|          | N    |   |
|----------|------|---|
| PELICULA | 1,00 | 3 |
| S        | 2,00 | 3 |
|          | 3,00 | 3 |
|          | 4,00 | 3 |
|          | 5,00 | 3 |



### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: FUERZARUP

| PELICULA | Media  | Desv. Desviación | N  |
|----------|--------|------------------|----|
| 1,00     | ,2617  | ,03755           | 3  |
| 2,00     | ,2480  | ,02100           | 3  |
| 3,00     | ,1470  | ,03509           | 3  |
| 4,00     | ,1600  | ,01819           | 3  |
| 5,00     | 2,8153 | ,11582           | 3  |
| Total    | ,7264  | 1,08327          | 15 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: FUERZARUP

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F        | Sig. |
|------------------|-------------------------------|----|------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 16,395 <sup>a</sup>           | 4  | 4,099            | 1217,860 | ,000 |
| Intersección     | 7,915                         | 1  | 7,915            | 2351,739 | ,000 |
| PELICULAS        | 16,395                        | 4  | 4,099            | 1217,860 | ,000 |
| Error            | ,034                          | 10 | ,003             |          |      |
| Total            | 24,344                        | 15 |                  |          |      |
| Total corregido  | 16,429                        | 14 |                  |          |      |

a. R al cuadrado = .998 (R al cuadrado ajustada = .997)



**Pruebas post hoc  
PELICULAS**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: FUERZARUP  
HSD Tukey

| (I)<br>PELICULAS | (J)<br>PELICULAS | Diferencia de<br>medias (I-J) | Desv.<br>Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|------------------|------------------|-------------------------------|----------------|------|-------------------------------|-----------------|
|                  |                  |                               |                |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00             | 2,00             | ,0137                         | ,04737         | ,998 | -,1422                        | ,1696           |
|                  | 3,00             | ,1147                         | ,04737         | ,187 | -,0412                        | ,2706           |
|                  | 4,00             | ,1017                         | ,04737         | ,274 | -,0542                        | ,2576           |
|                  | 5,00             | -2,5537*                      | ,04737         | ,000 | -2,7096                       | -2,3978         |
| 2,00             | 1,00             | -,0137                        | ,04737         | ,998 | -,1696                        | ,1422           |
|                  | 3,00             | ,1010                         | ,04737         | ,279 | -,0549                        | ,2569           |
|                  | 4,00             | ,0880                         | ,04737         | ,396 | -,0679                        | ,2439           |
|                  | 5,00             | -2,5673*                      | ,04737         | ,000 | -2,7232                       | -2,4114         |
| 3,00             | 1,00             | -,1147                        | ,04737         | ,187 | -,2706                        | ,0412           |
|                  | 2,00             | -,1010                        | ,04737         | ,279 | -,2569                        | ,0549           |
|                  | 4,00             | -,0130                        | ,04737         | ,999 | -,1689                        | ,1429           |
|                  | 5,00             | -2,6683*                      | ,04737         | ,000 | -2,8242                       | -2,5124         |
| 4,00             | 1,00             | -,1017                        | ,04737         | ,274 | -,2576                        | ,0542           |
|                  | 2,00             | -,0880                        | ,04737         | ,396 | -,2439                        | ,0679           |
|                  | 3,00             | ,0130                         | ,04737         | ,999 | -,1429                        | ,1689           |
|                  | 5,00             | -2,6553*                      | ,04737         | ,000 | -2,8112                       | -2,4994         |
| 5,00             | 1,00             | 2,5537*                       | ,04737         | ,000 | 2,3978                        | 2,7096          |
|                  | 2,00             | 2,5673*                       | ,04737         | ,000 | 2,4114                        | 2,7232          |
|                  | 3,00             | 2,6683*                       | ,04737         | ,000 | 2,5124                        | 2,8242          |
|                  | 4,00             | 2,6553*                       | ,04737         | ,000 | 2,4994                        | 2,8112          |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .003.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

**Subconjuntos homogéneos**

**FUERZARUP**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA<br>S | N | Subconjunto |        |
|---------------|---|-------------|--------|
|               |   | 1           | 2      |
| 3,00          | 3 | ,1470       |        |
| 4,00          | 3 | ,1600       |        |
| 2,00          | 3 | ,2480       |        |
| 1,00          | 3 | ,2617       |        |
| 5,00          | 3 |             | 2,8153 |
| Sig.          |   | ,187        | 1,000  |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .003.



- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3.000.
- b. Alfa = .05.

