

Universidad Pública de Navarra

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE
INGENIEROS AGRÓNOMOS

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

NEKAZARITZA INGENIARIEN GOI
MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA

**COMPARACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE PELÍCULAS COMESTIBLES BASADAS
EN PROTEÍNA AISLADA DE SUERO LÁCTEO O GELATINA DE PESCADO CON EXTRACTOS
DE HINOJO MARINO INCORPORADOS**

Presentado por

AITOR GARCÍA ROLDÁN *(e) k*

aurkeztua

Dirigido por:

Dr. Juan Ignacio MATÉ CABALLERO *(e) k*

Víctor Oswaldo OTERO TUÁREZ *(e) k*

zuzendua

GRADO EN INNOVACIÓN EN PROCESOS Y PRODUCTOS ALIMENTARIOS
ELIKAGAIEN PROZESU ETA PRODUKTUEN BERRIKUNTZAN GRADUA

Junio de 2017 / 2017ko Ekaina

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 GENERALIDADES.....	3
1.2 ENVASES BIODEGRADABLES.....	5
1.3 RECUBRIMIENTOS Y FILMS BIODEGRADABLES O COMESTIBLES	6
1.4 PELÍCULAS BIOACTIVAS	11
1.5 PROPIEDADES FÍSICAS DE FILMS Y RECUBRIMIENTOS.....	13
1.6 HINOJO MARINO	16
2. OBJETIVOS.....	18
3. DISEÑO EXPERIMENTAL	19
4. MATERIALES Y METODOS.....	20
4.1 MATERIALES EMPLEADOS	20
4.2 MÉTODOS.....	22
4.2.1 Extracciones de hinojo marino.....	22
4.2.2 Elaboración de películas.....	24
4.2.3 Caracterización de propiedades físicas	25
4.2.4 Caracterización de propiedades tecnológicas.....	26
4.2.5 Método de análisis estadístico.....	29
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
5.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS.....	30
5.2 PROPIEDADES FÍSICAS	30
5.3 PROPIEDADES TECNOLÓGICAS.....	35
6. CONCLUSIONES	41
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
8. ANEXOS	45
8.1 PROPIEDADES FÍSICAS	45
8.2 PROPIEDADES TECNOLÓGICAS.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

▪ Figura 1. Diagrama de utilización y funcionamiento de recubrimientos comestibles.....	7
▪ Figura 2. Estructura de triple hélice del colágeno.....	10
▪ Figura 3. Hinojo marino en su hábitat natural.....	16
▪ Figura 4. Diseño experimental.....	19
▪ Figura 5. Hinojo marino fresco, posterior congelación del mismo mediante Nitrógeno líquido y liofilización.....	23
▪ Figura 6. Proceso de secado y desprendimiento de los films de las placas Petri.....	24
▪ Figura 7. Preparación de probetas, conservación y realización del ensayo de tracción.....	27
▪ Figura 8. Preparación de muestras y realización del ensayo de WVP.....	28
▪ Figura 9. Espesor de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado.....	31
▪ Figura 10. Espesor de las formulaciones desarrolladas a base de WPI.....	31
▪ Figura 11. Gramaje de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado....	32
▪ Figura 12. Gramaje de las formulaciones desarrolladas a base de WPI.....	32
▪ Figura 13. Contenido en humedad de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado.....	33
▪ Figura 14. Contenido en humedad de las formulaciones desarrolladas a base de WPI.....	33
▪ Figura 15. Capacidad de solubilidad de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado.....	34
▪ Figura 16. Capacidad de solubilidad de las formulaciones desarrolladas a base de WPI..	34
▪ Figura 17. Tensión máxima de rotura de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado.....	35
▪ Figura 18. Tensión máxima de rotura de las formulaciones desarrolladas a base de WPI.....	36
▪ Figura 19. Elongación relativa de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado.....	37
▪ Figura 20. Elongación relativa de las formulaciones desarrolladas a base de WPI.....	37
▪ Figura 21. Módulo de Young de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado	38
▪ Figura 22. Módulo de Young de las formulaciones desarrolladas a base de WPI.....	38
▪ Figura 23. Permeabilidad al vapor de agua de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado.....	39
▪ Figura 24. Permeabilidad al vapor de agua de las formulaciones desarrolladas a base de WPI.....	40

RESUMEN

El empleo de películas activas es una de las principales innovaciones en envasado de alimentos que se está desarrollando en los últimos tiempos. La efectividad de estos materiales se basa en la incorporación de compuestos activos y en su migración desde la película hasta la superficie del alimento, actuando así sobre la calidad del mismo. Algunas de las moléculas empleadas para la formación de películas son la gelatina de pescado y la proteína aislada de suero lácteo. Respecto a los compuestos activos, actualmente se estudia el efecto de aceites esenciales y extracciones procedentes de diferentes materiales vegetales. Las plantas halófilas, tales como el hinojo marino, tienen gran potencial como fuente de compuestos activos.

El presente trabajo pretende caracterizar las propiedades físicas de películas comestibles desarrolladas a base de gelatina de pescado o proteína aislada de suero lácteo y que incorporan extractos de hinojo marino. De este modo se valora el potencial de estos materiales para su uso con productos alimentarios.

Se ha podido comprobar que la adición de extractos de hinojo marino afecta a las propiedades físicas de los films, aumentando su espesor, gramaje y contenido en humedad en las películas de gelatina de pescado, mientras que se reducen en las de proteína de suero lácteo. En las películas desarrolladas con ambas matrices aumenta la solubilidad y la permeabilidad al vapor de agua. En cuanto a las propiedades mecánicas, el extracto actúa como un plastificante, aumentando la elongación relativa y reduciendo la tensión máxima de rotura.

Palabras clave: Films y recubrimientos comestibles; Proteína aislada de suero lácteo; Gelatina de Pescado; Hinojo marino; Envasado activo.

ABSTRACT

The use of active films and coatings is one of the main innovations in food packaging, which is being developed through last years. The effectiveness of these materials is based on the incorporation of active compounds and their migration from the film or coating to the product surface. Some molecules used for edible films and coatings are fish gelatine and whey protein isolated. Regarding the active compounds, the effect of essential oils and plant extractions are being studied currently. Halophyte plants, such as sea fennel, have shown a potential use as active compounds sources.

The present project aims to characterize physical properties of fish gelatine and whey protein isolated based films, which includes extracts from sea fennel. In this way, the use of these materials in food packaging could be evaluated.

It has been proved that the addition of sea fennel extracts produce considerable effects in films physical properties, increasing their thickness, weight per area and water content in fish gelatine films, whereas they get reduced in whey protein isolated films. Nevertheless, solubility and water vapour permeability increased in films developed with both biopolymers. Concerning mechanical properties, the extract acts as a plasticizer when incorporated to the films, as it increases the relative elongation and it reduces the tensile strength.

Key words: Edible Films and Coatings; Whey Protein Isolated; Fish Gelatine; Sea Fennel; Active Packaging

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES

Según el Codex Alimentarius, un alimento es toda sustancia elaborada, semi-elaborada o natural que se destina al consumo humano, y que aporta a su organismo los nutrientes y la energía necesarios para el desarrollo de sus procesos biológicos. Por ello, es importante que los alimentos incluyan componentes específicos que se consideran fundamentales para el desarrollo de la vida humana, como los carbohidratos, lípidos, proteínas, agua, vitaminas y minerales. Fruto de esta necesidad, el ser humano lleva miles de años en una incesante búsqueda de alimentos nutritivos.

En sus orígenes, el ser humano se alimentaba casi exclusivamente de presas de caza, que le aportaban principalmente proteínas y lípidos, además de pequeñas recolecciones de frutas silvestres y raíces, principal fuente de carbohidratos. Durante el neolítico, el ser humano pasa de ser cazador y recolector a productor, gracias al desarrollo de la ganadería y la agricultura, la cual favoreció el consumo de cereales, leguminosas, frutas y verduras. Las civilizaciones que se desarrollaron a partir de entonces, tales como Egipto, Grecia o Roma, fueron perfeccionando los diferentes sistemas de producción con el objetivo de alimentar a humanidades de mayor magnitud. De este modo, el ser humano subsistió durante miles de años gracias a la ganadería, la pesca y la agricultura, generando una diversificación en la alimentación. Durante la Edad Media, debido a una ola demográfica, la economía de subsistencia imperante no era capaz de garantizar las necesidades alimenticias de toda la población, lo que produjo el desarrollo del comercio y la economía de mercado. La Era Moderna trajo la formación de grandes núcleos urbanos, los cuales eran incapaces de subsistir sin el sistema de abastecimiento alimentario basado en el comercio, además de añadir a la agricultura los cultivos traídos del Nuevo Mundo. Finalmente, la Época Contemporánea trae consigo la revolución industrial, que favorece el éxodo rural y el crecimiento de los núcleos urbanos. La necesidad de abastecer a grandes urbanizaciones produce la industrialización de la producción de alimentos, gracias al descubrimiento de tratamientos térmicos de conservación y a la evolución de los sistemas de transporte. Por otro lado, se produce la globalización alimentaria, la cual genera una estandarización mundial del modelo alimenticio. Todo esto ocurre paralelamente a un imparable aumento demográfico, que exige un sistema de abastecimiento capaz de hacer frente a ello (Montignac).

La Organización de las Naciones Unidas (ONU) afirma que la población mundial sigue en crecimiento, y estima que esta alcanzara los 8.500 y 9.700 millones de seres humanos en 2030 y 2050 respectivamente (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 2017). Tras conocer esta proyección cabe preguntarse cómo será el futuro sistema de abastecimiento capaz de alimentar a una población semejante. Todo esto se une a la demanda de la sociedad occidental de alimentos frescos y de mayor vida útil, junto al creciente rechazo del uso de aditivos y conservantes y la búsqueda de alimentos mínimamente procesados. Esto supone un nuevo reto para la industria agroalimentaria, la cual busca nuevas tecnologías de conservación que permitan mantener los alimentos frescos y seguros durante un mayor periodo de tiempo (Carrión-Granda et al, 2017).

Uno de los principales métodos para el aumento de la vida útil y comercial de los alimentos es el empleo de envases que garanticen su seguridad y el mantenimiento de sus propiedades organolépticas y nutricionales. Generalmente, un envase trata de reducir o evitar los mecanismos de deterioro de un alimento, a pesar de que cumple otras diversas funciones:

- **Función de contención:** el envase contiene físicamente el alimento, además de fraccionar el alimento en unidades según su metrología.
- **Función de protección y conservación:** el envase favorece el mantenimiento de la calidad higiénica, nutritiva y sensorial de los alimentos mediante el frenado o suspensión de los distintos mecanismos de alteración, que se distinguen en tres grupos principales:
 - o **Mecanismos de deterioro físico:** son mecanismos como golpes, mordeduras de animales o picaduras, que producen el deterioro del alimento o favorecen la entrada de otros factores de alteración en el mismo.
 - o **Mecanismos de deterioro químico:** incluye reacciones químicas que ocurren en el seno del alimento, en ocasiones como consecuencia de un deterioro físico, tales como reacciones de oxidación, maduración, pardeamiento no enzimático, producción de toxinas o contacto con toxinas de externas.
 - o **Mecanismos de deterioro biológico:** se refiere tanto a deterioro microbiológico producido por hongos, bacterias y levaduras, como a reacciones de deterioro enzimáticas y a presencia de parásitos en el alimento.
- **Función de comunicación:** se refiere a la información aportada por el etiquetado en referencia al contenido del envase, su composición y su modo de empleo.
- **Función de presentación del producto:** busca atraer la atención del consumidor y de este modo garantizar la venta del producto.
- **Función de servicio:** se refiere a la comodidad de uso y manejo de los alimentos. Esta función va dirigida tanto al consumidor como al productor y al distribuidor, ya que facilita el manejo de los alimentos durante los tratamientos industriales que forman parte del sistema de producción, el transporte, la distribución y el consumo.
- **Función de seguridad alimentaria:** garantiza que el alimento no ha sido contaminado por agentes externos o alterado de forma delictiva.

Dependiendo de cuál sea la función principal del envase, se pueden clasificar en tres grupos diferentes:

- **Envase primario:** es el envase que se encuentra en contacto directo con el alimento. Su principal función es la contención y la protección.
- **Envase secundario:** se trata del envase que contiene el envase primario. Su principal función la comunicación y la presentación, ya que es el envase que el consumidor ve a simple vista.
- **Envase terciario:** es un envase que se encarga de la comodidad de manejo del alimento durante el transporte y distribución del producto. Es un envase que generalmente el consumidor no llega a ver.

En la búsqueda de la óptima conservación de los alimentos, la industria agroalimentaria se sirve de las diferentes características que aportan los distintos materiales

empleados en el envasado de alimentos, y de las combinaciones de estas. Los principales materiales empleados para ello son el papel, el vidrio, los metales y los plásticos procedentes de petróleo (Gómez- Guillén et al., 2009). Además, la industria agroalimentaria emplea otras tecnologías de envasado que favorecen la conservación del alimento, conocidas como envasado activo. Este sistema se basa en la incorporación de un sistema activo al envase, con la capacidad de mantener o mejorar la calidad y/o aumentar la vida útil de un producto. Los principales mecanismos empleados en envasado activo son la modificación de la atmósfera interior (MAP, Modified Atmosphere Packaging) mediante la incorporación de una solución gaseosa en el interior del envase o mediante la adición de emisores y captadores de diferentes compuestos (oxígeno, carbono dióxido, etileno...). Por otro lado, también se emplean métodos que modifican el alimento, como emisores o captadores de aromas, emisores de agentes antioxidantes o antimicrobianos y captadores de humedad (Maté, 2016).

A pesar de todo, estos materiales presentan dos principales desventajas: por un lado, no se considera que aporten una vida útil y una calidad suficiente al alimento respecto a la demanda actual y futura de la sociedad; por otro, la mayoría de los materiales empleados llevan intrínsecos problemas asociados a la contaminación, debido a su baja biodegradabilidad. De hecho, Greenpeace alerta de que la producción global de plásticos ha aumentado notablemente en los últimos cincuenta años, y se prevé que en 2020 se superarán las 500 millones de toneladas anuales. Siendo los plásticos uno de los materiales que mayores problemas de contaminación produce (algunos plásticos pueden tardar hasta 600 años en degradarse) y a la excesiva acumulación en mares y océanos (Greenpeace España, 2017), la industria agroalimentaria se encuentra en el compromiso de reducir la producción y el empleo de embalajes plásticos, ya que se trata del sector que mayor cantidad de envases plásticos emplea, además de que la mayoría de los objetos contaminantes de mares y océanos se identifican como envases alimentarios (Dilkes-Hoffman et al., 2018). Es por ello que este sector busca innovaciones en materiales y técnicas de envasado, como los envases basados en materiales biodegradables.

1.2 ENVASES BIODEGRADABLES

La biodegradación es un proceso natural en el que se produce la descomposición de determinadas sustancias orgánicas en sus ingredientes básicos, mediante la acción de microorganismos como bacterias, levaduras y hongos presentes en suelos y aguas. Durante este proceso se produce la despolimerización del material orgánico, seguido de una reacción de mineralización, que acaba generando pequeñas moléculas orgánicas como carbono dióxido, agua o metano, biomasa y residuo. De este modo, se evita la producción de compuestos que pueden generar residuos tóxicos para el medio ambiente (Arbeli, 2009; Domb, Kost y Wiseman, 1998).

Para que se produzca la biodegradación de un envase alimentario es fundamental que se trate de un material producido a partir de sustancias orgánicas y no de combustibles fósiles, como es el caso de los plásticos producidos a partir del petróleo. En este contexto, se busca la producción de plásticos biodegradables que se obtienen de fuentes de materia prima

orgánicas, principalmente residuos agrícolas (Domb et al., 1998). El procedimiento para la elaboración de estos bioplásticos se basa en la transformación de la materia orgánica mediante reacciones químicas o biológicas, que se traduce en la generación de compuestos y moléculas de interés capaces de formar polímeros. Algunos ejemplos de estos materiales son:

- **Ácido poli-láctico, PLA:** se trata de un biopolímero que se obtiene a partir de glucosa por acción de *Lactobacillus* y posterior catálisis. Actualmente este material se emplea en la producción de envases alimentarios (Domb et al., 1998).
- **Polihidroxicanoatos, PHA:** son biopolímeros de poliéster producidos por numerosas bacterias a partir de diferentes fuentes de carbono. Uno de los más habituales es el polihidroxiбутirato (PHB), que lo producen bacterias como *R. metallidurans* o *B. megaterium* a partir de glucosa o almidón (Naranjo, 2010).
- **Polímeros derivados de celulosa:** la celulosa es un polímero de glucosa, que cumple una función estructural en los vegetales. El principal derivado es el celofán, que se trata de una forma regenerada de celulosa. Otros derivados son el acetato de celulosa y los éteres de celulosa (Domb et al., 1998).

Actualmente se están realizando estudios e investigaciones sobre el empleo de estos materiales en la industria agroalimentaria, ya que deben cumplir una serie de características físicas y químicas para que su aplicación en productos alimentarios sea efectiva.

1.3 RECUBRIMIENTOS Y FILMS BIODEGRADABLES O COMESTIBLES

Una de las principales tendencias sobre las que se están realizando investigaciones en materia de envasado es el desarrollo de recubrimientos y films biodegradables o comestibles, debido al aumento de la preocupación de la sociedad occidental por el medio ambiente y la contaminación.

Los recubrimientos o films son una fina capa o película de cualquier material polimérico comestible o biodegradable que se utiliza para cubrir o envolver un alimento, y de este modo producir un aumento de su vida útil (Dehghani, Hosseini y Regenstein, 2017). La principal diferencia entre un recubrimiento y un film es su grosor: los films son de mayor grosor, por lo que se emplean para la producción de bolsas, capsulas o envoltorios; los recubrimientos, en cambio, son de menor grosor, por lo que se aplican directamente sobre el alimento, y el consumidor los ingiere en conjunto (Ramos, Fernandes, Silva, Pintado y Malcata, 2012). Por otro lado, los recubrimientos se forman sobre el alimento mediante métodos de spray, por extensión sobre la superficie o mediante inmersión, mientras que los films se forman sobre superficies inertes (Sánchez-Ortega et al, 2014). La capacidad de estos materiales de ser comestibles o biodegradables no son características propias de los materiales empleados habitualmente en el envasado de alimentos, lo que fomenta su empleo, ya que aportan valor añadido al producto, además de que son herramientas útiles a la hora de abastecer a la población con alimentos seguros, estables y duraderos (Dehghani et al., 2017).

El empleo de films y recubrimientos comestibles se remonta al siglo XII, cuando en China se empleaba cera de abeja para recubrir frutas cítricas con el objetivo de retrasar la pérdida de agua de éstas y darles un aspecto brillante (Sánchez-Ortega et al, 2014). A partir de entonces y hasta hoy en día, el empleo de recubrimientos y films comestibles ha ido en aumento, y actualmente se emplean en numerosos productos alimentarios.

