



Evaluación del efecto funcional antimicrobiano de extracto liofilizado de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) como ingrediente de una película comestible en carne molida para hamburguesas

Paucar Paucar, Jefferson Paúl

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Ing. Larrea Cedeño, Gabriel Alejandro Ms.c

15 de agosto de 2022



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Certificación:

Certifico que el trabajo de integración curricular: “Evaluación del efecto funcional antimicrobiano de extracto liofilizado de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) como ingrediente de una película comestible en carne molida para hamburguesas” fue realizado por: Paucar Paucar, Jefferson Paúl; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 15 de agosto de 2022



.....
Ing. Larrea Cedeño, Gabriel Alejandro Ms.c
C. C.: 1709635039

Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos

Paucar Paucar Jefferson Paúl_UTIC.docx

Scanned on: 14:31 August 11, 2022 UTC



| | |
|--------------------------|------|
| Identical Words | 893 |
| Words with Minor Changes | 0 |
| Paraphrased Words | 539 |
| Omitted Words | 5569 |



Website | Education | Businesses



Firmado digitalmente por:
GABRIEL
ALEJANDRO LARREA
CEDENO

Ing. Gabriel Alejandro Larrea Cedeño, Mgt.

Director – Tutor del trabajo.



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Paucar Paucar, Jefferson Paúl**, con cédula de ciudadanía No. 1725674285, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Evaluación del efecto funcional antimicrobiano de extracto liofilizado de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) como ingrediente de una película comestible en carne molida para hamburguesas** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 15 de agosto de 2022



.....
Paucar Paucar, Jefferson Paúl
C.C.: 1725674285



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo **Paucar Paucar Jefferson Paúl**, con cédula de ciudadanía No. 1725674285 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Evaluación del efecto funcional antimicrobiano de extracto liofilizado de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) como ingrediente de una película comestible en carne molida para hamburguesas** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios es de mi responsabilidad.

Sangolquí, 15 de agosto de 2022

Paucar Paucar, Jefferson Paúl

C.C.: 1725674285

Dedicatoria

Este proyecto investigativo lo dedico en primer lugar a Dios, por darme la fuerza necesaria y por estar siempre presente siendo mi guía espiritual, que me permitió llegar a este momento tan importante de mi vida profesional. Con infinito amor a mis padres Gustavo y Piedad, quienes con su paciencia, amor y sabiduría han sabido guiar mi camino, brindándome durante todo este tiempo su apoyo incondicional; por sus consejos, enseñanzas y esfuerzo diario, que realizaron para poder brindarme una buena educación, y que gracias a ello hoy puedo culminar una etapa más de mi vida.

A mi abuelita Juana que desde el cielo podrá ver como la plantita que dejo sembrando con infinito amor y ternura, y la cuido con múltiples consejos y apoyo, empezó a dar los primeros frutos; es así que ella al ser una de mis motivaciones más importantes, me brindo el valor suficiente y necesario para culminar esto.

A mis hermanas Mayra y Belén, por su apoyo en este largo camino ayudándome a superar todas las dificultades y a seguir adelante cuando más lo necesitaba demostrándome su amor incondicional y siendo uno de los pilares más importantes de mi vida.

A mis amigos, pues alentaron en mí los mejores deseos de superación que hoy impulsan mi vida; en mi tendré todos los momentos felices y tristes en los que pude estar juntos a ustedes.

Agradecimiento

Hago público mi agradecimiento a Dios, por haberme concedido el valor para luchar en la vida sin importar las veces que caiga. A mis padres Gustavo y Piedad, por ser mis ejemplos a seguir y enseñarme a ser una persona fuerte ante las adversidades que la vida nos pone. A mis hermanas Mayra y Belén, al no dejarme caer ante los errores cometidos e indicarme que son enseñanzas a lo largo del camino de la vida. A mi abuelita Juana que desde el cielo nos sigue cuidando, te doy las gracias por haber dado la vida a uno de los pilares de mi existencia y más que nada por enseñarme que todo en la vida se puede lograr a base de esfuerzo y esperanza.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE y la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA – I, por brindarme los mejores recuerdos de mi vida estudiantil, a las enseñanzas impartidas en las aulas por los docentes y sus experiencias laborales expuestas.