### 11.1.6. Análisis univariado de varianza para CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE BARRIDO

#### Notas

|                            |  |  |
|----------------------------|--|--|
| Salida creada              |  | 24-OCT-2023 13:35:14   |
| Comentarios                |  |  |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\ANALISIS TERMICOS\DSC datos para anova y tukey 4 formulaciones.sav  |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1   |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>  |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>  |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>  |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 8  |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.   |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.  |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA<br>INICIODESCOMPCHIT BY<br>PELICULA<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULA(TUKEY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULA. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.00  |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.02  |

[ConjuntoDatos1] C:\Users\hp\Documents\1.-MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTICOS\ANALISIS TERMICOS\DSC datos para anova y tukey 4 formulaciones.sav



### Factores inter-sujetos

|          | N    |   |
|----------|------|---|
| PELICULA | 1,00 | 2 |
|          | 2,00 | 2 |
|          | 3,00 | 2 |
|          | 4,00 | 2 |

### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: INICIODESCOMPCHIT

| PELICULA | Media   | Desv.<br>Desviación | N |
|----------|---------|---------------------|---|
| 1,00     | 52,9800 | 12,14809            | 2 |
| 2,00     | 65,5950 | 10,91066            | 2 |
| 3,00     | 53,9300 | 14,46740            | 2 |
| 4,00     | 76,0600 | 12,50165            | 2 |
| Total    | 62,1413 | 13,86796            | 8 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: INICIODESCOMPCHIT

| Origen           | Tipo III de<br>suma de<br>cuadrados | gl | Media<br>cuadrática | F       | Sig. |
|------------------|-------------------------------------|----|---------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 714,026 <sup>a</sup>                | 3  | 238,009             | 1,506   | ,342 |
| Intersección     | 30892,280                           | 1  | 30892,280           | 195,454 | ,000 |
| PELICULA         | 714,026                             | 3  | 238,009             | 1,506   | ,342 |
| Error            | 632,216                             | 4  | 158,054             |         |      |
| Total            | 32238,522                           | 8  |                     |         |      |
| Total corregido  | 1346,242                            | 7  |                     |         |      |

a. R al cuadrado = .530 (R al cuadrado ajustada = .178)



**Pruebas post hoc**

**PELICULA**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: INICIODESCOMPCHIT

HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig.  | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|-------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |       | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00         | 2,00         | -12,6150                   | 12,57195    | ,757  | -63,7936                      | 38,5636         |
|              | 3,00         | -,9500                     | 12,57195    | 1,000 | -52,1286                      | 50,2286         |
|              | 4,00         | -23,0800                   | 12,57195    | ,377  | -74,2586                      | 28,0986         |
| 2,00         | 1,00         | 12,6150                    | 12,57195    | ,757  | -38,5636                      | 63,7936         |
|              | 3,00         | 11,6650                    | 12,57195    | ,794  | -39,5136                      | 62,8436         |
|              | 4,00         | -10,4650                   | 12,57195    | ,838  | -61,6436                      | 40,7136         |
| 3,00         | 1,00         | ,9500                      | 12,57195    | 1,000 | -50,2286                      | 52,1286         |
|              | 2,00         | -11,6650                   | 12,57195    | ,794  | -62,8436                      | 39,5136         |
|              | 4,00         | -22,1300                   | 12,57195    | ,404  | -73,3086                      | 29,0486         |
| 4,00         | 1,00         | 23,0800                    | 12,57195    | ,377  | -28,0986                      | 74,2586         |
|              | 2,00         | 10,4650                    | 12,57195    | ,838  | -40,7136                      | 61,6436         |
|              | 3,00         | 22,1300                    | 12,57195    | ,404  | -29,0486                      | 73,3086         |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 158.054.

**Subconjuntos homogéneos**

**INICIODESCOMPCHIT**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA | N | Subconjunto |
|----------|---|-------------|
|          |   | 1           |
| 1,00     | 2 | 52,9800     |
| 3,00     | 2 | 53,9300     |
| 2,00     | 2 | 65,5950     |
| 4,00     | 2 | 76,0600     |
| Sig.     |   | ,377        |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 158.054.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 2.000.

b. Alfa = .05.



### Análisis univariado de varianza

#### Notas

|                            |  |   |
|----------------------------|--|---|
| Salida creada              |  | 24-OCT-2023 13:35:34  |
| Comentarios                |  |   |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.- MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTIC OS\ANALISIS TERMICOS\DSC datos para anova y tukey 4 formulaciones.sav                           |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1  |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>   |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>   |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>   |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 8   |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.  |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.   |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA ANTALPIACHIT BY PELICULA /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=PELICULA(TUKEY) /PRINT DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=PELICULA. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.02   |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.01   |

#### Factores inter-sujetos

|          | N    |   |
|----------|------|---|
| PELICULA | 1,00 | 2 |
|          | 2,00 | 2 |
|          | 3,00 | 2 |
|          | 4,00 | 2 |



### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: ENTALPIACHIT

| PELICULA | Media   | Desv. Desviación | N |
|----------|---------|------------------|---|
| 1,00     | 23,8850 | ,92631           | 2 |
| 2,00     | 21,5600 | 1,32936          | 2 |
| 3,00     | 28,4400 | 3,49311          | 2 |
| 4,00     | 31,2250 | 4,91439          | 2 |
| Total    | 26,2775 | 4,67889          | 8 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: ENTALPIACHIT