El principal motivo para el empleo de films y recubrimientos en alimentos es tratar de conseguir una mayor vida útil y un alimento de mayor calidad nutritiva, higiénica y sensorial que cumpla las expectativas de los consumidores. Para alcanzar estos objetivos, los films y recubrimientos se emplean en alimentos basándose en diferentes mecanismos:

- Crear una atmósfera modificada entre la superficie del alimento y la película
- Evitar la migración de humedad, oxígeno, carbono dióxido, aromas y otros solutos entre el ambiente y el alimento o entre los diferentes componentes de un sistema alimentario.
- Actuar como matriz portadora de aditivos alimentarios, tales como compuestos antioxidantes, compuestos antimicrobianos o nutrientes específicos
- Proteger el alimento del contacto con el ambiente para evitar posible deterioro físico debido a daños mecánicos y reducir la actividad química y microbiológica.

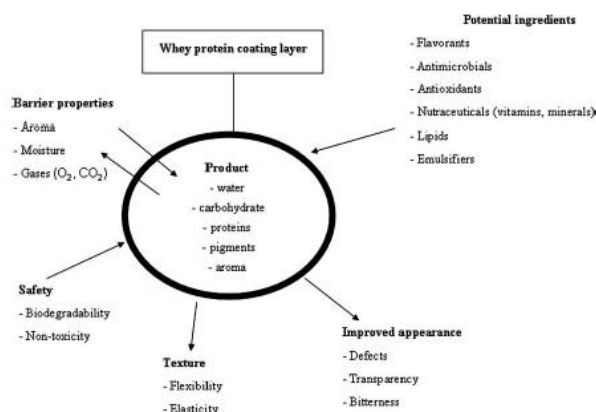


Figura 1. Diagrama de utilización y funcionamiento de recubrimientos comestibles (Ramos et al., 2012)

Teniendo en cuenta estos mecanismos, los films y recubrimientos deben cumplir una serie de requerimientos para poder garantizar su efectividad y funcionalidad. Algunos de estos requerimientos son propiedades adecuadas para actuar como barrera, que mantenga el color y la apariencia del alimento, que garantice una serie de características mecánicas y comportamientos reológicos, y que se trate de compuestos no tóxicos para el ser humano (Dehghani et al., 2017; Ramos et al., 2012).

Las moléculas empleadas como matriz se clasifican en tres grupos principales, a pesar de que también se emplean combinaciones de diferentes matrices para alcanzar las características deseadas (Dehghani et al., 2017; Ramos et al., 2012; Sánchez-Ortega et al, 2014).

1.3.1 POLISACÁRIDOS

Generalmente, los recubrimientos producidos a partir de polisacáridos son efectivos como barrera al oxígeno, carbono dióxido, aromas y lípidos, además de aportarles a los films y recubrimientos fuerza, viscosidad y propiedades adhesivas. Su principal inconveniente es que, debido a su carácter hidrófilo, no son efectivos como barreras contra la humedad. Debido a la elevada presencia de grupos hidroxilo y otros grupos polares, la formación de las películas se produce gracias a la presencia de puentes de hidrogeno. Los principales polisacáridos empleados incluyen almidón, pectinas, celulosa, quitosano, alginatos, carragenanos y agar (procedentes de algas) y gomas.

1.3.2 PROTEÍNAS

Estas películas actúan como barrera al oxígeno y carbono dióxido, pero presentan carencias como barrera al vapor de agua. Tienen propiedades adhesivas y no son muy flexibles, debido a que se organizan en una red tridimensional muy compacta formada por puentes de hidrogeno. Además, se ha podido comprobar que la presencia de ciertos aminoácidos específicos produce la restricción de reacciones de pardeamiento enzimático. Para la formación de films a partir de proteínas es necesario producir la desnaturalización de las mismas, mediante calor, empleo de disolventes o cambios de pH, que favorezcan la creación de nuevas interacciones intermoleculares. Las principales proteínas empleadas son tanto de origen animal (caseína, proteína concentrada o aislada de suero lácteo, colágeno, gelatina y ovoalbúmina) como de origen vegetal (proteínas de maíz, soja, trigo, semillas de algodón, cacahuete y arroz) (Guilbert, Cuq y Gontard, 1997).

Dos de las proteínas más empleadas en la elaboración de films y recubrimientos son la proteína de suero lácteo y la gelatina de pescado.

Proteína de suero lácteo

La leche es un sistema alimentario compuesto por dos fracciones proteicas: la caseína y las proteínas de suero lácteo. Las proteínas del suero se obtienen a partir del suero que se forma como residuo en la industria láctea y se recuperan mediante ultrafiltración, centrifugación o filtración y precipitación térmica. Esta fracción proteica está compuesta por diferentes proteínas individuales globulares y termolábiles, como las β -lactoglobulinas (Montalvo, López-Malo y Palou, 2012). En función de la concentración alcanzada, se obtiene proteína concentrada de suero lácteo (Whey Protein Concentrated, WPC) que abarca desde el 35 hasta el 80% de proteína, o proteína aislada de suero lácteo (Whey Protein Isolated, WPI en adelante), con concentraciones de proteína entorno al 90% (Ramos et al., 2012).

Para la elaboración de recubrimientos y películas a partir de WPI, es necesario diluir las mismas en agua con el objetivo de llevar a cabo la desnaturalización por calor. De este modo, se consigue modificar la estructura tridimensional de las proteínas, exponiendo los grupos -SH y otros grupos hidrófobos que favorecen la formación de nuevas interacciones hidrofóbicas y enlaces disulfuro. Seguidamente, se procede a un proceso de secado en el que el control de la temperatura y humedad es crucial para garantizar unas propiedades mecánicas adecuadas respecto a fuerza y elongación. Otros métodos para provocar la desnaturalización de las

proteínas de suero lácteo son la adición de compuestos químicos, cambios en la carga neta de la solución, aumento de la presión hidrostática, o hidrólisis enzimática parcial (Ramos et al., 2012).

Generalmente, las películas elaboradas a partir de proteína aislada de suero lácteo carecen de algunas propiedades que se consideran fundamentales para la formación de recubrimientos, por lo que se les suelen añadir otros compuestos que mejoran estas propiedades. Entre estos compuestos se encuentran los plastificantes para reducir la fragilidad, polisacáridos para aumentar sus propiedades de barrera, emulgentes para estabilizar la solución formadora de films reduciendo la tensión superficial y favoreciendo la adhesión, y lípidos para mejorar las propiedades de barrera frente a aromas, lípidos y humedad (Ramos et al., 2012).

Gelatina de pescado

La gelatina es una fracción proteica derivada del colágeno, principal proteína fibrosa estructural que compone la piel, huesos y tejido conectivo de los animales. Se trata de un biopolímero muy versátil que se utiliza en la industria farmacéutica (cápsulas de fármacos), medicina (implantes y transfusiones sanguíneas) cosmética, fotográfica y en la agroalimentaria. Respecto a sus usos en alimentación, esta se emplea como agente texturizante, especialmente en alimentos bajos en grasa y en carbohidratos para aumentar el aporte proteico, en panadería y confitería como emulgente y gelificante y en la industria cárnica.

Las principales fuentes de gelatina son procedentes de mamíferos criados en ganadería, como piel porcina y piel y huesos bovinos. Debido a razones religiosas y morales, existen grupos de consumidores que rechazan este producto, ya que el consumo de productos porcinos está prohibido en el Islam y Judaísmo, mientras que el Hinduismo no tolera el consumo de productos bovinos. Además, las dietas vegetarianas y veganas son tendencias que están en aumento entre la población y que también rechazan este tipo de productos. En la búsqueda de alternativas a estos productos, se ha investigado la gelatina procedente de aves de corral y peces, resultando la primera una fuente de bajo rendimiento, además de que la materia prima es limitada, dado que la piel de estos animales se emplea para la producción de otros ingredientes alimentarios. Por lo tanto, se define la gelatina de pescado como la mejor alternativa a la gelatina procedente de mamíferos. De hecho, este producto ofrece propiedades interesantes, así como menor temperatura de fusión que las procedentes de mamíferos (Karim y Bhat, 2008).

El proceso de producción de la gelatina se basa en la hidrólisis del colágeno procedente de tejido animal. El método consiste en la rotura de los enlaces covalentes que unen las moléculas de colágeno, provocando la desorganización de la estructura proteica. Es decir, se produce la quebradura de los enlaces intra e intermoleculares y se solubiliza el colágeno. Este procedimiento se lleva a cabo mediante tratamiento térmico en condiciones ácidas o alcalinas, provocando la desestabilización de los enlaces covalentes y puentes de hidrogeno y la desorganización de la estructura de triple hélice propia del colágeno, para reorganizarse en una estructura helicoidal (Gómez- Guillén et al., 2009; Karim y Bhat, 2008).

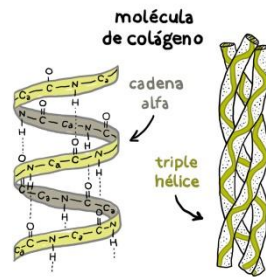


Figura 2. Estructura de tripe hélice del colágeno. Recuperada de The Chemist Look

Las propiedades de la gelatina de pescado dependen principalmente de dos factores: por un lado, la distribución del peso molecular y la formación de subunidades estructurales; por otro, la composición aminoacídica de la gelatina. El primero es resultado de las condiciones de procesado, que genera moléculas de distinto peso molecular, y del origen del colágeno (dérmico u óseo). Se ha comprobado que este factor genera efectos directos sobre las propiedades reológicas de los films y recubrimientos, produciendo films de menor fuerza y resistencia cuanto mayor es la proporción de moléculas de bajo peso. Respecto a la composición aminoacídica, varía en función de la especie de pescado de la que se extrae el biopolímero, pudiendo observarse diferencias entre pescados de agua fría y de agua caliente. Esto se traduce en efectos sobre las propiedades de barrera de los films: los films elaborados con gelatina de pescados procedentes de aguas frías resultan en mejores propiedades de barrera que los de agua caliente o incluso que los elaborados con gelatina procedente de mamíferos, debido a mayores contenidos en aminoácidos hidrófobos y menores en hidroxiprolina y prolina. Estos dos aminoácidos participan en la ordenación de las moléculas en la red tridimensional que forma el gel, repercutiendo en sus propiedades de barrera y reología (Gómez- Guillén et al., 2009; Karim y Bhat, 2008).

Es destacable que las diferencias en cuanto a la distribución del peso molecular y la composición aminoacídica entre las gelatinas de pescado de aguas frías y calientes y a las diferentes propiedades que aportan a los films favorecen la versatilidad de este material. Los films de gelatina de pescado de agua fría pueden emplearse en productos congelados o refrigerados para evitar la sinéresis, gracias a que su temperatura de gelificación se encuentra en torno a 8-10 °C. En cambio, la gelatina de pescados de agua caliente tiene una temperatura superior, alrededor de los 25-27 °C, lo que la hace adecuada para el uso en productos conservados a temperatura ambiente (Karim y Bhat, 2008).

1.3.3 LÍPIDOS

Se emplean en menor medida que las anteriores moléculas, ya que al no ser biopolímeros no son capaces de formar films cohesionados. A pesar de ello, algunos compuestos hidrófobos han sido empleados para la formación de recubrimientos y films, tales como ceras, resinas naturales, grasas animales y aceites vegetales. En estos casos, su principal característica es que tienen mejores propiedades de barrera a la humedad que polisacáridos y proteínas, gracias a su carácter hidrófobo. Debido a su incapacidad para formar films, generalmente los lípidos se emplean junto a otras moléculas poliméricas, con el objetivo de mejorar la cohesividad y aumentar el carácter hidrófobo y la flexibilidad.

1.3.4 AGENTES ESTRUCTURANTES: PLASTIFICANTES

Además de las moléculas que forman la matriz de las películas, para formar las soluciones formadoras de films (FFS) es necesario añadir agua y generalmente también agentes estructurantes, que favorecen la formación de la estructura del film. Se trata de compuestos plastificantes, como sorbitol o glicerol, que facilitan la elaboración y formación de las películas al reducir su rigidez y fragilidad. Los plastificantes son compuestos de bajo peso molecular que producen un descenso en la temperatura de transición vítrea de los polímeros, reduciendo el ratio de zonas cristalinas respecto al de zonas amorfas. De este modo, la adición de estos compuestos produce una mejora en la flexibilidad, manejo, dureza y resistencia al rasgado de las películas (Gómez-Guillén et al., 2009). La presencia y concentración de este tipo de compuestos repercute directamente sobre las propiedades mecánicas y de barrera de las películas (Ramos et al., 2012).

Los plastificantes se dividen en dos grupos en función de su funcionamiento. Por un lado, los hay que se basan en la interacción del plastificante con las moléculas que componen la matriz, creando puentes de hidrógeno con ellas y de este modo reduciendo la cantidad de puentes de hidrogeno que se forman entre las moléculas del polímero, tales como glicerol, polietilenglicol, sorbitol y el mismo agua. Por otro lado, algunos son capaces de interactuar con el agua, favoreciendo que las moléculas de agua queden atrapadas en el interior del film durante la gelificación y actuando estas como plastificante, tales como la sacarosa (Ramos et al., 2012).

Actualmente se encuentran en el mercado dos patentes de films comestibles: New Gem, compuesto por una bicapa proteica y especias que se emplea en coberturas de jamón y Coffi, film elaborado a partir de colágeno que se emplea en recubrimientos de piezas de carne deshuesadas (Sánchez-Ortega et al, 2014).

1.4 PELÍCULAS BIOACTIVAS

Se consideran películas bioactivas aquellas que incorporan compuestos activos y funcionales en su formulación que interactúan con el alimento y con el ambiente, tales como compuestos antimicrobianos, agentes antioxidantes, aditivos alimentarios u otros, mediante las cuales se pretende retrasar la degradación de un producto alimentario. El mecanismo de actuación de estas películas se basa en la liberación lenta y gradual del compuesto activo y en su interacción con el entorno, en lugar de incorporarlo directamente sobre la superficie del alimento (Guilbert et al., 1997). De este modo, se consigue reducir el efecto del compuesto activo sobre la calidad sensorial del producto y la exposición excesiva al efecto de los componentes de la superficie del alimento, manteniendo de esta forma su actividad durante mayores periodos de tiempo (Sánchez-Ortega et al, 2014).

Los principales compuestos activos empleados en películas bioactivas se clasifican según su función:

- **Compuestos antimicrobianos:** mediante la incorporación de compuestos antimicrobianos a los films se pretende prevenir la proliferación de microorganismos patógenos y deteriorantes sobre el alimento. El empleo de films o recubrimientos que incluyen agentes antimicrobianos favorece la conservación del alimento durante un mayor periodo de tiempo, ya que la liberación gradual del compuesto activo provoca que este migre de la película al alimento para después difundirse hacia el seno del mismo. De este modo, se consigue que la concentración del agente activo sobre la superficie del alimento sea mayor que incorporándolo directamente sobre el mismo, potenciando así los efectos antimicrobianos. Los principales agentes empleados son ácidos orgánicos (lactato, acetato, benzoato...), aceites esenciales y extractos de plantas (orégano, romero y otros que contienen terpenos), bactericidas (nisina y otros péptidos), fungicidas (natamicina), enzimas (lisozima) y polisacáridos (quitosano). Generalmente estos compuestos activos actúan inhibiendo el crecimiento de microorganismos mediante la producción de interferencias electrostáticas en la membrana, seguido de la lisis del microorganismo (Ramos et al., 2012; Sánchez-Ortega et al., 2014; Dehghani et al., 2017).
- **Compuestos antioxidantes:** la oxidación lipídica es una reacción de deterioro en la que se forman radicales peróxidos de alta reactividad que acaban generando hidroperóxidos y compuestos volátiles, moléculas responsables de pérdidas de calidad organoléptica y nutricional en los alimentos. Además, se ha demostrado que los radicales generados durante la oxidación lipídica están involucrados en el proceso de envejecimiento de tejidos y favorecen el desarrollo de patologías como el cáncer o enfermedades cardiovasculares (Bondet, Brand-William y Berset, 1997). Los antioxidantes empleados como conservantes alimentarios son compuestos que evitan este tipo de deterioro. La adición de estos compuestos en films y recubrimientos protege al alimento de la generación de sabores rancios, decoloración y deterioro de la textura, además de evitar la formación de compuestos carcinogénicos. Dado que los consumidores demandan el empleo de conservantes de origen natural en lugar de artificiales, actualmente se estudia la obtención de compuestos ricos en antioxidantes obtenidos a partir de extractos de diverso material vegetal, como aceites, frutos, especias, semillas, hojas y cáscaras. Generalmente estos extractos han resultado proporcionar elevados contenidos de compuestos fenólicos (Ramos et al., 2012).
- **Nutraceuticos:** los nutraceuticos son componentes dietéticos que aportan beneficios para la salud del consumidor, participando en reacciones fisiológicas del organismo humano y reduciendo el riesgo de sufrir ciertas enfermedades (Grumezescu, 2016). La efectividad de estos compuestos depende de la biodisponibilidad del mismo, por lo que es necesario asegurar su estabilidad y biodisponibilidad desde el momento de producción del alimento hasta su consumo. La aplicación de estos componentes mediante films o recubrimientos permite asegurar que el compuesto preservará su forma activa hasta el momento de consumo. Por otro lado, este sistema permite mantener la cantidad de un determinado nutriente durante el tiempo de almacenaje, aportándole el recubrimiento la cantidad de nutriente que se va deteriorando (por ejemplo, contenido de vitaminas en frutas cortadas). Los principales nutraceuticos que

se añaden mediante recubrimientos comestibles incluyen antioxidantes, vitaminas, cultivos probióticos y péptidos bioactivos (Ramos et al., 2012).

- **Aditivos alimentarios:** según la Organización Mundial de la Salud, los aditivos alimentarios son sustancias que se incorporan a los alimentos con el objetivo de mantener o mejorar su calidad, sabor, aspecto, textura o frescura. Teniendo en cuenta el efecto que producen el aspecto y color de un alimento en el consumidor, los recubrimientos comestibles son una herramienta de lo más útil, ya que garantiza que los aditivos añadidos se mantengan en la superficie. Por ello, es habitual la adición de colorantes mediante recubrimientos. Otros aditivos comúnmente empleados en films y recubrimientos son los potenciadores del sabor, que consiguen enmascarar o potenciar el sabor del alimento (Ramos et al., 2012).

Tal y como afirman Carrión-Granda et al. (2017), los films y recubrimientos comestibles que incorporan compuestos activos son considerados una tecnología innovadora que permite aumentar la vida útil de los productos alimentarios y garantizar su frescura, mediante la adición de diferentes componentes. A pesar de ello, Ramos et al. (2012) afirman que estos compuestos se podrán adicionar a las soluciones formadoras de films, siempre y cuando no comprometan las propiedades físicas y mecánicas de los mismos. De hecho, numerosos autores indican que la adición de compuestos activos a los films puede provocar pérdidas en la funcionalidad de estos.