A mi tutor el Ing. Gabriel Larrea Cedeño, por su guía, asesoría y importante control en el cumplimiento de este proyecto investigativo. En especial un eterno agradecimiento al profesor Ing. Juan Tigrero y a la Ing. Adriana Mariño, por la paciencia y sus consejos, que gracias a ellos logre cumplir mi meta.

A mi compañero Max, gracias por el apoyo que me has dado en cada etapa vivida y más que nada apoyarme en el desarrollo de este proyecto, en el cual demostraste que no solo eres mi compañero de la carrera de Ingeniería Agropecuaria, sino que eres mi amigo.

Y en general a las personas que han formado parte de mi vida en esta carrera. Dios los bendiga.

Índice de contenidos

| | |
|---|----|
| Carátula | 1 |
| Certificación | 2 |
| Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos..... | 3 |
| Responsabilidad de autoría..... | 4 |
| Autorización de publicación..... | 5 |
| Dedicatoria..... | 6 |
| Agradecimiento | 7 |
| Índice de contenidos | 8 |
| Índice de tablas..... | 12 |
| Índice de figuras..... | 15 |
| Resumen | 17 |
| Abstract..... | 18 |
| Capítulo I | 19 |
| Introducción | 19 |
| Antecedentes | 19 |
| Justificación..... | 20 |
| Objetivos | 22 |
| Objetivo general..... | 22 |
| Objetivos específicos | 22 |
| Hipótesis | 22 |
| Hipótesis nula (H_0) | 22 |
| Hipótesis alterna (H_i)..... | 23 |
| Variables | 23 |
| Capítulo II | 24 |

| | |
|---|----|
| Revisión de literatura | 24 |
| El clavo de olor..... | 24 |
| Antecedentes históricos | 25 |
| Taxonomía..... | 26 |
| Composición nutricional..... | 27 |
| Usos y propiedades | 29 |
| Aceite esencial de clavo de olor..... | 30 |
| Composición química del aceite esencial de clavo de olor..... | 31 |
| Métodos de extracción del aceite esencial del clavo de olor | 32 |
| Liofilización..... | 34 |
| Antecedentes históricos | 35 |
| Etapas del proceso de liofilización | 36 |
| Equipos de liofilización..... | 38 |
| Ventajas y desventajas del uso de la liofilización | 38 |
| Hamburguesa..... | 40 |
| Carne molida para hamburguesas | 41 |
| Ingredientes y preparación..... | 43 |
| Películas y recubrimientos comestibles | 44 |
| Composición de las películas comestibles | 45 |
| Requerimientos funcionales de las películas comestibles | 49 |
| Capítulo III | 50 |
| Materiales y métodos..... | 50 |
| Ubicación del lugar de investigación..... | 50 |
| Materiales..... | 51 |
| Extracción del aceite esencial de clavo de olor por arrastre de vapor | 51 |
| Liofilización del extracto de clavo de olor | 52 |

| | |
|---|----|
| Preparación de las películas comestibles | 52 |
| Preparación de las hamburguesas..... | 53 |
| Preparación de las unidades experimentales..... | 54 |
| Evaluación de la variable física correspondiente a pérdida de peso | 54 |
| Evaluación de la variable física correspondiente a la textura | 55 |
| Evaluación de la variable química correspondiente al pH | 55 |
| Evaluación de la variable química de contenido de ácido láctico | 56 |
| Evaluación de la variable microbiológica (inhibición bacteriana) | 56 |
| Evaluación organoléptica de los tratamientos | 57 |
| Métodos | 58 |
| Extracción del aceite esencial de clavo de olor por arrastre de vapor | 58 |
| Liofilización del extracto de clavo de olor | 59 |
| Preparación de las películas comestibles | 60 |
| Preparación de las hamburguesas..... | 62 |
| Preparación de las unidades experimentales..... | 63 |
| Evaluación de la variable física correspondiente a pérdida de peso | 64 |
| Evaluación de la variable física correspondiente a la textura | 64 |
| Evaluación de la variable química correspondiente al pH | 65 |
| Evaluación de la variable química de contenido de ácido láctico | 65 |
| Evaluación de la variable microbiológica (inhibición bacteriana) | 67 |
| Evaluación organoléptica de los tratamientos | 69 |
| Evaluación de la vida útil de la carne molida bajo refrigeración..... | 70 |
| Diseño experimental..... | 71 |
| Variables de respuesta físico-químicas..... | 71 |
| Variable de respuesta microbiológica..... | 73 |
| Evaluación organoléptica | 74 |