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F       | Sig. |
|------------------|-------------------------------|----|------------------|---------|------|
| Modelo corregido | 114,266 <sup>a</sup>          | 3  | 38,089           | 3,909   | ,110 |
| Intersección     | 5524,056                      | 1  | 5524,056         | 566,885 | ,000 |
| PELICULA         | 114,266                       | 3  | 38,089           | 3,909   | ,110 |
| Error            | 38,978                        | 4  | 9,745            |         |      |
| Total            | 5677,300                      | 8  |                  |         |      |
| Total corregido  | 153,244                       | 7  |                  |         |      |

a. R al cuadrado = .746 (R al cuadrado ajustada = .555)

### Pruebas post hoc

#### PELICULA

### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: ENTALPIACHIT

HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00         | 2,00         | 2,3250                     | 3,12163     | ,875 | -10,3827                      | 15,0327         |
|              | 3,00         | -4,5550                    | 3,12163     | ,532 | -17,2627                      | 8,1527          |
|              | 4,00         | -7,3400                    | 3,12163     | ,229 | -20,0477                      | 5,3677          |
| 2,00         | 1,00         | -2,3250                    | 3,12163     | ,875 | -15,0327                      | 10,3827         |
|              | 3,00         | -6,8800                    | 3,12163     | ,264 | -19,5877                      | 5,8277          |
|              | 4,00         | -9,6650                    | 3,12163     | ,114 | -22,3727                      | 3,0427          |
| 3,00         | 1,00         | 4,5550                     | 3,12163     | ,532 | -8,1527                       | 17,2627         |
|              | 2,00         | 6,8800                     | 3,12163     | ,264 | -5,8277                       | 19,5877         |
|              | 4,00         | -2,7850                    | 3,12163     | ,810 | -15,4927                      | 9,9227          |
| 4,00         | 1,00         | 7,3400                     | 3,12163     | ,229 | -5,3677                       | 20,0477         |
|              | 2,00         | 9,6650                     | 3,12163     | ,114 | -3,0427                       | 22,3727         |
|              | 3,00         | 2,7850                     | 3,12163     | ,810 | -9,9227                       | 15,4927         |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.745.



### Subconjuntos homogéneos

#### ENTALPIACHIT

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA | N | Subconjunto<br>1 |
|----------|---|------------------|
| 2,00     | 2 | 21,5600          |
| 1,00     | 2 | 23,8850          |
| 3,00     | 2 | 28,4400          |
| 4,00     | 2 | 31,2250          |
| Sig.     |   | ,114             |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 9.745.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 2.000.

b. Alfa = .05.

### Análisis univariado de varianza

#### Notas

| Salida creada              |  | 24-OCT-2023 13:35:52  |
|----------------------------|--|---|
| Comentarios                |  |   |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.- MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTIC OS\ANALISIS TERMICOS\DSC datos para anova y tukey 4 formulaciones.sav |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1  |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>   |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>   |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>   |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 8   |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.  |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.                             |



|          |                      |   |
|----------|----------------------|---|
| Sintaxis |                      | UNIANOVA<br>PUNTOMAXCHIT BY<br>PELICULA<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULA(TUKEY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULA. |
| Recursos | Tiempo de procesador | 00:00:00.00   |
|          | Tiempo transcurrido  | 00:00:00.01   |

### Factores inter-sujetos

|          |      | N |
|----------|------|---|
| PELICULA | 1,00 | 2 |
|          | 2,00 | 2 |
|          | 3,00 | 2 |
|          | 4,00 | 2 |

### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: PUNTOMAXCHIT

| PELICULA | Media   | Desv. Desviación | N |
|----------|---------|------------------|---|
| 1,00     | 84,4850 | 2,60922          | 2 |
| 2,00     | 91,2100 | 6,88722          | 2 |
| 3,00     | 89,2700 | ,90510           | 2 |
| 4,00     | 98,2600 | 4,87904          | 2 |
| Total    | 90,8062 | 6,26721          | 8 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: PUNTOMAXCHIT

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F        | Sig. |
|------------------|-------------------------------|----|------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 196,079 <sup>a</sup>          | 3  | 65,360           | 3,315    | ,139 |
| Intersección     | 65966,200                     | 1  | 65966,200        | 3345,734 | ,000 |
| PELICULA         | 196,079                       | 3  | 65,360           | 3,315    | ,139 |
| Error            | 78,866                        | 4  | 19,717           |          |      |
| Total            | 66241,146                     | 8  |                  |          |      |
| Total corregido  | 274,945                       | 7  |                  |          |      |

a. R al cuadrado = .713 (R al cuadrado ajustada = .498)