1.5 PROPIEDADES FÍSICAS DE FILMS Y RECUBRIMIENTOS

El potencial de empleo de films y recubrimientos comestibles depende en gran medida de sus propiedades físicas y químicas, ya que deben cumplir los mismos criterios que los materiales convencionales empleados en envases alimentarios. En cuanto a sus propiedades físicas, estas cobran especial interés en lo que se refiere a la sustitución de plásticos procedentes de fuentes de energía fósiles por films y recubrimientos biodegradables. Estas propiedades se refieren a las propiedades de barrera, propiedades mecánicas, propiedades superficiales y propiedades ópticas, entre otras (Ramos et al., 2012).

1.5.1 PROPIEDADES DE BARRERA

Las propiedades de barrera son fundamentales en cuanto a la protección del alimento frente a factores ambientales y contacto con otros productos e ingredientes. Estas incluyen la permeabilidad al vapor de agua, a otros gases y a aromas (Ramos et al., 2012).

La transferencia de moléculas a través de una película polimérica sucede principalmente mediante dos mecanismos: por un lado mediante microporos e imperfecciones que suponen una vía de paso para las moléculas, y por otro la difusión pasiva, en el que las moléculas se disuelven en la superficie de la película y debido al efecto gradiente atraviesan la película por difusión (Garde, 2014). De este modo, la permeabilidad se define como la tasa de vapor, gas u otra molécula que se transmite por una unidad de área y de espesor, con un diferencial de presión de una unidad entre ambas caras de la película y en condiciones

específicas de temperatura y humedad (Ramos et al., 2012). La permeabilidad de un material depende en gran medida de su composición y estructura química (tipo e intensidad de unión entre los polímeros grado de entrecruzamiento, cristalinidad, adición de plastificantes u otros aditivos...) y de la interacción con el permeante.

La permeabilidad al vapor de agua (Water Vapor Permeability, WVP) es uno de los principales parámetros que definen las propiedades de barrera de un material, ya que la mayoría de las reacciones de deterioro de los alimentos dependen de la cantidad de agua presente en dicho alimento (Ramos et al., 2012). En este caso, la transferencia de moléculas de un lado de la película al otro se produce mediante difusión pasiva, por lo que es dependiente de las propiedades químicas del polímero: las películas elaboradas con polímeros de carácter hidrófobo alcanzan mayor eficacia en cuanto a permeabilidad al vapor de agua, mientras que los de carácter hidrófilo no son tan efectivos. La transferencia de moléculas viene definida por la Ley de Fick:

$$J_{Az} = -D_{AB} \frac{\partial C_A}{\partial z}$$

Dónde:

- J_{Az} = flujo de permeante difundido por unidad de área (A) en un tiempo t y dirección z
- D_{AB} = difusividad de masa molecular del permeante A a través de la película B
- $\frac{\partial C_A}{\partial z}$ = gradiente de concentración en la dirección z

La permeabilidad al vapor de agua se determina principalmente mediante métodos gravimétricos.

En cuanto a la permeabilidad a otros gases, el principal estudiado es el oxígeno, ya que se encuentra involucrado en la mayoría de las reacciones de deterioro de alimentos, tales como degradación vitamínica, proliferación microbiana, reacciones enzimáticas y enranciamiento lipídico. Este es un parámetro que cobra especial importancia en el uso de estos materiales sobre alimentos vegetales vivos, donde se busca regular la respiración celular con el objetivo de evitar la sobremaduración y deterioro de estos productos, o en el mantenimiento del color de la carne. Otro de los motivos por los que la permeabilidad al oxígeno cobra importancia es que la reducción de la presión parcial de oxígeno respecto a la de carbono dióxido entre el recubrimiento y el alimento puede producir fermentación anaerobia, lo que se traduce en deterioro del alimento (Ramos et al., 2012; Garde, 2014).

Finalmente, es importante que los materiales empleados en envases alimentarios tengan baja permeabilidad a compuestos aromáticos, ya que la pérdida de aromas procedentes del alimento o la absorción de compuestos aromáticos del exterior puede provocar pérdidas considerables en cuanto a calidad sensorial del producto, lo que limita la aceptación de este por parte del consumidor (Ramos et al., 2012).

1.5.2 PROPIEDADES MECANICAS

Las propiedades mecánicas es otro de los factores que limitan el uso de los materiales en envases alimentarios, ya que son necesarias una fuerza mecánica y extensibilidad suficientes como para garantizar que se mantenga la integridad de los productos alimentarios. Las propiedades mecánicas de los films y recubrimientos dependen principalmente del polímero empleado para su formación, y de la adición de agentes estructurantes y aditivos.

La determinación de las propiedades mecánicas de un material se realiza mediante un análisis mecánico dinámico, que consiste en un ensayo de tracción el cual permite definir tres propiedades:

- **Tensión máxima de rotura:** es la máxima tensión que un material puede aguantar antes de quebrarse.
- **Elongación relativa:** es el cambio de dimensiones que ha sufrido el material durante el ensayo en relación a sus dimensiones iniciales. Se representa en porcentaje de las dimensiones iniciales.
- **Módulo de elasticidad o de Young:** es el cociente entre la tensión y la elongación del material en la fase elástica de su deformación. Es un indicador de la rigidez del material, y es directamente proporcional a la fuerza necesaria para provocar una deformación en el material.

Uno de los aditivos más empleados en films y recubrimientos comestibles son los plastificantes. El efecto de estos compuestos sobre las propiedades mecánicas de las películas produce una reducción de la rigidez, lo que se traduce a menor tensión máxima de rotura y mayor elongación relativa. Este comportamiento se asocia a la reducción de las interacciones entre las moléculas que forman el polímero (Ramos et al., 2012; Garde, 2014).

1.5.3 PROPIEDADES SUPERFICIALES

Las propiedades superficiales de films y recubrimientos se refieren principalmente a la capacidad de cohesión y de adhesión a la superficie de los productos alimentarios. Estas dos propiedades dependen de la capacidad del polímero para formar enlaces intermoleculares numerosos y de gran resistencia, de modo que las cadenas de polímero queden fuertemente unidas. Para la mejora de estas propiedades se emplean plastificantes, que reducen el nivel de cohesión, y surfactantes, que mejoran la capacidad de adhesión a la superficie del alimento (Ramos et al., 2012).

1.5.4 PROPIEDADES ÓPTICAS

El color y la transparencia de los films y recubrimientos comestibles es de gran importancia, ya que la decisión de compra de un consumidor se ve afectada fuertemente por la apariencia externa del alimento. Además, el color y aspecto del alimento también afecta a la aceptación o rechazo del mismo a la hora de ingerirlo, e incluso puede afectar a la percepción sensorial del mismo. Por lo tanto, es de vital importancia que la adición de compuestos activos en los recubrimientos no afecte en gran medida a su color y aspecto (Ramos et al., 2012).

1.6 HINOJO MARINO

El hinojo marino (*Crithmum maritimum*) es una planta perenne halófila habitual de los ecosistemas costeros. Se trata de una hierba aromática perteneciente a la familia Apiaceae que habitualmente crece en rocas marinas, espigones y playas de la costa mediterránea, océano pacífico y atlántico. Se trata de una planta con gran cantidad de pequeñas ramas que alcanzan alturas de 30-60 cm con raíces fuertes y gruesas. Sus hojas son suculentas y con forma de vaina que acaba en una punta de aspecto pinado, con una longitud de 2 a 5 cm. Esta planta florece en el periodo de Junio a Septiembre, por lo que sus frutos maduran desde noviembre a diciembre (Renna, Gonnella, Caretto, Mita y Serio, 2016).



Figura 3. Hinojo marino en su hábitat natural (Renna et al., 2016).

La cultura gastronómica de muchos países ha empleado tradicionalmente el hinojo marino como hierba aromática, ya que aporta atributos sensoriales de interés a otros alimentos, gracias a su elevado contenido en aceites esenciales. Algunos platos que habitualmente se preparaban con hinojo marino son ensaladas, sopas y salsas. Por otro lado, el hinojo marino también ha sido utilizado con propósitos nutricionales y medicinales, ya que sus hojas aportan compuestos de interés como carotenoides, flavonoides, vitamina C, ácidos grasos y otros compuestos bioactivos. Algunas de las dolencias que se trataban mediante esta planta eran el escorbuto de los marineros, cistitis, prostatitis, cólicos y enfermedades digestivas, además de emplearlo por sus efectos diuréticos y vermífugos. Hoy en día no es una planta muy empleada, por lo que se están realizando estudios sobre el empleo de este vegetal como especias o hierbas aromáticas (Renna et al., 2016).

Se han realizado numerosos estudios sobre la composición química del hinojo marino y de su actividad antioxidante y antimicrobiana, los que han podido comprobar que los aceites esenciales procedentes de semillas, flores, tallos y hojas de este vegetal son ricos en compuestos bioactivos, habiéndose detectado entre 11 y 14 compuestos distintos. Algunos de los más destacables son dilapiol, timil-metil-eter, p-cimeno, terpineno y ácido clorogénico (Houta, Akrouf, Najja, Neffati y Amri, 2015). Dichos compuestos son principalmente de carácter fenólico, se producen en los vegetales como metabolitos secundarios, y participan en los procesos de crecimiento y reproducción de los vegetales, además de proteger a las células de la oxidación (Meot-Duros y Magné, 2007). Estos compuestos activos, además de presentar actividad antioxidante han resultado tener efectos inhibitorios sobre ciertos microorganismos, tales como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* o *Listeria monocytogenes*.

En el estudio de los diferentes lugares en los que crece esta planta se ha podido comprobar que las condiciones climáticas y de disponibilidad de agua y nutrientes, tanto cuantitativa como cualitativamente, son muy diferentes, lo que genera plantas con composiciones químicas diferentes. De hecho, Houta et al. (2015) afirman que el factor ambiental produce cambios a nivel de presencia o ausencia de ciertos compuestos activos y a nivel de concentración de otros, comparando plantas procedentes de distintas regiones del mar Mediterráneo y de la costa del océano Atlántico. Por otro lado, también se han definido diferencias en la composición química de poblaciones vegetales desarrolladas en acantilados respecto a las desarrolladas en playas, debido al estrés producido por la deficiencia de nutrientes y agua en estas (Meot-Duros y Magné, 2007).

En cualquier caso, se ha comprobado que el hinojo marino, al igual que otros cultivos infrautilizados, podría considerarse como fuente de compuestos antioxidantes de interés para su uso en la industria agroalimentaria como conservantes o ingredientes alimentarios, y en la medicina como compuesto con efecto antibiótico (Renna et al., 2016 ; Meot-Duros y Magné, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar películas comestibles y funcionales para su futura utilización en envasado de alimentos y reducir de este modo el empleo de plásticos y otros materiales de baja biodegradabilidad.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar las propiedades físicas y tecnológicas de películas comestibles desarrolladas en matrices de proteína aislada de suero lácteo o gelatina de pescado con extractos de hinojo marino incorporados, y de este modo poder determinar el efecto de la adición de los extractos sobre las mismas.

3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Durante el transcurso del proyecto se han desarrollado 8 formulaciones de películas comestibles, las cuales se diferencian en su composición en tres variables principales:

- Molécula empleada para el desarrollo de la matriz de las películas comestibles
- Presencia o ausencia de extracto de hinojo marino (*Crithmum maritimum*) con potencial antioxidante y antimicrobiano
- Concentración de extracto de hinojo marino (*Crithmum maritimum*)

A partir de estas variables se define el diseño experimental.

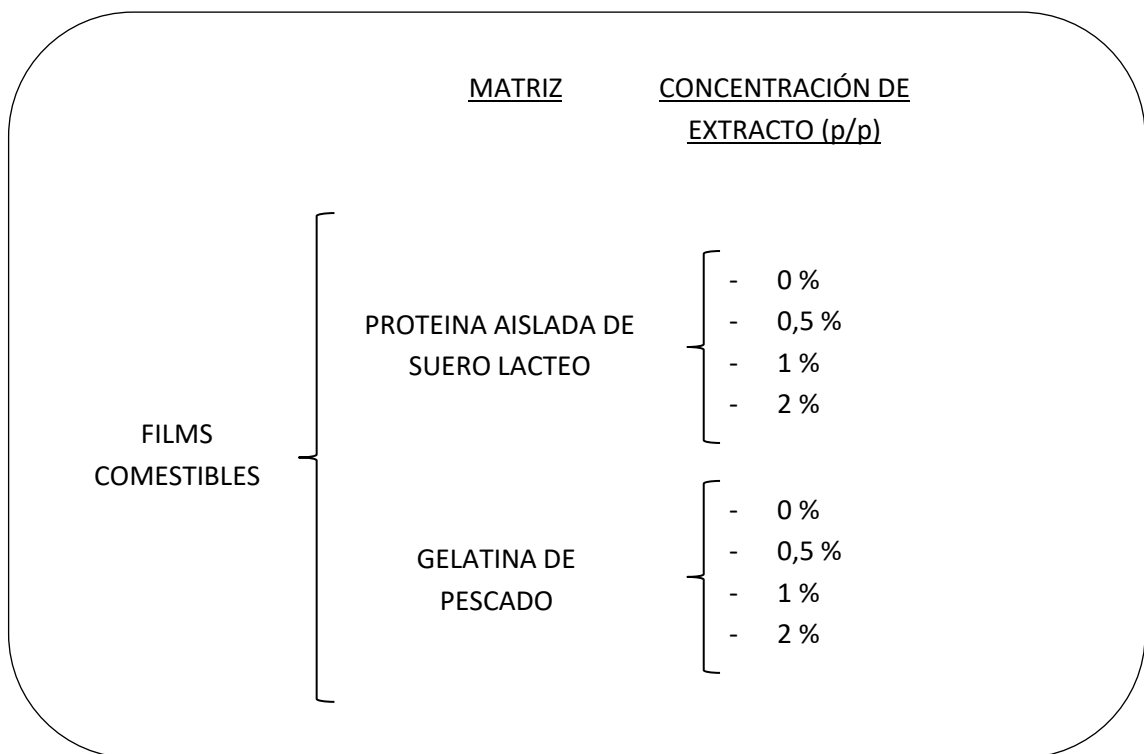


Figura 4. Diseño experimental

La caracterización de cada una de las formulaciones se clasifica de la siguiente forma:

- Caracterización de propiedades físicas:
 - o Espesor
 - o Contenido en humedad
 - o Solubilidad
- Caracterización de propiedades tecnológicas:
 - o Propiedades mecánicas
 - o Propiedades de barrera

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 MATERIALES EMPLEADOS

a) En el secado del hinojo marino

- Hinojo marino (*Crithmum maritimum*), embalado en cajas térmicas y en refrigeración, proporcionado por Porto-Muiños S.L., A Coruña, España
- Nitrógeno líquido
- Mortero
- Licuadora Kenwood 450w
- Liofilizador semi-industrial Telstar Lyobeta 25
- Bolsas de polietileno de baja densidad (LDPE) para envasado al vacío
- Equipo de envasado al vacío Sammic V-640 S
- Desecadores de campana
- Sales de sílica gel OPPAC
- Balanza de humedad GRAM ST-H50

b) En la extracción del hinojo marino

- Hinojo marino (*Crithmum maritimum*) previamente tratado
- Ultraturrax IKA-WERKE T25 Basic
- Equipo de ultrasonidos Hielscher UP400S
- Centrífuga Jouan MR1822
- Evaporador rotatorio Buchi R-200
- Buchner y Kitasatos con módulo de vacío
- Liofilizador semi-industrial Telstar Lyobeta 25
- Agua destilada
- Vaso de precipitados de 1000 ml
- Probetas de 30 y 50 ml
- Hielo picado
- Matraz de fondo redondo de 500 ml
- Platos de aluminio
- Tubos de centrifuga de 50 ml PPCO
- Balanza Mettler Toledo PB302

c) En la elaboración de films de proteína aislada de suero lácteo

- Proteína aislada de suero lácteo (Whey Protein Isolated, WPI), proporcionada por Davisco Food International (Le Seur, MN, EE.UU.)
- Glicerol bidestilado 99.5%, proporcionado por VWR Chemicals
- Extracto de hinojo marino (*Crithmum maritimum*)
- Sosa caustica (NaOH) 1N Panreac
- Vaso de precipitados de 50 y 250 ml
- Balanza de precisión Mettler Toledo PB302
- Placa agitadora magnética Velp Scientific Multistirrer 15
- Baño termostático con sistema de agitación P-Selecta Unitronic-OR
- Pipeta Mettler Toledo LTS 2-20 ml

- Platos de cristal de 14 cm de diámetro
- Cámara climática Weiss Technik SB222 (Alemania)
- Desecadores de campana acondicionados a una humedad relativa de 57%
- Sales de NaBr (Bromuro de sodio) VWR International
- Pinzas
- Hojas de bisturí quirúrgico Nahita Sterile-R

d) En la elaboración de films de gelatina de pescado

- Gelatina de Pescado comestible, proporcionada por LAPI Gelatine (Empoli, Italia)
- Glicerol bidestilado 99.5%, proporcionado por VWR Chemicals
- Extracto de hinojo marino (*Crithmum maritimum*)
- Vaso de precipitados de 250 ml
- Balanza de precisión Mettler Toledo PB302
- Placa agitadora magnética Velp Scientific Multistirrer 15
- Placas térmicas con sistema de agitación P-Selecta Agimatic-N
- Pipeta Mettler Toledo LTS 2-20 ml
- Platos de cristal de 14 cm de diámetro
- Cámara climática: Weiss Technik SB222 (Alemania)
- Desecadores acondicionados a una humedad relativa de 57%
- Sales de NaBr (Bromuro de sodio) VWR International
- Pinzas
- Hojas de bisturí quirúrgico Nahita Sterile-R

e) En la determinación de las propiedades físicas

1. *Determinación del espesor*

- Micrómetro digital Mitutoyo ID-F125, Japón

2. *Determinación del contenido en humedad*

- Estufa de convección P-Selecta
- Vasos de precipitados de 50 ml
- Balanza de precisión Mettler Toledo AE 200

3. *Determinación de la solubilidad*

- Estufa de convección P-Selecta
- Vasos de precipitados de 50 ml
- Balanza de precisión Mettler Toledo AE 200
- Placa agitadora magnética Velp Scientific Multistirrer 15

f) En la determinación de las propiedades tecnológicas

1. *Determinación de propiedades mecánicas*

- Cizalla mecánica Metrotec
- Balanza de precisión Mettler Toledo AE 200
- Micrómetro digital Mitutoyo ID-F125, Japón

- Texturómetro Aname Texture Analyser TA.XT.plus (Surrey, Gran Bretaña)
- Desecadores de campana
- Sales de NaBr (Bromuro de sodio) VWR International

2. *Determinación de propiedades barrera*

- Células de metacrilato de 8cm de diámetro
- Tornillos de 16 mm de longitud
- Llaves Allen
- Silicona Rhodia Pâte 408 (Italia)
- Pipeta Thermo Scientific Finnpiquette F2 (Finlandia)
- Vaso de precipitados de 100ml
- Cámara SanPlatec Dry-Keeper (Japón) con sistema de ventilación Elco (Italia) e higrómetro analógico integrados
- Balanza de precisión Mettler Toledo AE 200
- Micrómetro digital Mitutoyo ID-F125, Japón
- Sales de sílica gel OPPAC
- Platos de plástico de 12 cm de diámetro
- Bandejas metálicas para estufa
- Estufa de convección P-Selecta

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Extracciones de hinojo marino

El procedimiento de extracción del hinojo marino está compuesto por dos etapas: por un lado, la etapa de secado de la planta, y por otro, la etapa de extracción.