| | |
|--|-----|
| | 11 |
| Capítulo IV | 76 |
| Resultados y discusión | 76 |
| Extracción y liofilización del aceite esencial de clavo de olor..... | 76 |
| Evaluación de los parámetros físicos | 77 |
| Porcentaje de pérdida de peso | 77 |
| Textura de las unidades experimentales (UE)..... | 82 |
| Evaluación de los parámetros químicos | 86 |
| pH de las unidades experimentales | 86 |
| Contenido de ácido láctico (%)..... | 90 |
| Coeficiente de correlación | 94 |
| Evaluación antimicrobiana de las películas comestibles | 97 |
| Halo de inhibición (antibiograma)..... | 97 |
| Vida útil de la carne molida bajo refrigeración | 100 |
| Resumen de los mejores tratamientos | 101 |
| Evaluación sensorial de las unidades experimentales | 102 |
| Cata de las hamburguesas | 102 |
| Discusión..... | 106 |
| Capítulo V | 109 |
| Conclusiones y recomendaciones..... | 109 |
| Conclusiones..... | 109 |
| Recomendaciones..... | 112 |
| Bibliografía..... | 114 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1 Taxonomía de <i>Syzygium aromaticum</i> | 27 |
| Tabla 2 Composición nutricional del clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>) | 28 |
| Tabla 3 Principales aplicaciones del clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>) | 29 |
| Tabla 4 Principales componentes químicos de aceites esenciales con propiedades antimicrobianas | 31 |
| Tabla 5 Principales especificaciones de los equipos de liofilización..... | 38 |
| Tabla 6 Diferencias entre el secado convencional y la liofilización..... | 39 |
| Tabla 7 Formulación para sazonar carne molida para hamburguesas..... | 43 |
| Tabla 8 Materiales y equipos usados en la extracción del aceite esencial de clavo de olor ... | 51 |
| Tabla 9 Materiales y equipos usados en la liofilización del aceite esencial de clavo de olor .. | 52 |
| Tabla 10 Materiales y equipos usados para la elaboración de las películas comestibles..... | 52 |
| Tabla 11 Materiales y equipos usados para la elaboración de las hamburguesas | 53 |
| Tabla 12 Materiales y equipos usados para la preparación de las unidades experimentales..... | 54 |
| Tabla 13 Materiales y equipos usados para medir la pérdida de peso de las hamburguesas | 54 |
| Tabla 14 Materiales y equipos usados para medir la textura de las UE | 55 |
| Tabla 15 Materiales y equipos usados para medir el pH de las muestras..... | 55 |
| Tabla 16 Materiales y equipos usados para medir el % de ácido láctico de las muestras..... | 56 |
| Tabla 17 Materiales y equipos usados para medir el halo de inhibición de las películas comestibles | 56 |
| Tabla 18 Materiales y equipos usados para la evaluación organoléptica de las unidades experimentales..... | 57 |
| Tabla 19 Formulación de una película comestible previamente evaluada en el laboratorio ... | 60 |