**Pruebas post hoc**

**PELICULA**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: PUNTOMAXCHIT  
HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00         | 2,00         | -6,7250                    | 4,44033     | ,507 | -24,8009                      | 11,3509         |
|              | 3,00         | -4,7850                    | 4,44033     | ,720 | -22,8609                      | 13,2909         |
|              | 4,00         | -13,7750                   | 4,44033     | ,113 | -31,8509                      | 4,3009          |
| 2,00         | 1,00         | 6,7250                     | 4,44033     | ,507 | -11,3509                      | 24,8009         |
|              | 3,00         | 1,9400                     | 4,44033     | ,969 | -16,1359                      | 20,0159         |
|              | 4,00         | -7,0500                    | 4,44033     | ,474 | -25,1259                      | 11,0259         |
| 3,00         | 1,00         | 4,7850                     | 4,44033     | ,720 | -13,2909                      | 22,8609         |
|              | 2,00         | -1,9400                    | 4,44033     | ,969 | -20,0159                      | 16,1359         |
|              | 4,00         | -8,9900                    | 4,44033     | ,314 | -27,0659                      | 9,0859          |
| 4,00         | 1,00         | 13,7750                    | 4,44033     | ,113 | -4,3009                       | 31,8509         |
|              | 2,00         | 7,0500                     | 4,44033     | ,474 | -11,0259                      | 25,1259         |
|              | 3,00         | 8,9900                     | 4,44033     | ,314 | -9,0859                       | 27,0659         |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 19.717.

**Subconjuntos homogéneos**

**PUNTOMAXCHIT**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA | N | Subconjunto |
|----------|---|-------------|
| 1,00     | 2 | 1           |
| 3,00     | 2 | 1           |
| 2,00     | 2 | 1           |
| 4,00     | 2 | 1           |
| Sig.     |   | ,113        |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 19.717.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 2.000.

b. Alfa = .05.



Análisis univariado de varianza

**Notas**

|                            |  |  |
|----------------------------|--|--|
| Salida creada              |  | 24-OCT-2023 13:36:12   |
| Comentarios                |  |  |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.- MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTIC OS\ANALISIS TERMICOS\DSC datos para anova y tukey 4 formulaciones.sav  |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1   |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>  |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>  |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>  |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 8  |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.   |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.  |
| Sintaxis                   |  | UNIANOVA INICIODESC BY PELICULA<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULA(TUK EY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULA. |
| Recursos                   | Tiempo de procesador                         | 00:00:00.00  |
|                            | Tiempo transcurrido                          | 00:00:00.01  |

**Factores inter-sujetos**

|          | N    |   |
|----------|------|---|
| PELICULA | 1,00 | 2 |
|          | 2,00 | 2 |
|          | 3,00 | 2 |
|          | 4,00 | 2 |



### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: INICIODESC

| PELICULA | Media    | Desv. Desviación | N |
|----------|----------|------------------|---|
| 1,00     | 186,4850 | 5,91848          | 2 |
| 2,00     | 178,9850 | 1,39300          | 2 |
| 3,00     | 178,6550 | 7,17713          | 2 |
| 4,00     | 184,4800 | 15,61292         | 2 |
| Total    | 182,1513 | 7,79331          | 8 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: INICIODESC

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F        | Sig. |
|------------------|-------------------------------|----|------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 92,907 <sup>a</sup>           | 3  | 30,969           | ,373     | ,778 |
| Intersección     | 265432,623                    | 1  | 265432,623       | 3195,641 | ,000 |
| PELICULA         | 92,907                        | 3  | 30,969           | ,373     | ,778 |
| Error            | 332,243                       | 4  | 83,061           |          |      |
| Total            | 265857,773                    | 8  |                  |          |      |
| Total corregido  | 425,150                       | 7  |                  |          |      |

a. R al cuadrado = .219 (R al cuadrado ajustada = -.368)

### Pruebas post hoc

#### PELICULA

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: INICIODESC  
HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig.  | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|-------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |       | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00         | 2,00         | 7,5000                     | 9,11377     | ,842  | -29,6009                      | 44,6009         |
|              | 3,00         | 7,8300                     | 9,11377     | ,826  | -29,2709                      | 44,9309         |
|              | 4,00         | 2,0050                     | 9,11377     | ,996  | -35,0959                      | 39,1059         |
| 2,00         | 1,00         | -7,5000                    | 9,11377     | ,842  | -44,6009                      | 29,6009         |
|              | 3,00         | ,3300                      | 9,11377     | 1,000 | -36,7709                      | 37,4309         |
|              | 4,00         | -5,4950                    | 9,11377     | ,926  | -42,5959                      | 31,6059         |
| 3,00         | 1,00         | -7,8300                    | 9,11377     | ,826  | -44,9309                      | 29,2709         |
|              | 2,00         | -,3300                     | 9,11377     | 1,000 | -37,4309                      | 36,7709         |
|              | 4,00         | -5,8250                    | 9,11377     | ,914  | -42,9259                      | 31,2759         |
| 4,00         | 1,00         | -2,0050                    | 9,11377     | ,996  | -39,1059                      | 35,0959         |
|              | 2,00         | 5,4950                     | 9,11377     | ,926  | -31,6059                      | 42,5959         |
|              | 3,00         | 5,8250                     | 9,11377     | ,914  | -31,2759                      | 42,9259         |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 83.061.