Secado

El secado del material vegetal se realizó mediante la congelación por medio de nitrógeno líquido y posterior liofilización del mismo. Este proceso consiste en la eliminación del agua de un alimento mediante la congelación y subsiguiente sublimación a presión inferior a la atmosférica. Al no producirse la eliminación del agua a temperaturas elevadas, se evita la degradación de los componentes del alimento, preservando sus características organolépticas y nutricionales.

La preparación de la muestra previa a la liofilización consistió en la congelación de la planta mediante nitrógeno líquido a una temperatura de -180°C , para después disminuir su tamaño empleando un mortero. Seguidamente, el material vegetal se sometió al proceso de liofilización. Los parámetros de liofilización fueron los siguientes:

- Congelación:
 - -45°C y presión atmosférica durante 2 horas
 - -45°C y 0.25 mbar de presión durante 11 horas

- Sublimación:
 - 25°C y 0.25 mbar durante 11 horas



Figura 5. Hinojo marino fresco, posterior congelación del mismo mediante Nitrógeno líquido y liofilización

Extracción

El método de extracción se basa en el descrito por Pérez-Jiménez, J. y Saura-Calixto, F. (2015), a pesar de haber realizado una serie de modificaciones que se recogen en el documento de Cortés, N. (2017).

Seguidamente se detalla el procedimiento:

- Preparación de una muestra de 20 gramos y disolución de la misma en 400 ml de etanol:agua al 75:25.
- Homogeneización de la disolución mediante ultraturrax a una velocidad de 20.500 rpm (revoluciones por minuto) durante 5 minutos. La homogeneización se realizó introduciendo la muestra en un baño de hielo para evitar que alcance temperaturas superiores a la de fusión de los polifenoles, de modo que no se produzca su degradación.
- Segunda homogeneización mediante sonicación, aplicando con una punta de 7 mm de diámetro 8 ciclos de 2 minutos al 100% de potencia y con un descanso de un minuto entre los ciclos. La homogeneización se realizó introduciendo la muestra en un baño de hielo para evitar que alcance temperaturas superiores a la de fusión de los polifenoles, de modo que no se produzca su degradación.
- Centrifugación de las muestras durante 10 minutos a 12.000 rpm a una temperatura de 5°C
- Recogida del sobrenadante y secado en evaporador rotatorio. Estos equipos permiten la evaporación, posterior destilación y recogida de un solvente, con el fin de separarlo del soluto. El equipo cuenta con un sistema de calentamiento y un módulo de vacío, lo que permite la evaporación del solvente a baja temperatura y de este modo reducir los efectos degradantes del calor sobre el solvente o el soluto. Para la evaporación se ajustaron los siguientes parámetros: una temperatura de baño de 35°C, una presión de vacío de 23 mbar y enfriamiento mediante agua de red. El secado se realizó hasta alcanzar la sequedad total.
- Resuspensión del contenido en 30 ml de agua destilada y filtrado a vacío
- Congelación de los extractos a -80°C para su conservación
- Liofilización de los extractos siguiendo los siguientes parámetros:

- Congelación:
 - -10°C y presión atmosférica durante 50 minutos
 - -10°C y 0.016 mbar de presión durante 23 horas y 30 minutos
- Sublimación:
 - 25°C y 0.016 mbar de presión durante 24 horas

4.2.2 Elaboración de películas

Debido a las diferentes características de la proteína aislada de suero lácteo (WPI) y de la gelatina de pescado, cada una de las matrices exige un procedimiento de elaboración específico:

a) Procedimiento de elaboración de películas comestibles de WPI

Para la elaboración de las películas comestibles de WPI se empleó el método descrito por Carrión-Granda *et al.* (2018), que a su vez fue modificado por M. Irisarri (2018). El método se describe a continuación:

- **Preparación de la solución:** se preparó una solución al 8% (p/p) de WPI y 4% (p/p) de glicerol en agua, que se homogeneizó mediante agitación. El glicerol actúa como plastificante en la solución, de modo que garantiza ciertas propiedades en los films.
- **Desnaturalización de la solución proteica:** la solución se incubó durante 30 minutos a 90°C, en un baño termostático con sistema de agitación.
- **Preparación del extracto:** se pesó la masa correspondiente y se diluyó en 5 g de agua destilada. Mediante la adición de sosa caustica (NaOH) se reguló el pH de la solución hasta 7.
- **Enfriamiento de la solución:** se dejó enfriar la solución hasta alcanzar los 40°C, con el objetivo de evitar la degradación de los polifenoles que contiene el extracto.
- **Suspensión del extracto:** se suspendió el extracto en la solución de WPI en leve agitación para evitar la gelificación de la solución.
- **Elaboración de las películas:** se vertieron 16 g de solución en una placa Petri de vidrio de 14 cm de diámetro y se realizó un secado en cámara climática durante 18 horas a 40°C y 45% de humedad relativa. Posteriormente las películas se retiraron de las placas Petri y se conservaron en cabinas aisladas al 57% de humedad relativa.

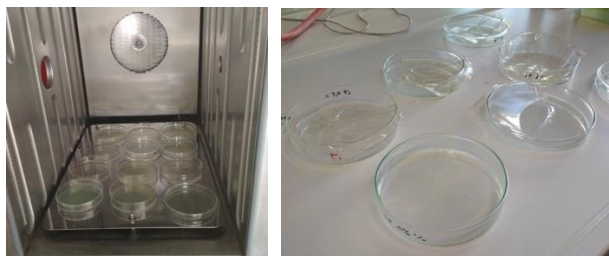


Figura 6. Proceso de secado y desprendimiento de los films de las placas Petri

b) Procedimiento de elaboración de películas comestibles de gelatina de pescado

El procedimiento de elaboración de las películas comestibles de gelatina de pescado se basa en los descritos por Tongnuanchan et al. (2015) y Gómez-Estaca et al. (2009), que posteriormente fue adaptado por Otero, Fernández-Pan y Maté (2018). El procedimiento es el siguiente:

- **Preparación de la solución:** se preparó una solución al 10% (p/p) de gelatina de pescado y 3% (p/p) de glicerol en agua, que se homogenizó mediante agitación. El glicerol actúa como plastificante en la solución, de modo que garantiza ciertas propiedades en los films.
- **Desnaturalización de la solución proteica:** la solución se incubó durante 30 minutos a 70°C en una placa calefactora con sistema de agitación.
- **Preparación del extracto:** se pesó la masa correspondiente y se diluyó en 5 g de agua destilada.
- **Enfriamiento de la solución:** se dejó enfriar la solución hasta alcanzar los 40°C, con el objetivo de evitar la degradación de los polifenoles que contiene el extracto.
- **Suspensión del extracto:** se suspendió el extracto en la solución de gelatina de pescado y se homogeneizó mediante agitación.
- **Elaboración de las películas:** se vertieron 20 g de solución en una placa Petri de vidrio de 14 cm de diámetro y se realizó un secado en cámara climática durante 15 horas a 27°C y 75% de humedad relativa. Seguidamente, se equilibró la humedad de las películas en campanas aisladas al 57% de humedad relativa durante 24 horas. Finalmente, las películas se retiraron de las placas Petri y se conservaron en estas mismas campanas.

4.2.3 Caracterización de propiedades físicas

a) Espesor

La medida del espesor se realizó mediante el empleo de un micrómetro digital (modelo ID-F125, Mitutoyo Corp., Tokio, Japón) con una precisión de 1 µm. Se realizaron 10 medidas en diferentes puntos de la película, una vez equilibrada la humedad de la misma en cabinas aisladas al 57% de humedad relativa. La medida del espesor se realizó previamente a la determinación de sus propiedades mecánicas y a los ensayos de permeabilidad al vapor de agua.

b) Contenido en humedad

El contenido en humedad se determinó mediante método gravimétrico, tal y como explican Rubilar et Al. (2012). Se equilibró la humedad de los films durante 3 días en cabinas aisladas al 57% de humedad relativa. Seguidamente, se prepararon 5 muestras de cada tratamiento, las cuales se pesaron y se introdujeron en una estufa de convección a 105°C durante 24 horas. Una vez completado el secado, se volvió a determinar el peso de cada una de las muestras.

El contenido en humedad se expresó como porcentaje de agua respecto al peso total, siguiendo la siguiente ecuación:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{P_0 - P_f}{P_0} \cdot 100$$

Donde;

- P_0 : peso inicial
- P_f : peso final

c) Solubilidad

Para la determinación de la solubilidad de las películas se empleó el método descrito por Rubilar et Al. (2012), en el que se expresa como contenido de materia seca solubilizada.

El procedimiento consistió en la determinación del contenido inicial de materia seca, mediante secado en estufa de convección a 105°C durante 24 horas, hasta alcanzar un peso constante. Se determinó el peso del extracto seco y seguidamente se sumergió en 50 ml de agua destilada, para mantenerlos en agitación durante 24 horas. Una vez transcurrido este periodo de tiempo, se extrajo la muestra no disuelta mediante filtración y se volvió a someter a secado en estufa de convección a 105°C durante 24 horas, hasta alcanzar un peso constante. De este modo, se determinó el peso de la materia seca que no había sido solubilizada por el agua.

La solubilidad de las películas se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Solubilidad en agua (\%)} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100$$

Donde;

- M_i : extracto seco inicial
- M_f : extracto seco final

4.2.4 Caracterización de propiedades tecnológicas

a) Propiedades mecánicas

El proceso para la determinación de las propiedades mecánicas consta de dos etapas:

- **Preparación de la muestra:** una vez elaboradas las películas, se obtuvieron probetas rectangulares de 25.4mm de ancho y 75mm de largo, mediante el empleo de la cizalla mecánica. Tras la determinación de su espesor y el peso, las probetas se conservaron en cabinas aisladas al 57% de humedad relativa, mediante sales de bromuro de sodio (NaBr). Las probetas se conservaron en el interior de la campana por un periodo mínimo de 3 días, con el objetivo de equilibrar la humedad de las mismas.
- **Realización del ensayo:** el ensayo se realizó mediante el empleo del texturómetro Aname Texture Analyser TA.XT.plus, que cuenta con una célula de carga de 25 kg (0.0098 N de resolución y 0.025% de precisión). Para la determinación de las propiedades mecánicas se siguió el método descrito por Osés (2006).

El ensayo consistió en sujetar las probetas en las pinzas del equipo, las cuales se preajustaron a una distancia de 50mm. La velocidad del cabezal durante el ensayo se definió en 0.8 mm/seg. A partir de los datos de las dimensiones y el peso tomados para cada probeta y los datos de fuerza máxima de rotura y elongación máxima obtenidos durante el ensayo, se realizaron los siguientes cálculos, con el objetivo de determinar la tensión máxima de rotura y la elongación relativa para cada una de las probetas.

$$\text{Sección (mm}^2\text{)} = \text{anchura} \cdot \text{espesor}$$

$$\text{Área (mm}^2\text{)} = \text{anchura} \cdot \text{longitud}$$

$$\text{Gramaje } \left(\frac{\text{g}}{\text{m}^2}\right) = (\text{peso}/\text{área}) \cdot 10^6$$

$$\text{Tensión máxima de rotura } \left(\frac{\text{N}}{\text{mm}^2}\right) = \frac{\text{Fuerza máxima de rotura}}{\text{Sección}}$$

$$\text{Elongación relativa (\%)} = \frac{\text{Elongación máxima}}{\text{Separación de pinzas}} \cdot 100$$



Figura 7. Preparación de probetas, conservación y realización del ensayo de tracción

b) Propiedades de barrera

La determinación de las propiedades barrera de las películas elaboradas se realizó mediante un ensayo de permeabilidad al vapor de agua (Water Vapor Permeability, WVP por sus siglas en inglés). Al igual que en la determinación de las propiedades mecánicas, el proceso para la determinación de la permeabilidad al vapor de agua consta de dos etapas:

- **Preparación de la muestra:** consistió en obtener discos de 8 cm de diámetro, el tamaño de las células de metacrilato empleadas para el ensayo. Una vez determinado el espesor de la muestra, se procedió a la preparación de las células.

Para ello, se introdujeron en el interior de la célula 6 ml de agua destilada, y posteriormente se colocó el disco de film sobre esta. Seguidamente se selló la célula,

mediante la colocación de la tapa de metacrilato, la que iba atornillada a la base, y mediante el empleo de silicona. De este modo, se obtuvo un sistema hermético en el interior de la célula. Se prepararon cinco células para cada formulación.

Por otro lado, previamente a la realización del ensayo, fue necesario acondicionar la cámara, secando las sales de sílica gel a 140°C durante 4 horas. Una vez completado el secado, se colocaron las sales en el interior de la cámara, y se equilibró la humedad de esta durante 12 horas empleando el ventilador a una velocidad de 150 m/min, hasta alcanzar una humedad relativa del 0%.

- **Realización del ensayo:** el ensayo se realizó mediante método gravimétrico, descrito por Osés et al. (2006) y basado en las leyes de Fick y Henry.

El ensayo consistió en la toma de 10 medidas del peso de cada célula preparada, incluyendo la medida en el momento inicial. Tras la primera medida se colocaron las células en el interior de la cámara y se activó el ventilador a una velocidad de 150 m/min, lo que garantiza la homogeneización de la humedad relativa en todos los puntos de la cámara. Una vez introducidas las células, se tomaron medidas del peso de cada célula con una frecuencia de 2 horas, de tal forma que se obtuvieron 5 datos para cada célula.

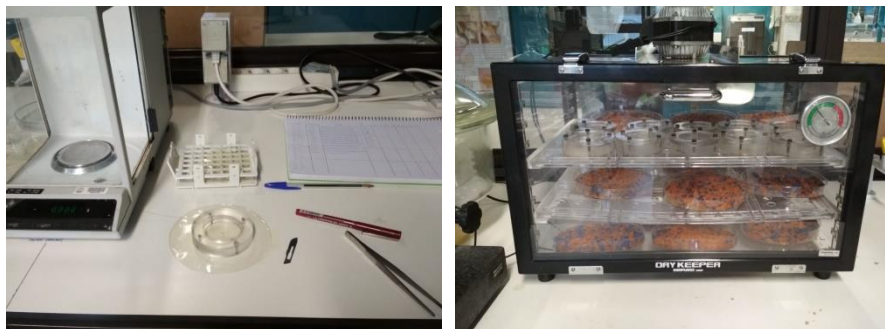


Figura 8. Preparación de muestras y realización del ensayo de WVP

Una vez concluido el ensayo de permeabilidad al vapor de agua se procedió al cálculo de la permeabilidad de cada film, siguiendo las siguientes ecuaciones:

$$WVP = \text{permeación} \cdot \text{espesor} = \frac{g \cdot mm}{KPa \cdot h \cdot m^2}$$

$$\text{Permeación} = \frac{WVTR}{PA1 - PA2} = \frac{g}{KPa \cdot h \cdot m^2}$$

Dónde;

- PA1: presión en la superficie interior del film (Pa)
- PA2: presión atmosférica total del sistema (Pa)
- WVTR: flujo de agua en la capa de aire (moles/m²s)

4.2.5 Método de análisis estadístico

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos fueron analizados mediante el programa informático IBM SPSS Statistics 24. Los análisis realizados consistieron en el estudio de las propiedades mecánicas, solubilidad, humedad y barrera al vapor de agua de las diferentes formulaciones de películas, empleando la concentración de extracto de hinojo marino como factor de estudio. El estudio de las diferencias significativas en los datos obtenidos se realizó mediante análisis ANOVA y análisis de Tukey para un nivel de confianza del 95%.

Por otro lado, el rechazo de datos anómalos se realizó mediante el método de contraste de Dixon (Q), que evalúa una medida sospechosa comparando la diferencia con la medida más próxima, con el intervalo de las medidas (Navarro, 2018). El cálculo del coeficiente Q se realiza de la siguiente manera:

$$Q = \frac{|valor\ sospechoso - valor\ más\ cercano|}{(valor\ mayor - valor\ menor)}$$

Los coeficientes Q calculados se contrastan con una serie de coeficientes tabulados, y el rechazo del valor sospechoso se realiza siempre y cuando el coeficiente calculado sea mayor que el tabulado. Los valores tabulados dependen del tamaño de población de muestras, y se recogen en la tabla 1.

Tabla 1: Coeficientes Q de Dixon para el rechazo de datos anómalos

Tamaño de población	Q _{90%}	Q _{95%}	Q _{99%}
4	0.765	0.829	0.926
5	0.642	0.710	0.821
6	0.560	0.625	0.740
7	0.507	0.568	0.680
8	0.468	0.526	0.634
9	0.437	0.493	0.598
10	0.412	0.466	0.568
11	0.392	0.444	0.542
12	0.376	0.426	0.522

Nota: Recuperada de Ggroups Data Science and Technology Marketplace

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

En general, tanto las películas de WPI como las de gelatina de pescado resultaron ser de superficie homogénea a simple vista, lisas y transparentes. Se ha podido comprobar que la adición de extracto de hinojo marino produce un cambio en la coloración de los films, especialmente en los de mayor concentración, produciendo colores que oscilan entre el amarillo y el verde.

Respecto a su textura, se aprecia que las películas elaboradas con gelatina de pescado tienden a tener una mayor adherencia que las elaboradas a partir de WPI, lo que implica mayores dificultades a la hora de desprender los films de las placas Petri. Es por ello que el procedimiento de elaboración de estas películas incluye un periodo de secado en campanas aisladas al 57% de humedad relativa, lo que produce la regularización del contenido en humedad de las mismas y consecuentemente reduce las dificultades a la hora de desprenderlas. A pesar de estas dificultades, la mayor adherencia de estas películas resulta una característica interesante a la hora de producir recubrimientos comestibles, ya que supone una adhesión de mayor intensidad entre el recubrimiento y el alimento.

Por otro lado, se ha podido establecer una relación entre la velocidad de agitación de las soluciones formadoras de films (FFS) y la cuantía de pequeñas burbujas de aire que quedaban atrapadas en el interior de los films tras la gelificación. Estas burbujas de aire suponen un inconveniente a la hora de formar los films, ya que comprometen su homogeneidad y por lo tanto no forman películas que cubran el alimento completamente. Por lo tanto, es importante tratar de reducir la formación de estas burbujas durante el proceso de elaboración de las películas comestibles.