### Subconjuntos homogéneos

#### INICIODESC

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA | N | Subconjunto<br>1 |
|----------|---|------------------|
| 3,00     | 2 | 178,6550         |
| 2,00     | 2 | 178,9850         |
| 4,00     | 2 | 184,4800         |
| 1,00     | 2 | 186,4850         |
| Sig.     |   | ,826             |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 83.061.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 2.000.

b. Alfa = .05.

### Análisis univariado de varianza

#### Notas

| Salida creada              |  | 24-OCT-2023 13:36:41  |
|----------------------------|--|---|
| Comentarios                |  |   |
| Entrada                    | Datos  | C:\Users\hp\Documents\1.- MAESTRIA MCCTA\TESIS\ESTADISTIC OS\ANALISIS TERMICOS\DSC datos para anova y tukey 4 formulaciones.sav |
|                            | Conjunto de datos activo                     | ConjuntoDatos1  |
|                            | Filtro                                       | <ninguno>   |
|                            | Ponderación                                  | <ninguno>   |
|                            | Segmentar archivo                            | <ninguno>   |
|                            | N de filas en el archivo de datos de trabajo | 8   |
| Manejo de valores perdidos | Definición de perdidos                       | Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.  |
|                            | Casos utilizados                             | Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.                             |



|          |   |             |
|----------|---|-------------|
| Sintaxis | UNIANOVA ENTALPIA BY PELICULA<br>/METHOD=SSTYPE(3)<br>/INTERCEPT=INCLUDE<br><br>/POSTHOC=PELICULA(TUKEY)<br>/PRINT DESCRIPTIVE<br>/CRITERIA=ALPHA(.05)<br>/DESIGN=PELICULA. |             |
| Recursos | Tiempo de procesador  | 00:00:00.00 |
|          | Tiempo transcurrido   | 00:00:00.01 |

### Factores inter-sujetos

|          | N    |   |
|----------|------|---|
| PELICULA | 1,00 | 2 |
|          | 2,00 | 2 |
|          | 3,00 | 2 |
|          | 4,00 | 2 |

### Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: ENTALPIA

| PELICULA | Media    | Desv. Desviación | N |
|----------|----------|------------------|---|
| 1,00     | 314,1500 | 8,13173          | 2 |
| 2,00     | 311,4000 | 9,33381          | 2 |
| 3,00     | 367,0500 | 17,60696         | 2 |
| 4,00     | 378,3500 | 14,35427         | 2 |
| Total    | 342,7375 | 33,77776         | 8 |

### Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: ENTALPIA

| Origen           | Tipo III de suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F        | Sig. |
|------------------|-------------------------------|----|------------------|----------|------|
| Modelo corregido | 7317,264 <sup>a</sup>         | 3  | 2439,088         | 14,577   | ,013 |
| Intersección     | 939751,951                    | 1  | 939751,951       | 5616,369 | ,000 |
| PELICULA         | 7317,264                      | 3  | 2439,088         | 14,577   | ,013 |
| Error            | 669,295                       | 4  | 167,324          |          |      |
| Total            | 947738,510                    | 8  |                  |          |      |
| Total corregido  | 7986,559                      | 7  |                  |          |      |

a. R al cuadrado = .916 (R al cuadrado ajustada = .853)



**Pruebas post hoc**

**PELICULA**

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: ENTALPIA  
HSD Tukey

| (I) PELICULA | (J) PELICULA | Diferencia de medias (I-J) | Desv. Error | Sig. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|--------------|--------------|----------------------------|-------------|------|-------------------------------|-----------------|
|              |              |                            |             |      | Límite inferior               | Límite superior |
| 1,00         | 2,00         | 2,7500                     | 12,93537    | ,996 | -49,9080                      | 55,4080         |
|              | 3,00         | -52,9000*                  | 12,93537    | ,049 | -105,5580                     | -,2420          |
|              | 4,00         | -64,2000*                  | 12,93537    | ,026 | -116,8580                     | -11,5420        |
| 2,00         | 1,00         | -2,7500                    | 12,93537    | ,996 | -55,4080                      | 49,9080         |
|              | 3,00         | -55,6500*                  | 12,93537    | ,042 | -108,3080                     | -2,9920         |
|              | 4,00         | -66,9500*                  | 12,93537    | ,022 | -119,6080                     | -14,2920        |
| 3,00         | 1,00         | 52,9000*                   | 12,93537    | ,049 | ,2420                         | 105,5580        |
|              | 2,00         | 55,6500*                   | 12,93537    | ,042 | 2,9920                        | 108,3080        |
|              | 4,00         | -11,3000                   | 12,93537    | ,819 | -63,9580                      | 41,3580         |
| 4,00         | 1,00         | 64,2000*                   | 12,93537    | ,026 | 11,5420                       | 116,8580        |
|              | 2,00         | 66,9500*                   | 12,93537    | ,022 | 14,2920                       | 119,6080        |
|              | 3,00         | 11,3000                    | 12,93537    | ,819 | -41,3580                      | 63,9580         |

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 167.324.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

**Subconjuntos homogéneos**

**ENTALPIA**

HSD Tukey<sup>a,b</sup>

| PELICULA | N | Subconjunto |          |
|----------|---|-------------|----------|
|          |   | 1           | 2        |
| 2,00     | 2 | 311,4000    |          |
| 1,00     | 2 | 314,1500    |          |
| 3,00     | 2 |             | 367,0500 |
| 4,00     | 2 |             | 378,3500 |
| Sig.     |   | ,996        | ,819     |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 167.324.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 2.000.

b. Alfa = .05.

## 11.2. Anexo 2. Fotografías isotermas de sorción

### 11.2.1. Películas de quitosano con aceite esencial de clavo (CH AEC)

a)



b)



c)



d)



e)



f)



Películas de quitosano con aceite esencial de clavo (CH AEC) en el día 1 de almacenamiento a diferentes humedades relativas. a): sílica gel (Sg), b): cloruro de Litio (LiCl), c): carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), d): yoduro de potasio (KI), e): cloruro de potasio (KCl) y f): agua desionizada.

a)



b)



c)



d)



e)



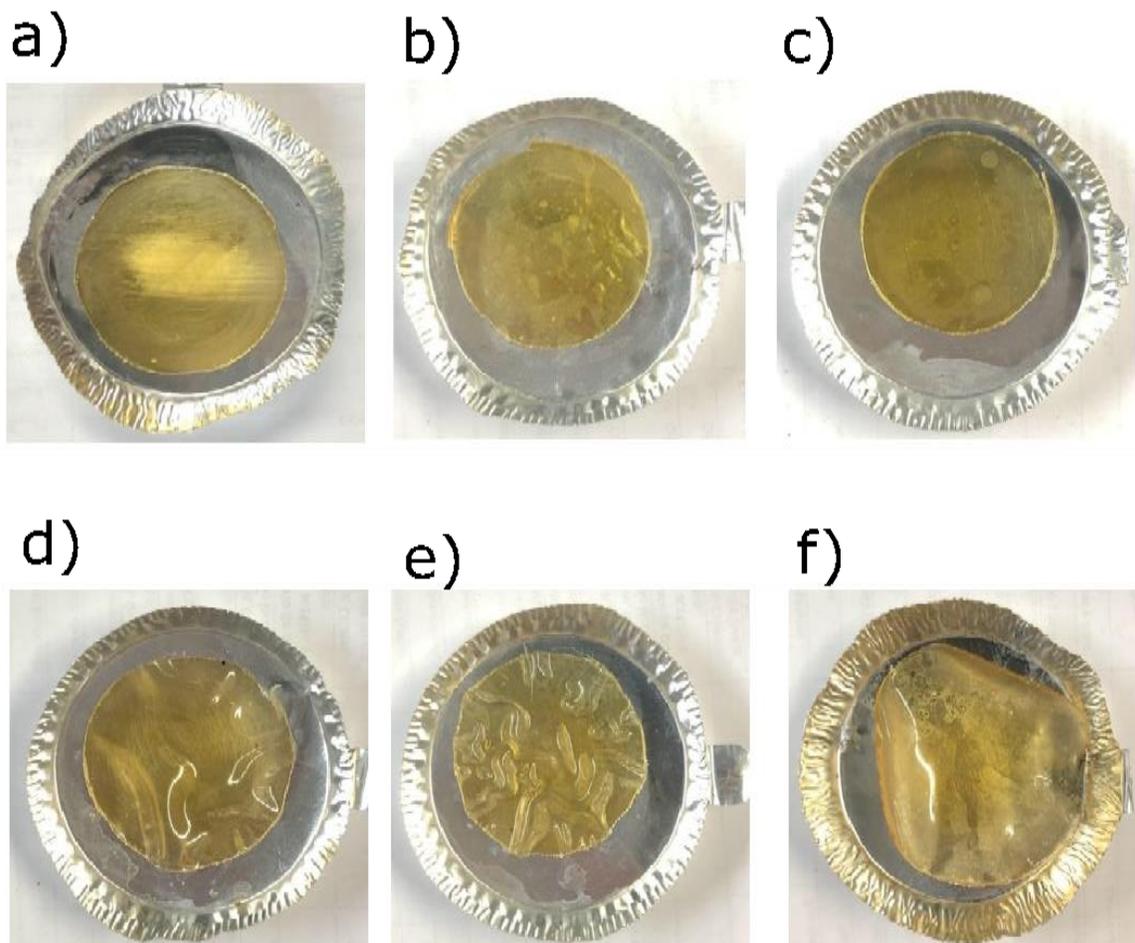
f)



Películas de quitosano con aceite esencial de clavo (CH AEC) en el día 14 de almacenamiento a diferentes humedades relativas.

a): sílica gel (Sg), b): cloruro de Litio (LiCl), c): carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), d): yoduro de potasio (KI), e): cloruro de potasio (KCl) y f): agua desionizada.