5.2 PROPIEDADES FÍSICAS

5.2.1 ESPESOR

Las figuras 9 y 10 son representaciones gráficas de los resultados de la medida de espesor obtenidos para las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado y de WPI respectivamente. En estas se incluyen los grupos que se considera que estadísticamente muestran diferencias significativas.

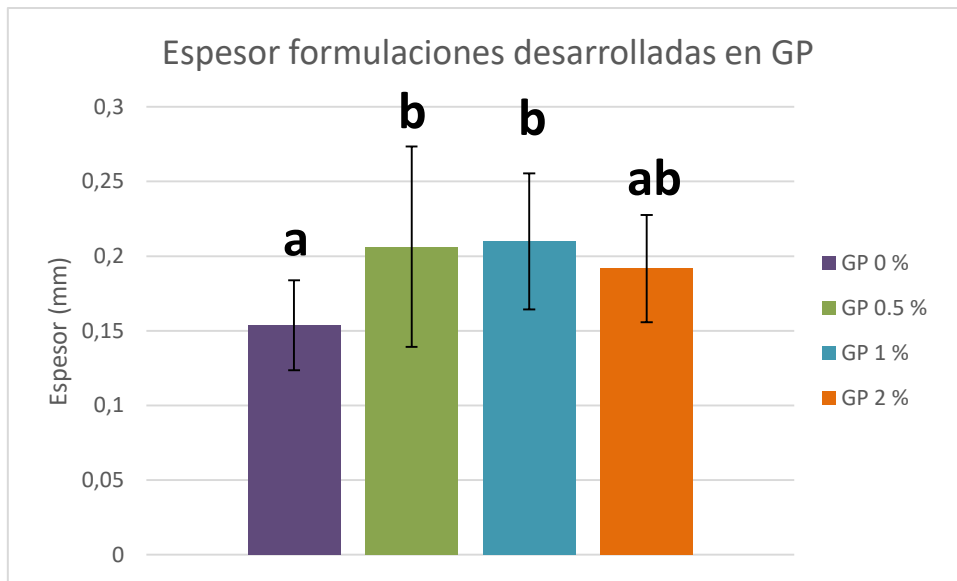


Figura 9. Espesor de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado

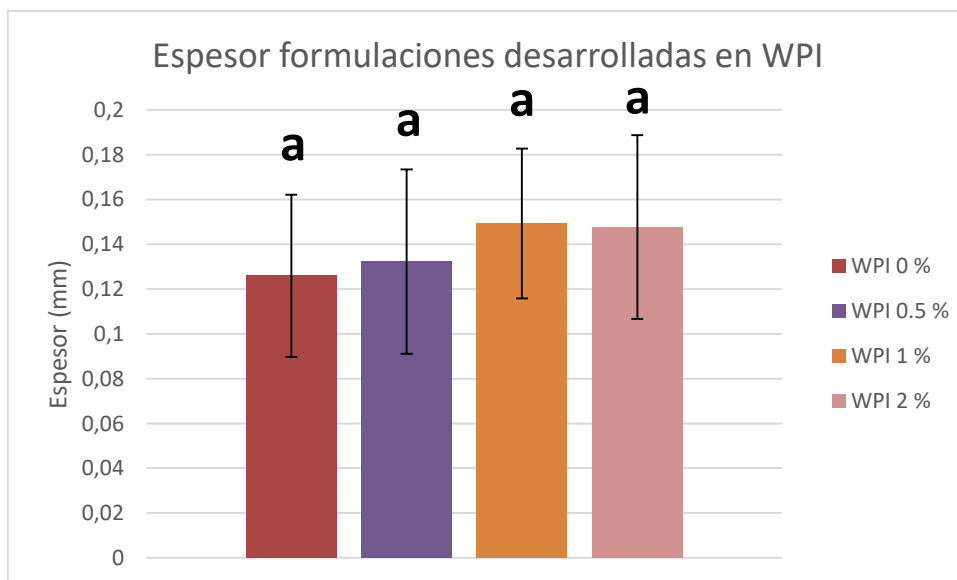


Figura 10. Espesor de las formulaciones desarrolladas a base de WPI

Tal y como se observa, se pueden definir dos tendencias: por un lado, el aumento de espesor respecto a la concentración de extracto de hinojo marino en las películas de WPI; por otro lado, la diferencia de espesor entre las películas de gelatina de pescado y las de WPI para una misma concentración, que es mayor en las películas de gelatina. Finalmente, es destacable que la adición del compuesto activo no produce diferencias significativas en los espesores de las películas de WPI, mientras que si las produce en las de gelatina de pescado, a pesar de que no se haya definido diferencias en la adición de distintas concentraciones.

A pesar de todo, cabe destacar la variabilidad de los resultados, debido a factores externos como el nivelado de la plataforma de la cámara climática empleada para la formación de las películas.

5.2.2 GRAMAJE

De la observación de las figuras 11 y 12 podemos evidenciar que la incorporación del compuesto activo produce un aumento significativo del gramaje en las películas desarrolladas sobre gelatina de pescado. En cambio, en el caso de las películas de WPI no se ha definido una relación entre la cantidad de extracto incorporada y el gramaje. Finalmente, se puede observar que los valores de gramaje son mayores en los films de gelatina de pescado.

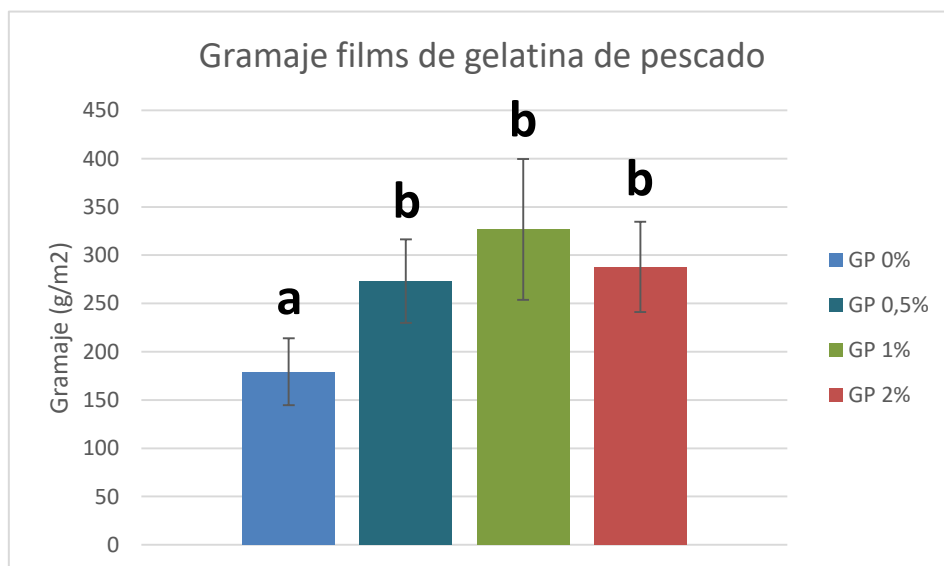


Figura 11. Gramaje de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado

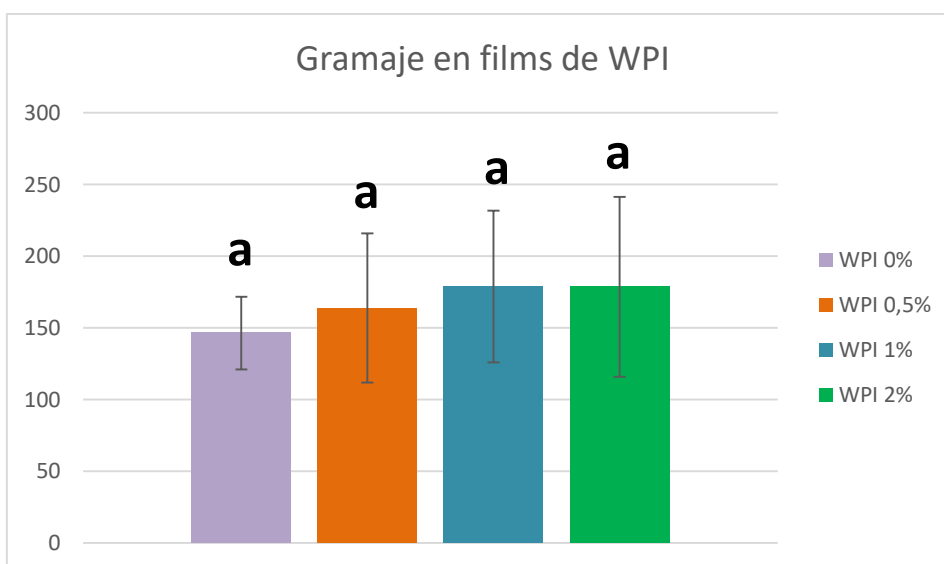


Figura 12. Gramaje de las formulaciones desarrolladas a base de WPI

5.2.3 HUMEDAD

En el caso de las películas desarrolladas sobre gelatina de pescado, en la figura 13 se puede observar que el contenido en humedad es directamente proporcional a la

concentración de extracto de hinojo marino incorporada. En este caso podríamos decir que el compuesto activo favorece la absorción de humedad por parte del film. En cambio, según muestra la figura 14, las películas elaboradas con WPI no tienen este comportamiento. De hecho, se aprecia una tendencia que indica que el contenido en humedad es inversamente proporcional al contenido en extracto. Finalmente, se puede observar que las formulaciones de WPI alcanzan mayores valores en contenido de humedad que las de gelatina de pescado.

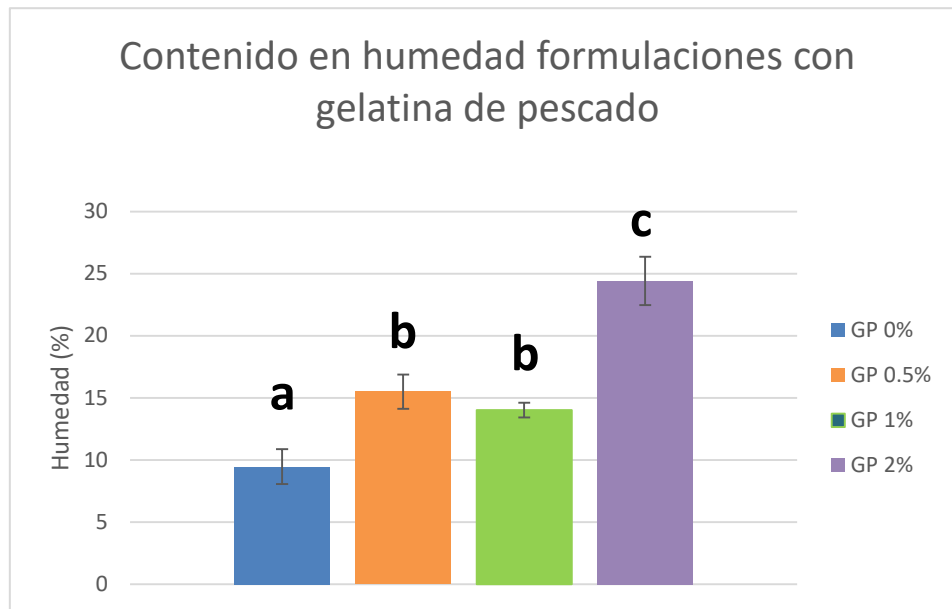


Figura 13. Contenido en humedad de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado

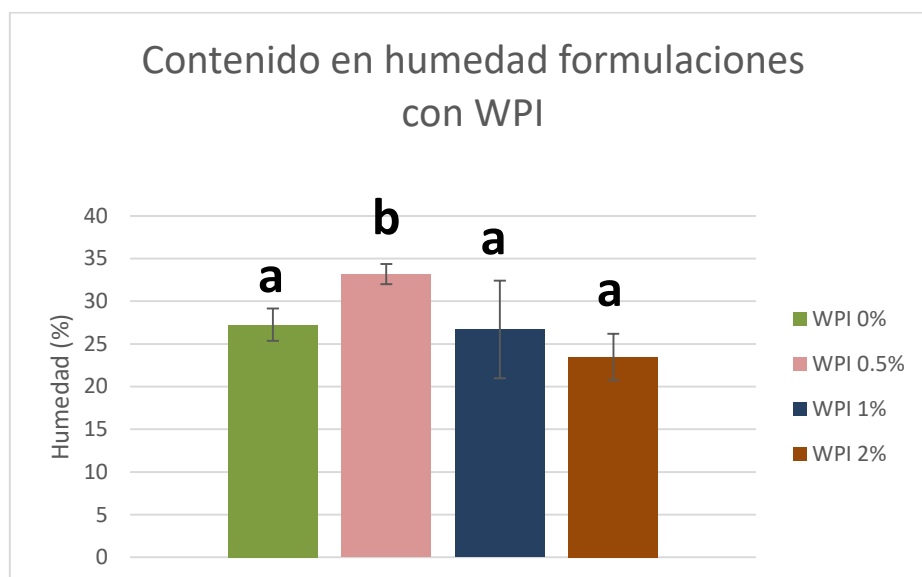


Figura 14. Contenido en humedad de las formulaciones desarrolladas a base de WPI

Estos resultados ponen en relieve las evidentes diferencias físico-químicas que existen entre ambas matrices. El mayor contenido en humedad en los films de WPI probablemente se deba a su naturaleza hidrófila (Ramos et al., 2012), que favorece la mayor absorción de humedad. En cambio, la gelatina de pescado es de carácter hidrófobo, debido a mayor

contenido en aminoácidos hidrófobos respecto a aquellos que contienen un grupo hidroxilo, como prolina o hidroxiprolina (Karim y Bhat, 2009), lo que perjudica la formación de puentes de hidrogeno entre las moléculas de la matriz y el agua.

5.2.4 SOLUBILIDAD

Observando las figuras 15 y 16 se puede comprobar que, tanto en los films de gelatina de pescado como en los de WPI, se produce un aumento de la solubilidad conforme se aumenta la cantidad de extracto de hinojo marino que se incorpora a la película. La solubilidad se define como contenido de materia seca solubilizada, lo que indica que la incorporación del extracto de hinojo marino aumenta el contenido de materia seca soluble en los films.

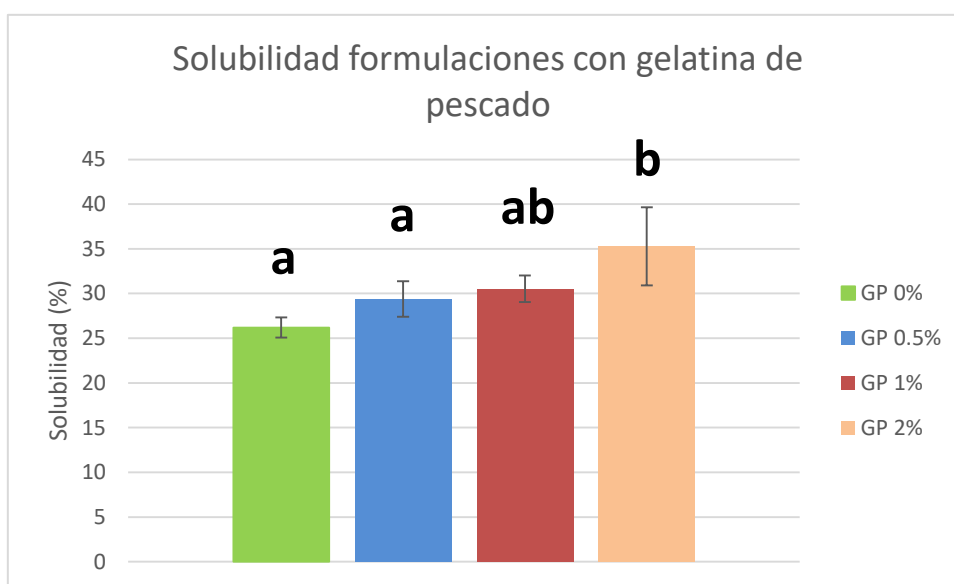


Figura 15. Capacidad de solubilidad de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado

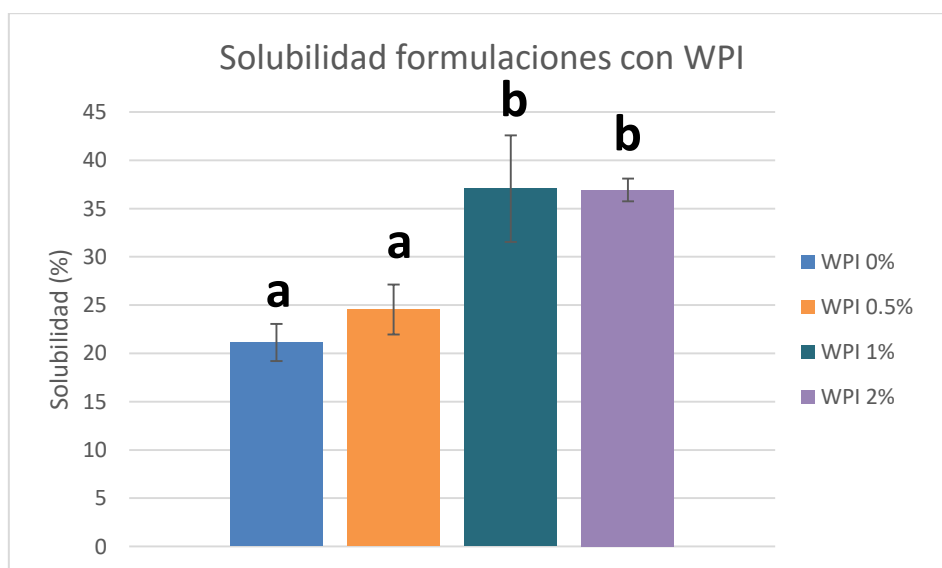


Figura 16. Capacidad de solubilidad de las formulaciones desarrolladas a base de WPI

Teniendo en cuenta que el compuesto activo proviene de material vegetal, se podría afirmar que la pérdida de materia seca se debe al elevado contenido en fibra soluble y polisacáridos estructurales de la planta. Además, la solubilidad es una propiedad importante que limita el uso que se le podría dar a la película, ya que es un factor clave en la resistencia a la humedad y en la permeabilidad al vapor de agua. Por lo tanto, es esencial el empleo de películas de baja solubilidad en alimentos que requieran una protección frente a la humedad (Montalvo et al., 2012).

5.3 PROPIEDADES TECNOLÓGICAS

5.3.1 PROPIEDADES MECÁNICAS

Las principales propiedades mecánicas estudiadas han sido la tensión máxima de rotura, la elongación relativa y el Módulo de Young, que estudia el comportamiento de las películas en la fase elástica del ensayo de tracción.