11.2.2. Películas de quitosano con aceite esencial de orégano (CH AEO)



Películas de quitosano con aceite esencial de clavo (CH AEC) en el día 1 de almacenamiento a diferentes humedades relativas.

a): sílica gel (Sg), b): cloruro de Litio (LiCl), c): carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), d): yoduro de potasio (KI), e): cloruro de potasio (KCl) y f): agua desionizada.

a)



b)



c)



d)



e)



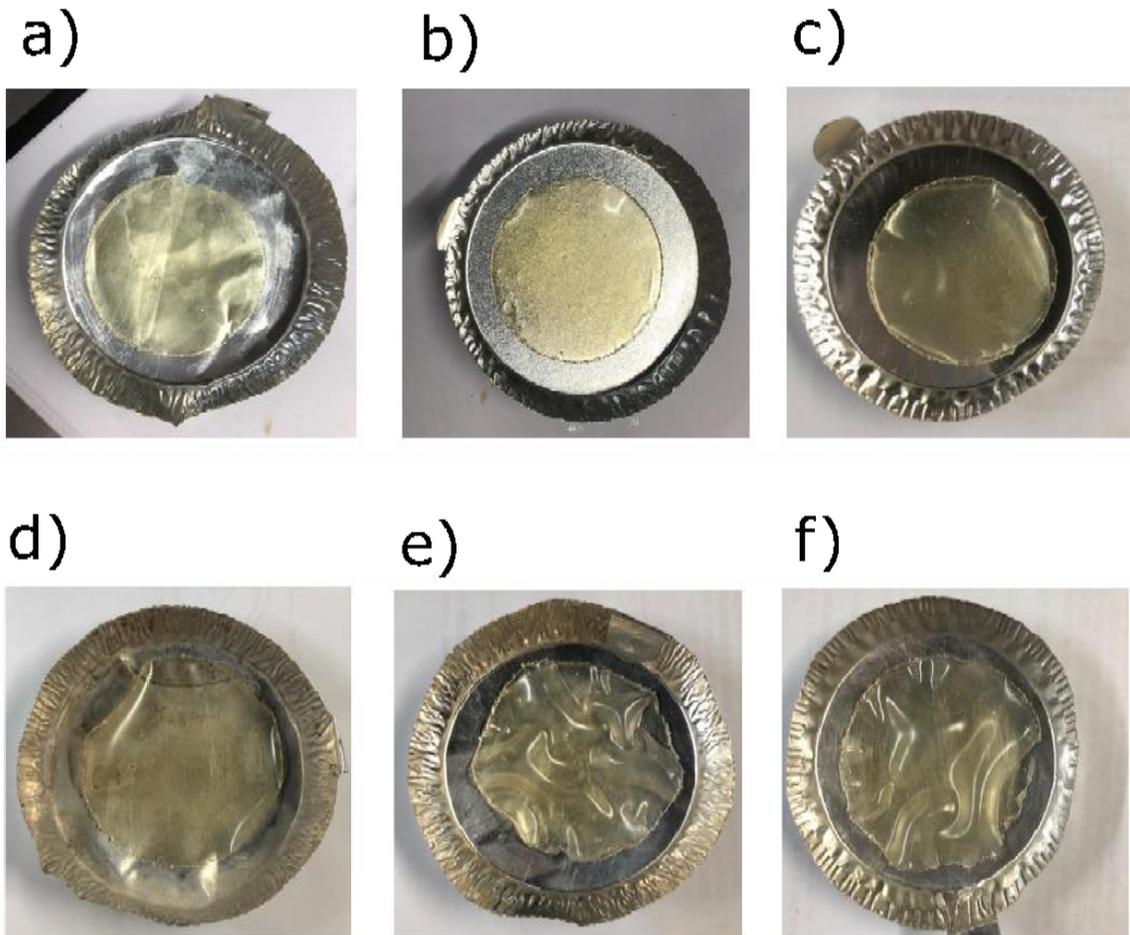
f)



Películas de quitosano con aceite esencial de clavo (CH AEC) en el día 14 de almacenamiento a diferentes humedades relativas.

a): sílica gel (Sg), b): cloruro de Litio (LiCl), c): carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), d): yoduro de potasio (KI), e): cloruro de potasio (KCl) y f): agua desionizada.

11.2.3. Películas de quitosano con almidón y aceite esencial de clavo (CH-AL AEC)



Películas de quitosano con almidón y aceite esencial de clavo (CH-AL AEC) en el día 1 de almacenamiento a diferentes humedades relativas.

a): sílica gel (Sg), b): cloruro de Litio (LiCl), c): carbonato de potasio (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), d): yoduro de potasio (KI), e): cloruro de potasio (KCl) y f): agua desionizada.

a)



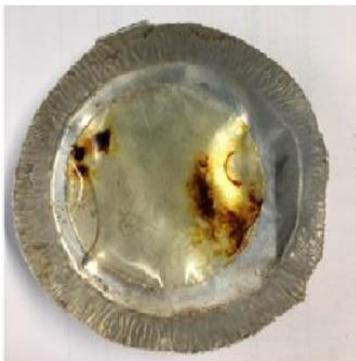
b)



c)



d)



e)



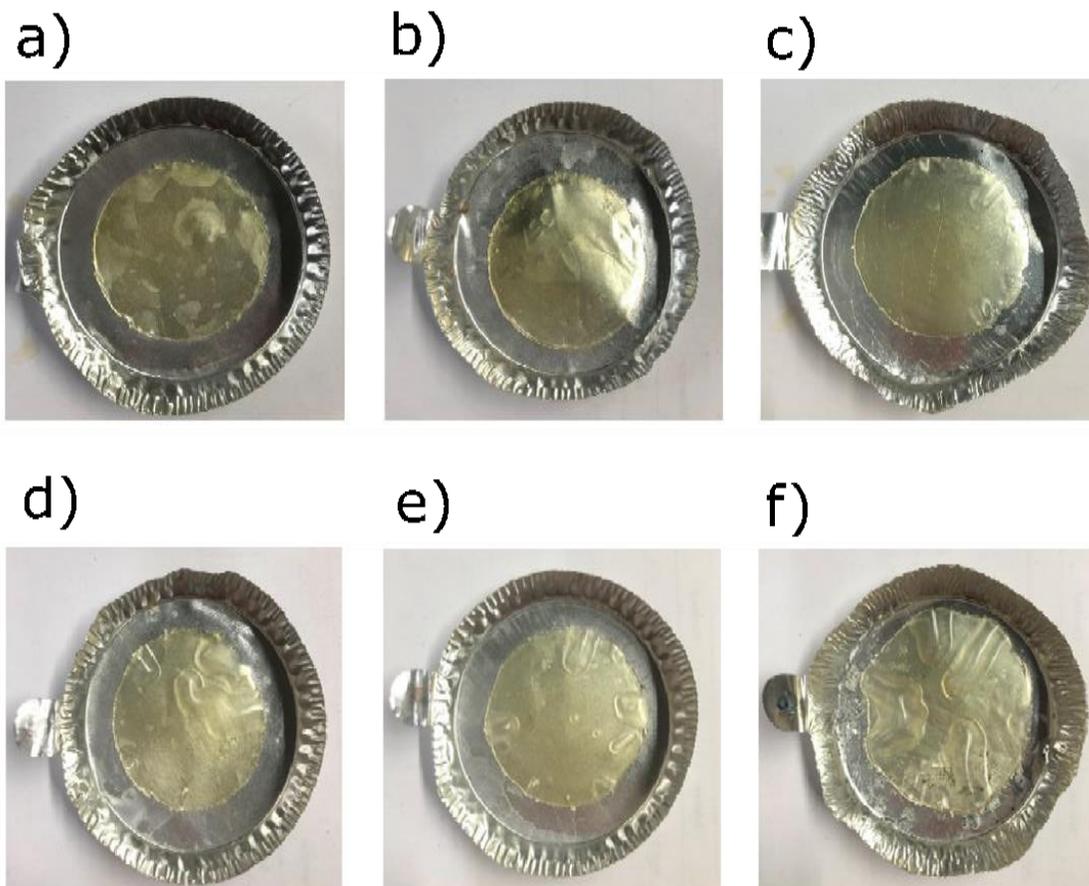
f)



Películas de quitosano con almidón y aceite esencial de clavo (CH-AL AEC) en el día 14 de almacenamiento a diferentes humedades relativas.

a): sílica gel (Sg), b): cloruro de Litio (LiCl), c): carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), d): yoduro de potasio (KI), e): cloruro de potasio (KCl) y f): agua desionizada.

11.2.3. Películas de quitosano con almidón y aceite esencial de orégano (CH-AL AEO)



Películas de quitosano con almidón y aceite esencial de orégano (CH-AL AEO) en el día 1 de almacenamiento a diferentes humedades relativas.

a): sílica gel (Sg), b): cloruro de Litio (LiCl), c): carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), d): yoduro de potasio (KI), e): cloruro de potasio (KCl) y f): agua desionizada.

a)



b)



c)



d)



e)



f)



Películas de quitosano con almidón y aceite esencial de orégano (CH-AL AEO) en el día 14 de almacenamiento a diferentes humedades relativas.

a): sílica gel (Sg), b): cloruro de Litio (LiCl), c): carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), d): yoduro de potasio (KI), e): cloruro de potasio (KCl) y f): agua desionizada.



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**