5.3.1.1 TENSIÓN MÁXIMA DE ROTURA

Tal y como se observa en las figuras 17 y 18, el comportamiento de cada una de las matrices es muy diferente, tanto en las formulaciones control (0% de concentración de extracto) como en aquellas que contienen extractos de hinojo marino incorporados.

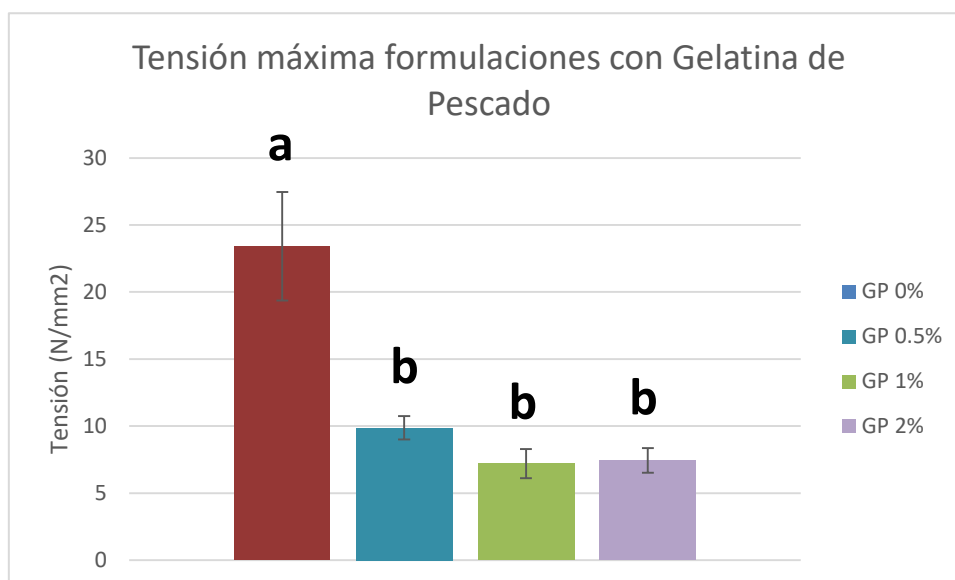


Figura 17. Tensión máxima de rotura de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado

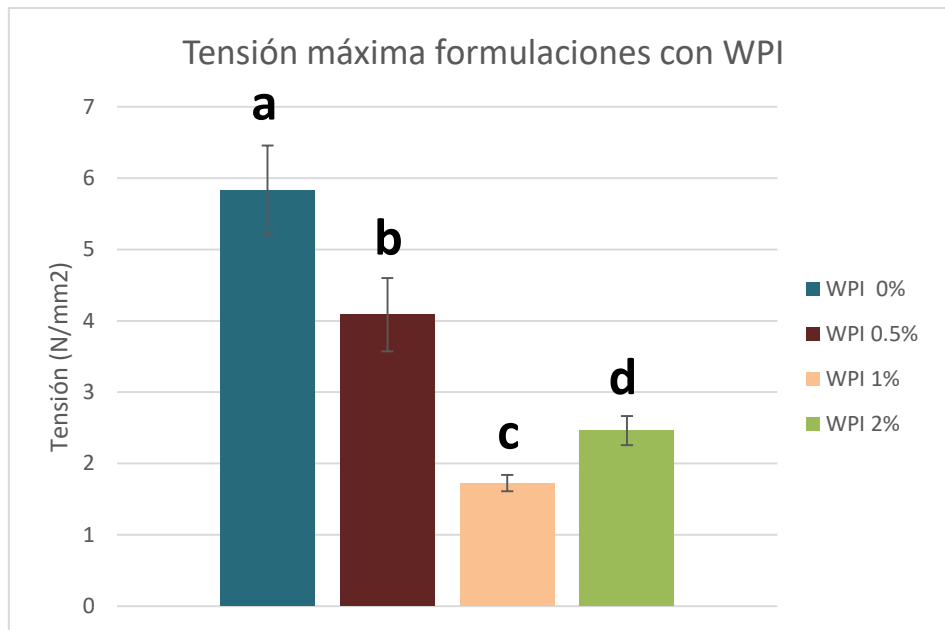


Figura 18. Tensión máxima de rotura de las formulaciones desarrolladas a base de WPI

En primer lugar, cabe destacar que las formulaciones desarrolladas en gelatina de pescado han alcanzado mayores tensiones máximas de rotura que las desarrolladas en WPI. Por otro lado, a pesar de que no se encuentren diferencias significativas entre las diferentes formulaciones de gelatina de pescado, se puede observar como la tensión máxima de rotura guarda una relación inversamente proporcional con la concentración de extracto incorporada en las formulaciones desarrolladas en WPI. En el caso de las formulaciones desarrolladas con gelatina de pescado, dado que no se han definido diferencias significativas entre las tres formulaciones que contienen extracto, se podría afirmar que el efecto de reducción de la tensión máxima de rotura se debe a la presencia de extracto en estas formulaciones, independientemente de su concentración.

Por lo tanto, se podría concluir que el compuesto activo tiene efectos plastificantes sobre las películas. Tal y como se ha explicado previamente, los plastificantes actúan reduciendo las zonas cristalinas de las películas y aumentando las amorfas, repercutiendo así en las propiedades mecánicas con aumentos en la flexibilidad y reducciones en la rigidez (Ramos et al., 2012). De este modo, el compuesto activo genera menores tensiones máximas de rotura cuanto mayor es la concentración en la que se encuentra. Además, la adición del mismo favorece la retención de agua en las películas, la que también actúa como plastificante.

5.3.1.2 ELONGACIÓN RELATIVA

Observando las figuras 19 y 20 podemos percibir que los films desarrollados con gelatina de pescado alcanzan mayores elongaciones relativas que los de WPI. Por otro lado, tanto en el primer caso como en el segundo se puede advertir una tendencia al aumento de los niveles de elongación conforme aumenta la concentración de compuesto activo, a pesar de estadísticamente no se encuentren diferencias significativas entre las distintas formulaciones, especialmente para las de WPI.

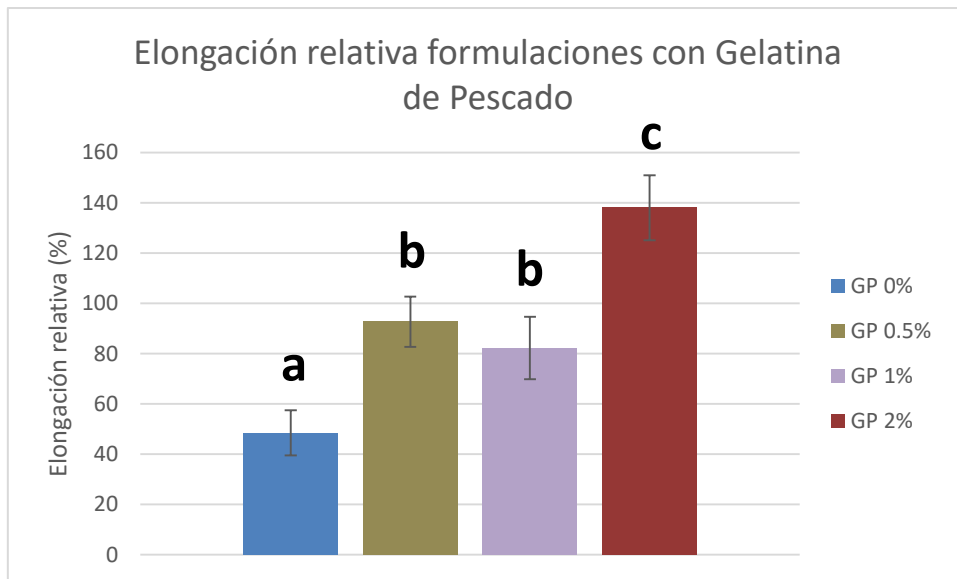


Figura 19. Elongación relativa de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado

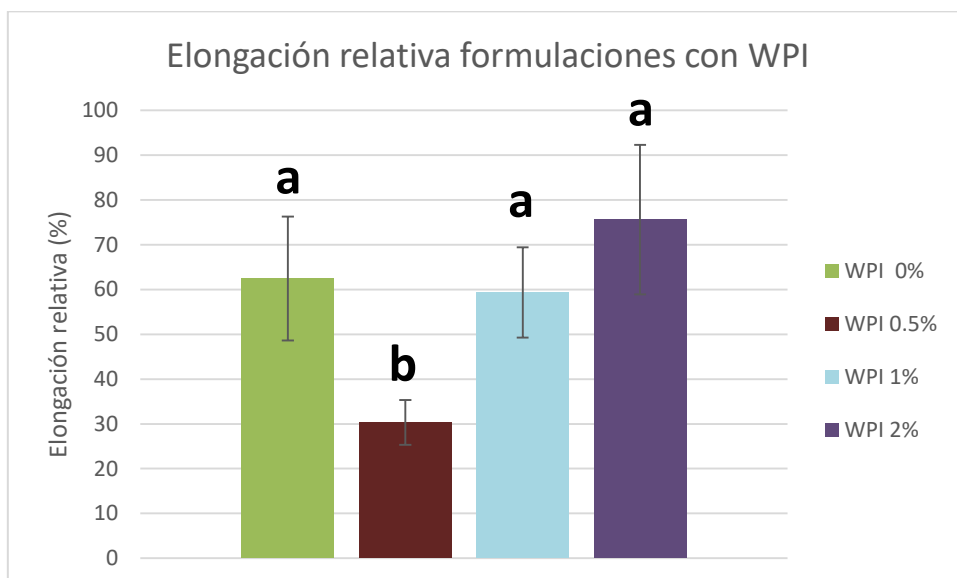


Figura 20. Elongación relativa de las formulaciones desarrolladas en base a WPI

La evidencia de que la elongación relativa aumenta conforme a la concentración de extracto de hinojo marino incorporada junto a la concluida de los resultados de tensión máxima de rotura, demuestra que el compuesto activo actúa como un plastificante cuando se suspende en soluciones formadoras de films. Tal y como afirman Ramos et al. (2012), los plastificantes tienen efectos directos sobre las propiedades mecánicas de las películas, reduciendo la tensión máxima de rotura y aumentando la elongación relativa de estos.

Una de las razones que podrían justificar que el extracto de hinojo marino actúe como plastificante es el hecho de que haya sido sometido a liofilización. Al fin y al cabo, mediante este proceso se obtienen productos de muy baja actividad de agua (a_w) y contenido en humedad, lo que favorece la absorción de humedad en cuanto se expone a ambientes con elevada humedad relativa. Por lo tanto, la adición de este compuesto a las soluciones

formadoras de films podría facilitar la capacidad de retener agua durante la gelificación y formación de las películas, y por lo tanto, generar films y recubrimientos de mayor plasticidad.

5.3.1.3 MÓDULO DE YOUNG

Tras el estudio de las figuras 21 y 22 podemos observar que el módulo de Young tiende a descender conforme aumenta la concentración de compuesto activo, tanto en las películas desarrolladas con gelatina de pescado como en las de WPI. Además, se puede comprobar que las películas desarrolladas a base de gelatina de pescado alcanzan mayores valores que las de WPI.

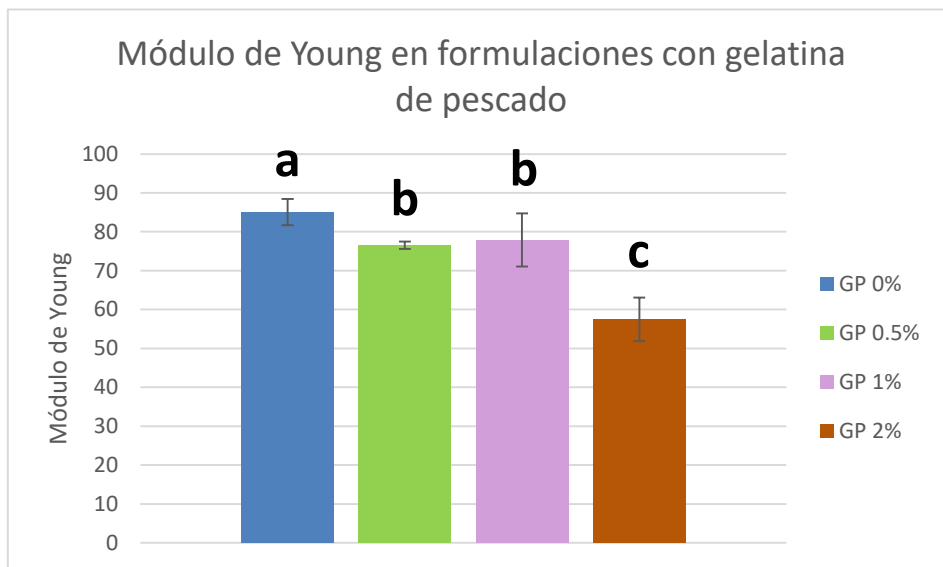


Figura 21. Módulo de Young de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado

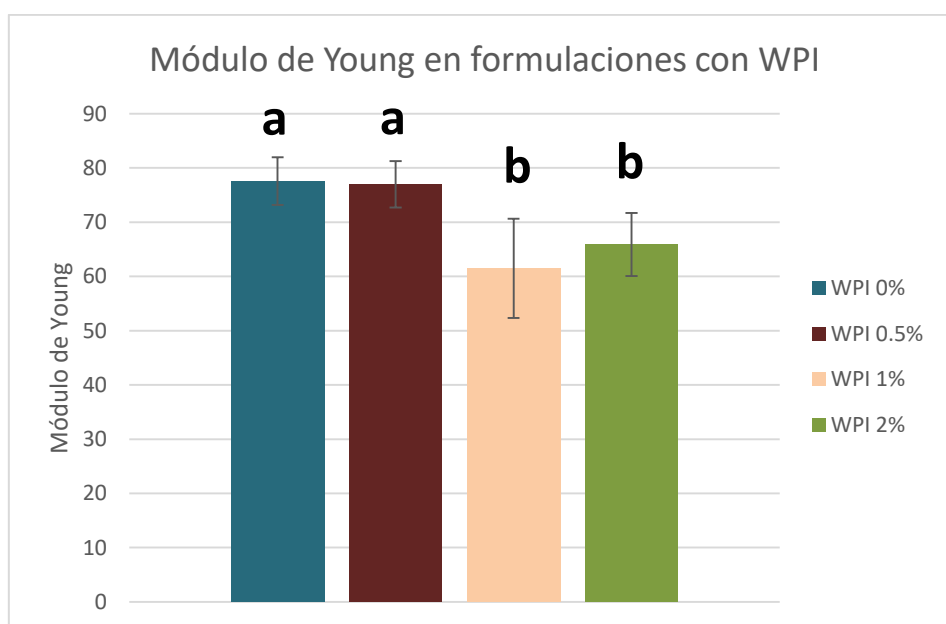


Figura 22. Módulo de Young de las formulaciones desarrolladas a base de WPI

El descenso del módulo de Young respecto a la concentración de extracto incorporada indica que cuanto mayor es el contenido de compuesto activo, menor es la tensión necesaria a aplicar para alcanzar una misma deformación. Es decir, se aprecia una disminución en la resistencia del film a la deformación, por lo que se producen deformaciones sin necesidad de aplicar tanta fuerza. Una vez más, esta característica es indicativa de que el compuesto activo tiene efectos plastificantes sobre el film.

5.3.2 PROPIEDADES DE BARRERA

A partir de los datos de espesor de cada uno de los discos preparados para el ensayo de WVP y de la pérdida de peso de cada célula cuantificada durante la realización del ensayo se determina la permeabilidad al vapor de agua de cada una de las películas.

Las figuras 23 y 24 presentadas a continuación muestran una representación gráfica de los resultados obtenidos para cada una de las formulaciones. Tal y como se observa, las películas con matriz de gelatina de pescado ofrecen mejores propiedades de barrera que las desarrolladas con WPI, puesto que su permeabilidad al vapor de agua es menor, indiferentemente a la concentración de extracto incorporada en la formulación.

Curiosamente, tanto en las películas desarrolladas con gelatina de pescado como en las desarrolladas con WPI se aprecia una tendencia que indica que la permeabilidad es directamente proporcional a la concentración de extracto de hinojo marino incorporada, exceptuando las formulaciones con un 1% de extracto, las cuales han resultado tener propiedades de barrera más efectivas que las que incluyen 0,5 y 2% de extracto.

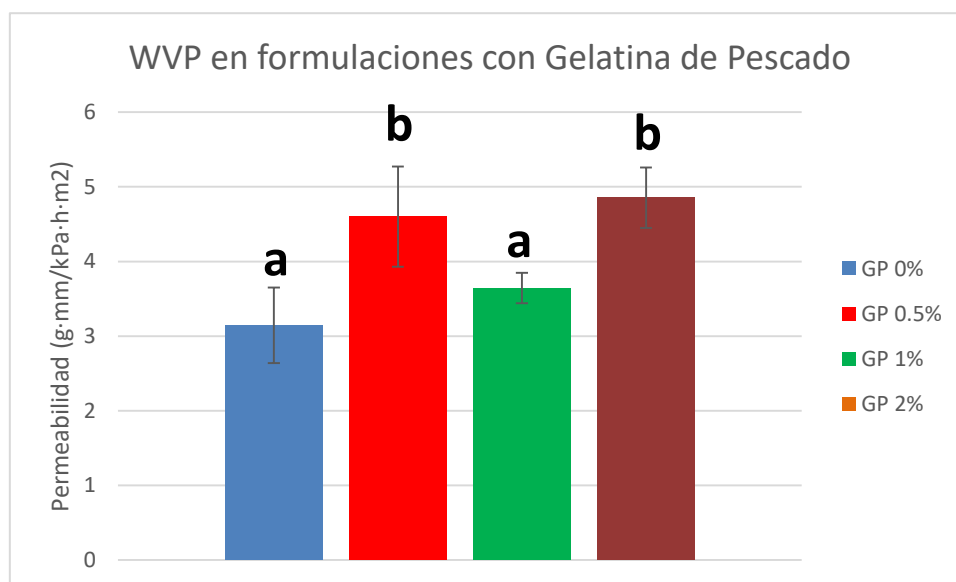


Figura 23. Permeabilidad al vapor de agua de las formulaciones desarrolladas a base de gelatina de pescado

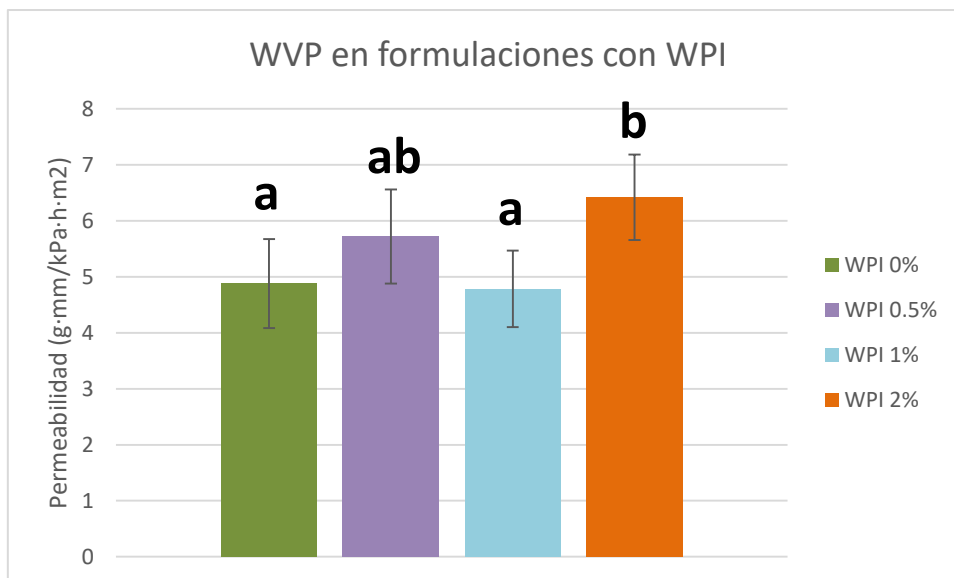


Figura 24. Permeabilidad al vapor de agua de las formulaciones desarrolladas a base de WPI

El hecho de que las películas desarrolladas a base de gelatina de pescado presentes mejores propiedades de barrera se debe a la naturaleza hidrófila de la proteína aislada de suero lácteo, la cual limita sus propiedades como barrera frente al vapor de agua (Ramos et al., 2012), mientras que la gelatina de pescado es de carácter hidrófobo, por lo que aporta mejores propiedades como barrera al vapor de agua (Karim y Bhat, 2008). A pesar de ello, el hecho de que los films y recubrimientos a base de WPI tengan una permeabilidad elevada al vapor de agua podría ser de interés para ciertas aplicaciones. Por ejemplo, en la prevención de la formación de condensados en las caras internas de los envases alimentarios, la cual es una causa potencial de proliferación microbiana (Ramos et al., 2012).

La tendencia ascendente de la permeabilidad conforme al aumento de concentración de extracto incorporada se justifica en base a la estructura química de las películas. La adición de mayores contenidos de extracto provoca que las moléculas del compuesto activo se organicen en la estructura interna del film, reduciendo de esta forma los puentes de hidrogeno y otros enlaces que se forman entre las moléculas que componen la matriz. De este modo, se reduce el grado de entrecruzamiento o crosslinking y aumenta la permeabilidad. Este comportamiento se asemeja a los efectos que produce la adición de plastificantes sobre las propiedades barrera de estos materiales (Ramos et al., 2012), por lo que se puede afirmar que el extracto actúa como un plastificante en los films. De hecho, se han observado diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones control y las que incluyen extractos de hinojo marino (exceptuando las que incluyen un 1%).

Respecto a las formulaciones al 1%, se podría hablar de una concentración de compuesto activo óptima, la cual podría aportar propiedades beneficiosas para las películas sin reducir sus propiedades de barrera frente al vapor de agua. En ese caso, se podría decir que la estructura química formada por la matriz y el compuesto activo es tal que no produce un aumento de la permeabilidad del film respecto al vapor de agua, debido a algún tipo de enlace o interacción que se produce entre las moléculas del compuesto activo o entre éstas y las moléculas que forman la matriz.

6. CONCLUSIONES

A modo de conclusión se puede afirmar que las propiedades físicas y tecnológicas de los films se ven afectadas por la adición de extractos de hinojo marino, debido principalmente a su carácter plastificante, y que los efectos que produce son dependientes a su vez de la matriz empleada para elaborar los films.

Los principales efectos de la adición del extracto son los siguientes:

- La presencia de extracto de hinojo marino en las formulaciones produce un aumento del espesor en películas de gelatina de pescado, mientras que no se han observado efectos sobre los films de WPI
- El aumento de la concentración de extracto de hinojo marino produce un aumento en el gramaje de los films de gelatina de pescado, mientras que no se han observado efectos sobre los films de WPI
- El aumento de la concentración de extracto de hinojo marino produce un aumento en el contenido en humedad de los films de gelatina de pescado, mientras que produce una reducción en películas desarrolladas con WPI
- La solubilidad de las películas elaboradas tanto a partir de gelatina de pescado como de WPI aumenta junto a la concentración de extracto de hinojo marino incorporado a las formulaciones
- El extracto de hinojo marino actúa como un plastificante en las formulaciones desarrolladas con ambas matrices, lo que produce una reducción de la tensión máxima de rotura y del módulo de Young, así como un aumento de la elongación relativa y la permeabilidad conforme aumenta la concentración de extracto
- La incorporación de extractos de hinojo marino a las películas produce aumentos en la permeabilidad al vapor de agua para ambas matrices.

El estudio de los efectos de la adición del mencionado compuesto a las películas de gelatina de pescado o WPI, tanto en las propiedades físicas, como en los efectos antimicrobiano y antioxidante, determinará el posible futuro empleo de estos materiales en la industria agroalimentaria, con el objetivo de reducir el empleo de plásticos de baja biodegradabilidad en el envasado de productos alimentarios.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arbeli, Z. (2009). Biodegradación de compuestos orgánicos persistentes (COP): I. El caso de los bifenilos policlorados (PCB). *Acta Biológica Colombiana*, 14, 57-88. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v14n1/v14n1a04.pdf>
- Bondet, V., Brand-Williams, W. y Berset, C. (1997). *Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH Free Radical Method*. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 30, 609-615. Recuperado de: <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0240>
- Carrión-Granda, X., Fernández-Pan, I., Iñarra, B., Mezquita, S., Rovira, J., y Maté, J. I. (2017). *Development of Whey Protein Isolate Films Incorporated with Rosemary Extracts to Improve the Microbiological Quality of Fresh Tuna*. *MOJ Food Processing & Technology*, 5 (2). DOI: 10.15406/mojfpt.2017.05.00123
- Carrión-Granda, X., Fernández-Pan, I., Rovira, J. y Maté, J. I. (2018). *Effect of Antimicrobial Edible Coatings and Modified Atmosphere Packaging on the Microbiological Quality of Cold Stored Hake (Merluccius merluccius) Fillets*. *Journal of Food Quality*, 2018. Recuperado de: <https://doi.org/10.1155/2018/6194906>
- Cortes Lainez, N. (2017). *Estudio y Evaluación de la Extracción de Compuestos Fenólicos de Hinojo Marino (Crithmum maritimum)* (Trabajo Fin de Grado). Universidad Pública de Navarra.
- Dehghani, S., Hosseini, S. V. y Regenstein, J. M. (2017). *Edible films and coatings in seafood preservation: A review*. *Food Chemistry*, 240, 505-513. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034>
- Dilkes-Hoffman, L. S., Lane, J. L., Grant, T., Pratt, S., Lant, P. A., y Laycock, B. (2018). *Environmental impact of biodegradable food packaging when considering food waste*. *Journal of Cleaner Production*, 180, 325-334. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.169>
- Domb, A. J., Kost, J. y Wiseman, D. M. (1998). *Handbook of biodegradable polymers*. Synechion Inc., Dallas, Texas, EE.UU.
- Garde Izquierdo, G. (2014). *Efecto de la Adición, Tipo y Concentración de Nanoarcilla sobre las Propiedades Mecánicas y de Barrera de Películas Biodegradables Basadas en Quitosano* (Trabajo Fin de Master). Universidad Pública de Navarra.
- Gómez-Guillén, M. C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B. y Montero, P. (2008). *Fish Gelatine: a Renewable Material for Developing Active Biodegradable Films*. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 3-16. DOI: 10.1016/j.tifs.2008.10.002
- Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., Gómez-Guillén, M. C., López-Caballero, M. E. y Montero, P. (2009). *Antimicrobial Activity of Composite Edible Films Based on Fish Gelatine and Chitosan Incorporated with Clove Essential Oil*. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18, 46-52. DOI: 10.1080/10498850802581252
- Grumezescu, A. M. (2016). *Nutraceuticals*. Bucarest, Rumanía. Academic Press.

Guilbert, S., Cuq, B. y Gontard, N. (1997). *Recent Innovations in Edible and Biodegradable Packaging Materials*. Food Additives & Contaminants, 14, 6-7. DOI: 10.1080/02652039709374585

Houta, O., Akrou, A., Najja, H., Neffati, M. y Amri, H. (2015). *Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil from Crithmum maritimum Cultivated in Tunisia*. Journal of essential Oil Bearing Plants, 18 (6), 1459-1466. DOI: 10.1080/0972060X.2013.764209

Irisarri, M. (2018). *Modificaciones en el proceso de elaboración de películas basadas en proteína aislada de suero lácteo*. Comunicación personal.

Karim, A. A. y Bhat, R. (2008). *Fish Gelatine: Properties, Challenges and Prospects as an Alternative to Mammalian Gelatines*. Food Hydrocolloids, 23, 563-576. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.002

Maté, J. (2016). *Envasado activo y modificación de la atmósfera interior del alimento*. Comunicación personal.

Meot-Duros, L. y Magné, C. (2007). *Antioxidant Activity and Phenol Content of Crithmum maritimum L. Leaves*. Plant Physiology and Biochemistry, 47, 37-41. DOI: 10.1016/j.plaphy.2008.09.006

Montalvo, C., López-Malo, A. y Palou, E. (2012). *Películas comestibles de proteína: características, propiedades y aplicaciones*. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, 6 (2), 32-46. Recuperado de: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Montalvo-et-al-2012.pdf>

Montignac, M. (-). *Historia de la alimentación del ser humano*. Recuperado de: <http://www.montignac.com/es/historia-de-la-alimentacion-del-ser-humano/>

Naranjo Vasco, J. M. (2010). *Producción de Polihidroxibutirato a partir de Residuos Agroindustriales* (Tesis doctoral). Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/2315/1/javiermauricionaranjovasco.2010.pdf>

Navarro Hudobro, M. (2018). *Método de contraste de Dixon (Q) para rechazo de datos anómalos*. Comunicación personal.

Organización de las Naciones Unidas (2017). *Una población en crecimiento*. Recuperado de: <http://www.un.org/es/sections/issues-depth/population/index.html>

Osés, J. (2006). *Desarrollo, caracterización y aplicaciones alimentarias de recubrimientos comestibles basados en proteína de suero de leche, almidón y goma de mezquite* (Tesis doctoral). Universidad Pública de Navarra

Otero, V., Fernández-Pan, I. y Maté, J. I. (2017). *Technological properties of antimicrobial edible films based on fish gelatine enriched with LAE (ethyl-N-dodecanoyl-L-arginate)*. Trabajo presentado en *International Conference Food Innova*, 3 de febrero de 2017, Cesena-Emilia-Romagna, Italia.

Pérez-Jiménez, J. y Saura-Calixto, F. (2015). *Macromolecular antioxidants or non-extractable polyphenols in fruit and vegetables: Intake in four European countries*. Food Research International, 74, 315-323. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.007>

Ramos, O. L., Fernandes, J. C., Silva, S. I., Pintado, M. E. y Malcata, X. (2012). *Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 52, 533-552. DOI: 10.1080/10408398.2010.500528

Raschka, S. (2014). *Dixon's Q test for Outlier identification*. Grroups Data Scienc and Technology Marketplace. Recuperado de: <http://www.grroups.com/blog/dixons-q-test-for-outlier-identification-a-questionable-practice>

Renna, M., Gonnella, M., Caretto, S., Mita, G. y Serio, F. (2016). *Sea Fennel (Crithmum maritimum L.): from underutilized crop to new dried product for food use*. Genetic Resources and Crop Evolution, 64, 205-216. DOI: 10.1007/s10722-016-0472-2

Rubilar, J. F., Cruz, R. M. S., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I. y Vieira, M. C. (2012). *Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract*. Journal of Food Engineering, 115, 466-474. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.07.009>

Sánchez-Ortega, I., García-Almendárez B. E., Santos-López, E. M., Amaro-Reyes, A., Barboza-Corona, J. E., y Regalado, C. (2014). *Antimicrobial Edible Films and Coatings for Meat and Meat Products Preservation*. The Scientific World Journal, 2014. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/248935>

Tongnuanchan, P., Benjakul, S., Prodpran, T., Pisuchpen, S. y Osako, K. (2015). *Mechanical, thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants*. Food Hydrocolloids, 56, 93-107. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.005>

8. ANEXOS

8.1 PROPIEDADES FÍSICAS

8.1.1 ESPESOR

Tabla 2. Medidas de espesores de las diferentes formulaciones

Formulación	GP 0%	WPI 0%	GP 0,5%	WPI 0,5%	GP 1%	WPI 1%	GP 2%	WPI 2%
1	0,181	0,094	0,230	0,096	0,265	0,166	0,241	0,132
2	0,150	0,110	0,090	0,125	0,259	0,122	0,223	0,125
3	0,188	0,142	0,280	0,171	0,183	0,103	0,154	0,106
4	0,211	0,118	0,156	0,206	0,182	0,108	0,132	0,132
5	0,145	0,207	0,287	0,103	0,239	0,118	0,174	0,177
6	0,134	0,171	0,265	0,130	0,257	0,135	0,213	0,166
7	0,128	0,161	0,212	0,167	0,194	0,150	0,218	0,134
8	0,123	0,100	0,267	0,184	0,207	0,151	0,219	0,110
9	0,183	0,096	0,255	0,132	0,190	0,205	0,182	0,097
10	0,114	0,106	0,141	0,077	0,247	0,172	0,161	0,156
Media	0,156	0,131	0,218	0,139	0,222	0,143	0,192	0,134
DesvStd	0,033	0,038	0,067	0,042	0,034	0,032	0,036	0,026

8.1.2 HUMEDAD

Tabla 3. Cálculo del contenido en humedad de las diferentes formulaciones

Formulación	Muestra	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Contenido en humedad (%)	Q dixon	Media	DesvStd
GP 0%	GP 0.1	0,454	0,413	9,097	0,804	9,464	1,416
	GP 0.2	0,404	0,359	11,216			
	GP 0.3	0,360	0,325	9,734			
	GP 0.4	0,393	0,294	-			
	GP 0.5	0,286	0,263	7,808			
GP 0.5%	GP 05.1	0,422	0,362	14,272		15,497	1,374
	GP 05.2	0,413	0,353	14,511			
	GP 05.3	0,320	0,263	17,656			
	GP 05.4	0,400	0,340	15,071			
	GP 05.5	0,423	0,355	15,976			
GP 1%	GP 1.1	0,288	0,249	13,676		14,015	0,589
	GP 1.2	0,277	0,240	13,218			
	GP 1.3	0,253	0,217	14,274			
	GP 1.4	0,237	0,202	14,757			
	GP 1.5	0,295	0,254	14,150			
GP 2%	GP 2.1	0,191	0,140	26,897		24,414	1,944
	GP 2.2	0,265	0,196	26,056			
	GP 2.3	0,400	0,306	23,657			
	GP 2.4	0,537	0,414	22,798			
	GP 2.5	0,510	0,394	22,662			
WPI 0%	WPI 0.1	0,402	0,305	24,042		27,238	1,891
	WPI 0.2	0,387	0,275	29,007			
	WPI 0.3	0,421	0,303	28,113			
	WPI 0.4	0,308	0,224	27,370			
	WPI 0.5	0,314	0,227	27,656			
WPI 0.5%	WPI 05.1	0,299	0,198	33,645		33,176	1,193
	WPI 05.2	0,297	0,197	33,771			
	WPI 05.3	0,266	0,174	34,300			
	WPI 05.4	0,336	0,226	32,937			
	WPI 05.5	0,331	0,227	31,227			
WPI 1%	WPI 1.1	0,448	0,341	23,963	0,935	26,675	5,716
	WPI 1.2	0,455	0,349	23,202			
	WPI 1.3	0,401	0,260	35,221			
	WPI 1.4	0,312	0,186	-			
	WPI 1.5	0,410	0,310	24,316			
WPI 2%	WPI 2.1	0,310	0,236	24,008		23,467	2,715
	WPI 2.2	0,347	0,269	22,587			
	WPI 2.3	0,363	0,286	20,993			
	WPI 2.4	0,348	0,251	27,902			
	WPI 2.5	0,476	0,372	21,844			

8.1.3 SOLUBILIDAD

Tabla 4. Cálculo de la capacidad de solubilidad de las distintas formulaciones

Formulación	Muestra	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Solubilidad (%)	Q dixon	Media	DesvStd
GP 0%	GP 0.1	0,413	0,298	27,817	0,787	26,194	1,133
	GP 0.2	0,359	0,266	25,878			
	GP 0.3	0,325	0,241	25,899			
	GP 0.4	0,294	0,249	-			
	GP 0.5	0,263	0,197	25,180			
GP 0.5%	GP 05.1	0,362	0,263	27,351		29,392	1,996
	GP 05.2	0,353	0,253	28,280			
	GP 05.3	0,263	0,179	32,030			
	GP 05.4	0,340	0,235	30,959			
	GP 05.5	0,355	0,254	28,338			
GP 1%	GP 1.1	0,249	0,177	28,790		30,527	1,495
	GP 1.2	0,240	0,170	29,255			
	GP 1.3	0,217	0,148	31,965			
	GP 1.4	0,202	0,140	30,605			
	GP 1.5	0,254	0,172	32,019			
GP 2%	GP 2.1	0,140	0,095	32,069		35,285	4,375
	GP 2.2	0,196	0,137	30,393			
	GP 2.3	0,306	0,172	34,306			
	GP 2.4	0,414	0,188	39,936			
	GP 2.5	0,394	0,238	39,721			
WPI 0%	WPI 0.1	0,305	0,231	24,148		21,130	1,926
	WPI 0.2	0,275	0,222	19,119			
	WPI 0.3	0,303	0,242	19,901			
	WPI 0.4	0,224	0,177	20,966			
	WPI 0.5	0,227	0,178	21,517			
WPI 0.5%	WPI 05.1	0,198	0,151	24,093		23,537	3,176
	WPI 05.2	0,197	0,158	19,491			
	WPI 05.3	0,174	0,138	21,089			
	WPI 05.4	0,226	0,165	26,640			
	WPI 05.5	0,227	0,167	26,374			
WPI 1%	WPI 1.1	0,341	0,210	38,468	0,811	37,064	5,513
	WPI 1.2	0,349	0,206	41,123			
	WPI 1.3	0,260	0,185	28,956			
	WPI 1.4	0,186	0,136	-			
	WPI 1.5	0,310	0,187	39,710			
WPI 2%	WPI 2.1	0,236	0,146	38,132		35,889	2,543
	WPI 2.2	0,269	0,172	36,100			
	WPI 2.3	0,286	0,178	37,744			
	WPI 2.4	0,251	0,171	31,726			
	WPI 2.5	0,372	0,239	35,743			

8.2 PROPIEDADES TECNOLÓGICAS

8.2.1 PROPIEDADES MECÁNICAS

Tabla 5. Cálculo de las propiedades mecánicas de la formulación de Gelatina de Pescado sin incorporación de extractos de hinojo

Probeta	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)	Peso (g)	Sección (mm ²)	Área (mm ²)	Gramaje (g/m ²)	Fuerza máxima de rotura (N)	Elongación máxima (mm)	Tensión máxima de rotura (N/mm ²)	Elongación relativa (%)	Módulo de Young (Pa)	Q Dixon
GP0.01	75,000	25,400	0,188	0,375	4,775	1905,000	196,693	103,810	18,267	21,739	36,534	87,749	
GP0.02	75,000	25,400	0,211	0,468	5,359	1905,000	245,722	100,955	17,787	18,837	35,574	87,490	
GP0.03	75,000	25,400	0,145	0,336	3,683	1905,000	176,273	77,123	19,815	20,940	39,630	86,610	
GP0.04	75,000	25,400	0,128	0,285	3,251	1905,000	149,396	84,278	27,407	25,922	54,814	85,864	
GP0.05	75,000	25,400	0,123	0,267	3,124	1905,000	140,105	83,726	29,219	26,799	58,438	85,266	
GP0.06	75,000	25,400	0,183	0,400	4,648	1905,000	210,079	81,831	23,687	17,605	47,374	84,403	
GP0.07	75,000	25,400	0,114	0,251	2,896	1905,000	131,759	74,334	27,895	25,671	55,790	84,629	
GP0.08	75,000	25,400	0,144	0,363	3,658	1905,000	190,604	108,334	27,675	29,619	55,350	86,778	
GP0.09	75,000	25,400	0,143	0,360	3,632	1905,000	188,871	97,322	26,311	26,794	52,622	85,800	
GP0.10	75,000	25,400	0,103	0,310	2,616	1905,000	162,940	52,658	43,007	20,127	-	76,034	0,547
Media	75,000	25,400	0,148	0,341	3,764	1905,000	179,244	86,437	26,107	23,405	48,458	85,062	
DesvStd	0,000	0,000	0,035	0,066	0,890	0,000	34,719	16,727	7,294	4,044	8,985	3,363	

Tabla 6. Cálculo de las propiedades mecánicas de la formulación de WPI sin incorporación de extractos de hinojo

Probeta	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)	Peso (g)	Sección (mm ²)	Área (mm ²)	Gramaje (g/m ²)	Fuerza máxima de rotura (N)	Elongación máxima (mm)	Tensión máxima de rotura (N/mm ²)	Elongación relativa (%)	Módulo de Young (Pa)	Q Dixon
WPIO.01	75,000	25,400	0,094	0,280	2,388	1905,000	147,087	16,144	31,627	6,762	63,254	80,371	
WPIO.02	75,000	25,400	0,110	0,265	2,794	1905,000	139,213	16,801	37,115	6,013	74,230	80,839	
WPIO.03	75,000	25,400	0,118	0,267	2,997	1905,000	140,000	18,825	11,947	6,281	-	80,421	0,499
WPIO.04	75,000	25,400	0,100	0,281	2,540	1905,000	147,559	15,308	27,451	6,027	54,902	76,194	
WPIO.05	75,000	25,400	0,096	0,250	2,438	1905,000	131,339	14,874	36,447	6,100	72,894	77,774	
WPIO.06	75,000	25,400	0,106	0,286	2,692	1905,000	150,341	14,789	34,967	5,493	69,934	77,544	
WPIO.07	75,000	25,400	0,102	0,269	2,591	1905,000	141,102	14,216	18,555	5,487	37,110	79,565	
WPIO.08	75,000	25,400	0,104	0,252	2,642	1905,000	132,178	18,334	7,591	6,940	-	78,564	0,639
WPIO.09	75,000	25,400	0,068	0,176	1,727	1905,000	92,231	9,465	18,415	5,480	-	64,428	0,449
WPIO.10	75,000	25,400	0,106	0,307	2,692	1905,000	161,312	14,003	22,767	5,201	45,534	77,091	
WPIO.11	75,000	25,400	0,129	0,368	3,277	1905,000	193,123	16,803	33,467	5,128	66,934	78,954	
WPIO.12	75,000	25,400	0,140	0,343	3,556	1905,000	179,843	17,849	38,675	5,019	77,350	79,160	
Media	75,000	25,400	0,106	0,279	2,695	1905,000	146,277	15,617	26,585	5,828	62,460	77,575	
DesvStd	0,000	0,000	0,018	0,048	0,459	0,000	25,271	2,514	10,527	0,629	13,838	4,379	

Tabla 7. Cálculo de las propiedades mecánicas de la formulación de gelatina de pescado con un 0.5% de extracto incorporado

Probeta	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)	Peso (g)	Sección (mm ²)	Área (mm ²)	Gramaje (g/m ²)	Fuerza máxima de rotura (N)	Elongación máxima (mm)	Tensión máxima de rotura (N/mm ²)	Elongación relativa (%)	Módulo de Young (Pa)	Q Dixon
GP05.01	75,000	25,400	0,193	0,470	4,902	1905,000	246,614	44,840	46,239	9,147	92,478	75,461	
GP05.02	75,000	25,400	0,212	0,574	5,385	1905,000	301,155	55,426	50,295	10,293	100,590	76,977	
GP05.03	75,000	25,400	0,208	0,586	5,283	1905,000	307,664	52,306	48,047	9,900	96,094	78,099	
GP05.04	75,000	25,400	0,183	0,439	4,648	1905,000	230,499	50,700	49,827	10,908	99,654	76,993	
GP05.05	75,000	25,400	0,180	0,470	4,572	1905,000	246,719	44,229	43,963	9,674	87,926	76,053	
GP05.06	75,000	25,400	0,196	0,495	4,978	1905,000	259,843	53,315	52,239	10,709	104,478	75,103	
GP05.07	75,000	25,400	0,184	0,421	4,674	1905,000	220,787	62,084	49,919	-	99,838	77,098	0,455
GP05.08	75,000	25,400	0,141	0,389	3,581	1905,000	204,042	36,902	46,903	10,304	93,806	76,766	
GP05.09	75,000	25,400	0,147	0,388	3,734	1905,000	203,727	36,956	37,179	9,898	74,358	76,225	
GP05.10	75,000	25,400	0,146	0,383	3,708	1905,000	200,787	29,890	38,727	8,060	77,454	-	0,811
Media	75,000	25,400	0,179	0,461	4,547	1905,000	242,184	46,665	46,334	9,877	92,668	76,531	
DesvStd	0,000	0,000	0,026	0,073	0,657	0,000	38,527	9,928	5,013	0,865	10,026	0,919	

Tabla 8. Cálculo de las propiedades mecánicas de la formulación de WPI con un 0.5% de extracto incorporado

Probeta	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)	Peso (g)	Sección (mm ²)	Área (mm ²)	Gramaje (g/m ²)	Fuerza máxima de rotura (N)	Elongación máxima (mm)	Tensión máxima de rotura (N/mm ²)	Elongación relativa (%)	Módulo de Young (Pa)	Q Dixon
WPI05.01	75,000	25,400	0,096	0,234	2,438	1905,000	122,572	3,827	23,030	3,827	23,030	73,121	
WPI05.02	75,000	25,400	0,125	0,301	3,175	1905,000	158,110	4,681	45,230	4,681	-	80,650	0,607
WPI05.03	75,000	25,400	0,171	0,451	4,343	1905,000	236,693	4,639	33,454	4,639	33,454	81,682	
WPI05.04	75,000	25,400	0,206	0,411	5,232	1905,000	215,958	3,263	33,214	3,263	33,214	80,105	
WPI05.05	75,000	25,400	0,167	0,398	4,242	1905,000	208,766	4,216	29,990	4,216	29,990	80,633	
WPI05.06	75,000	25,400	0,184	0,420	4,674	1905,000	220,630	4,597	69,414	4,597	-	80,691	1,089
WPI05.07	75,000	25,400	0,132	0,282	3,353	1905,000	147,769	3,697	38,086	3,697	38,086	76,571	
WPI05.08	75,000	25,400	0,077	0,200	1,956	1905,000	104,934	4,558	77,534	4,558	-	73,161	0,539
WPI05.09	75,000	25,400	0,087	0,210	2,210	1905,000	110,131	3,631	27,910	3,631	27,910	70,116	
WPI05.10	75,000	25,400	0,109	0,213	2,769	1905,000	111,654	3,751	26,574	3,751	26,574	73,035	
Media	75,000	25,400	0,135	0,312	3,439	1905,000	163,722	4,086	40,444	4,086	30,323	76,977	
DesvStd	0,000	0,000	0,044	0,099	1,128	0,000	52,003	0,514	18,579	0,514	5,027	4,279	

Tabla 9. Cálculo de las propiedades mecánicas de la formulación de gelatina de pescado con un 1% de extracto incorporado

Probeta	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)	Peso (g)	Sección (mm ²)	Área (mm ²)	Gramaje (g/m ²)	Fuerza máxima de rotura (N)	Elongación máxima (mm)	Tensión máxima de rotura (N/mm ²)	Elongación relativa (%)	Módulo de Young (Pa)	Q Dixon
GP1.01	75,000	25,400	0,265	0,755	6,731	1905,000	396,378	7,158	96,358	7,158	96,358	81,623	
GP1.02	75,000	25,400	0,259	0,639	6,579	1905,000	335,643	6,007	79,038	6,007	79,038	83,070	
GP1.03	75,000	25,400	0,183	0,542	4,648	1905,000	284,672	9,491	88,230	9,491	88,230	72,100	
GP1.04	75,000	25,400	0,239	0,723	6,071	1905,000	379,580	6,637	80,582	6,637	80,582	81,987	
GP1.05	75,000	25,400	0,257	0,865	6,528	1905,000	454,068	7,542	98,470	7,542	98,470	82,315	
GP1.06	75,000	25,400	0,194	0,627	4,928	1905,000	328,924	7,310	72,046	7,310	72,046	78,417	
GP1.07	75,000	25,400	0,207	0,508	5,258	1905,000	266,667	8,441	88,758	8,441	88,758	80,274	
GP1.08	75,000	25,400	0,190	0,735	4,826	1905,000	385,722	6,031	58,214	6,031	58,214	81,414	
GP1.09	75,000	25,400	0,247	0,571	6,274	1905,000	299,685	6,794	85,246	6,794	85,246	84,097	
GP1.10	75,000	25,400	0,186	0,620	4,724	1905,000	325,249	6,661	62,934	6,661	62,934	79,370	
GP1.11	75,000	25,400	0,113	0,330	2,870	1905,000	173,123	15,580	89,438	-	89,438	67,825	0,405
GP1.12	75,000	25,400	0,147	0,550	3,734	1905,000	288,782	11,708	87,430	-	87,430	62,409	0,636
Media	75,000	25,400	0,207	0,622	5,264	1905,000	326,541	8,280	82,229	7,207	82,229	77,908	
DesvStd	0,000	0,000	0,048	0,139	1,213	0,000	72,968	2,813	12,416	1,079	12,416	6,814	

Tabla 10. Cálculo de las propiedades mecánicas de la formulación de WPI con un 1% de extracto incorporado

Probeta	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)	Peso (g)	Sección (mm ²)	Área (mm ²)	Gramaje (g/m ²)	Fuerza máxima de rotura (N)	Elongación máxima (mm)	Tensión máxima de rotura (N/mm ²)	Elongación relativa (%)	Módulo de Young (Pa)	Q Dixon
WPI1.01	75,000	25,400	0,103	0,307	2,616	1905,000	161,312	1,708	71,174	1,708	71,174	46,501	
WPI1.02	75,000	25,400	0,108	0,279	2,743	1905,000	146,509	1,526	67,582	1,526	67,582	-	0,679
WPI1.03	75,000	25,400	0,118	0,309	2,997	1905,000	161,942	1,819	103,102	1,819	-	47,779	0,435
WPI1.04	75,000	25,400	0,151	0,427	3,835	1905,000	224,042	1,639	16,150	1,639	-	55,653	0,579
WPI1.05	75,000	25,400	0,205	0,170	5,207	1905,000	89,291	1,907	76,750	1,907	76,750	63,905	
WPI1.06	75,000	25,400	0,172	0,450	4,369	1905,000	236,010	1,648	52,230	1,648	52,230	63,324	
WPI1.07	75,000	25,400	0,162	0,399	4,115	1905,000	209,186	1,686	47,822	1,686	47,822	62,226	
WPI1.08	75,000	25,400	0,199	0,522	5,055	1905,000	273,858	1,783	54,262	1,783	54,262	61,505	
WPI1.09	75,000	25,400	0,162	0,414	4,115	1905,000	217,270	1,804	48,398	1,804	48,398	58,047	
WPI1.10	75,000	25,400	0,098	0,257	2,489	1905,000	134,646	4,593	64,974	-	64,974	72,739	0,909
WPI1.11	75,000	25,400	0,097	0,296	2,464	1905,000	155,433	3,930	53,270	-	53,270	71,122	0,842
WPI1.12	75,000	25,400	0,096	0,258	2,438	1905,000	135,433	4,351	57,054	-	57,054	73,771	0,797
Media	75,000	25,400	0,139	0,341	3,537	1905,000	178,745	2,366	59,397	1,724	59,352	61,507	
DesvStd	0,000	0,000	0,041	0,101	1,034	0,000	52,898	1,174	20,658	0,115	10,075	9,157	

Tabla 11. Cálculo de las propiedades mecánicas de la formulación de gelatina de pescado con un 2% de extracto incorporado

Probeta	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)	Peso (g)	Sección (mm ²)	Área (mm ²)	Gramaje (g/m ²)	Fuerza máxima de rotura (N)	Elongación máxima (mm)	Tensión máxima de rotura (N/mm ²)	Elongación relativa (%)	Módulo de Young (Pa)	Q Dixon
GP2.01	75,000	25,400	0,241	0,610	6,121	1905,000	320,210	8,493	157,182	8,493	157,182	64,422	
GP2.02	75,000	25,400	0,223	0,651	5,664	1905,000	341,522	7,058	135,310	7,058	135,310	59,858	
GP2.03	75,000	25,400	0,154	0,406	3,912	1905,000	213,123	7,033	131,590	7,033	131,590	49,905	
GP2.04	75,000	25,400	0,132	0,396	3,353	1905,000	208,084	8,755	132,750	8,755	132,750	49,532	
GP2.05	75,000	25,400	0,174	0,560	4,420	1905,000	293,858	6,999	125,740	6,999	125,740	56,072	
GP2.06	75,000	25,400	0,213	0,562	5,410	1905,000	294,751	7,444	127,670	7,444	127,670	63,868	
GP2.07	75,000	25,400	0,218	0,569	5,537	1905,000	298,635	8,480	154,974	8,480	154,974	58,710	
GP2.08	75,000	25,400	0,219	0,562	5,563	1905,000	294,856	6,440	125,190	6,440	125,190	57,643	
GP2.09	75,000	25,400	0,125	0,618	3,175	1905,000	324,619	6,274	151,638	6,274	151,638	-	0,564
Media	75,000	25,400	0,189	0,548	4,795	1905,000	287,740	7,442	138,005	7,442	138,005	57,501	
DesvStd	0,000	0,000	0,043	0,089	1,099	0,000	46,738	0,921	12,938	0,921	12,938	5,590	

Tabla 12. Cálculo de las propiedades mecánicas de la formulación de WPI con un 2% de extracto incorporado

Probeta	Longitud (mm)	Anchura (mm)	Espesor (mm)	Peso (g)	Sección (mm ²)	Área (mm ²)	Gramaje (g/m ²)	Fuerza máxima de rotura (N)	Elongación máxima (mm)	Tensión máxima de rotura (N/mm ²)	Elongación relativa (%)	Módulo de Young (Pa)	Q Dixon
WPI2.01	75,000	25,400	0,132	0,313	3,353	1905,000	164,042	2,327	83,774	2,327	83,774	61,553	
WPI2.02	75,000	25,400	0,125	0,301	3,175	1905,000	158,058	2,610	91,878	2,610	91,878	62,792	
WPI2.03	75,000	25,400	0,106	0,258	2,692	1905,000	135,486	2,356	19,490	2,356	-	59,230	0,429
WPI2.04	75,000	25,400	0,132	0,300	3,353	1905,000	157,585	2,316	41,230	2,316	41,230	67,277	
WPI2.05	75,000	25,400	0,177	0,456	4,496	1905,000	239,580	2,309	15,454	2,309	-	69,754	0,509
WPI2.06	75,000	25,400	0,097	0,280	2,464	1905,000	146,824	2,913	78,174	2,913	78,174	62,350	
WPI2.07	75,000	25,400	0,156	0,425	3,962	1905,000	223,202	2,258	57,318	2,258	57,318	68,952	
WPI2.08	75,000	25,400	0,207	0,557	5,258	1905,000	292,546	2,572	74,654	2,572	74,654	74,599	
WPI2.09	75,000	25,400	0,230	0,521	5,842	1905,000	273,491	2,378	32,854	2,378	-	76,082	0,427
WPI2.10	75,000	25,400	0,101	0,259	2,565	1905,000	136,063	2,588	90,926	2,588	90,926	58,600	
WPI2.11	75,000	25,400	0,085	0,211	2,159	1905,000	110,499	3,687	75,342	-	75,342	68,151	0,562
WPI2.12	75,000	25,400	0,078	0,202	1,981	1905,000	105,932	3,828	87,054	-	87,054	61,304	0,602
Media	75,000	25,400	0,136	0,340	3,442	1905,000	178,609	2,679	62,346	2,463	75,594	65,887	
DesvStd	0,000	0,000	0,048	0,120	1,228	0,000	62,790	0,538	28,133	0,204	16,662	5,804	

8.2.2 PROPIEDADES DE BARRERA

Tabla 13. Cálculo de la permeabilidad al vapor de agua de las diferentes formulaciones

Formulación	Repetición	Permeabilidad (g·mm/kPa·h·m ²)	Media	DesvStd
GP 0%	1	3,069	3,464	0,840
	2	3,287		
	3	2,500		
	4	3,720		
	5	4,744		
GP 0,5%	1	3,775	4,599	0,671
	2	4,372		
	3	5,306		
	4	-		
	5	4,943		
GP 1%	1	3,494	3,643	0,205
	2	-		
	3	3,906		
	4	3,468		
	5	3,705		
GP 2%	1	4,273	4,852	0,405
	2	-		
	3	4,869		
	4	5,123		
	5	5,141		
WPI 0%	1	2,980	4,403	1,149
	2	5,269		
	3	-		
	4	3,964		
	5	5,399		
WPI 0,5%	1	6,067	5,717	0,840
	2	5,978		
	3	-		
	4	6,345		
	5	4,479		
WPI 1%	1	4,173	4,785	0,681
	2	4,354		
	3	4,402		
	4	5,753		
	5	5,244		
WPI 2%	1	5,514	6,418	0,763
	2	6,898		
	3	-		
	4	7,181		
	5	6,080		