| | |
|--|----|
| Tabla 20 Formulaci3n general para sazonar carne molida para hamburguesas | 62 |
| Tabla 21 Tratamientos en los que fueron evaluados sus variables f3sico-qu3micas | 71 |
| Tabla 22 Tratamientos en los que fueron evaluadas sus variables microbiol3gicas..... | 73 |
| Tabla 23 Tratamientos en los que se evalu3 su nivel organol3ptico | 75 |
| Tabla 24 Comparaci3n del porcentaje de extracci3n de aceite esencial de clavo por medio de dos t3cnicas..... | 76 |
| Tabla 25 Medidas resumen del porcentaje de p3rdida de peso de las UE al tercer, sexto y noveno d3a | 78 |
| Tabla 26 Supuesto de Normalidad para el porcentaje de p3rdida de peso de las UE..... | 79 |
| Tabla 27 Supuesto de Homocedasticidad para el porcentaje de p3rdida de peso de las UE | 79 |
| Tabla 28 An3lisis de varianza para el porcentaje de p3rdida de peso de las UE | 80 |
| Tabla 29 Prueba de comparaci3n de medias de Tukey para el porcentaje de p3rdida de peso de las UE..... | 80 |
| Tabla 30 Medidas resumen de la textura de las UE al tercer, sexto y noveno d3a | 82 |
| Tabla 31 Supuesto de Normalidad para la textura de las UE..... | 83 |
| Tabla 32 Supuesto de Homocedasticidad para la textura de las UE..... | 83 |
| Tabla 33 An3lisis de varianza para la textura en cm de las UE..... | 84 |
| Tabla 34 Prueba de comparaci3n de medias de Tukey para la textura (cm) de las UE | 85 |
| Tabla 35 Medidas resumen del pH de las UE al tercer, sexto y noveno d3a..... | 86 |
| Tabla 36 Supuesto de Normalidad para el pH de las UE | 87 |
| Tabla 37 Supuesto de Homocedasticidad para el pH de las UE | 88 |
| Tabla 38 An3lisis de varianza para el pH de las UE | 88 |
| Tabla 39 Prueba de comparaci3n de medias de Tukey para el pH de las UE..... | 89 |
| Tabla 40 Medidas resumen del contenido de 3cido l3ctico (%) en las UE al tercer, sexto y noveno d3a | 90 |

| | |
|---|-----|
| Tabla 41 Supuesto de Normalidad para el contenido de ácido láctico de las UE | 91 |
| Tabla 42 Supuesto de Homocedasticidad para el contenido de ácido láctico de las UE | 92 |
| Tabla 43 Análisis de varianza para el contenido de ácido láctico (%) de las UE | 92 |
| Tabla 44 Prueba de comparación de medias de Tukey para el contenido de ácido láctico de las UE..... | 93 |
| Tabla 45 Coeficiente de correlación de Pearson de las variables físico-químicas de respuesta | 95 |
| Tabla 46 Medidas resumen de los diámetros de los halos de inhibición de cada tratamiento | 97 |
| Tabla 47 Supuesto de Normalidad para los halos de inhibición de las películas comestibles | 98 |
| Tabla 48 Supuesto de Homocedasticidad para los halos de inhibición de las películas comestibles | 98 |
| Tabla 49 Análisis de varianza para el pH de las UE | 99 |
| Tabla 50 Prueba de comparación de medias de Tukey para el halo de inhibición | 99 |
| Tabla 51 Resumen de los tratamientos con las mejores variables de respuesta | 101 |
| Tabla 52 Medidas resumen del puntaje global de las fichas de evaluación sensorial | 103 |
| Tabla 53 Supuesto de Normalidad para los puntajes globales de las fichas de cata | 103 |
| Tabla 54 Supuesto de Homocedasticidad para los puntajes globales de las fichas de cata | 104 |
| Tabla 55 Análisis de varianza para los puntajes globales de las fichas de cata | 104 |
| Tabla 56 Prueba de comparación de medias de Tukey para el puntaje global de las fichas de cata | 105 |

Índice de figuras

| | |
|---|-----|
| Figura 1 Vista general de la planta de clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>) | 25 |
| Figura 2 Estructura de los principales componentes químicos del aceite esencial de clavo de olor | 32 |
| Figura 3 Método de destilación por arrastre de vapor..... | 33 |
| Figura 4 Vista general del proceso de liofilización | 37 |
| Figura 5 Vista satelital de la Ubicación Geográfica del IASA I | 50 |
| Figura 6 Esquema de determinación de acidez por titulación..... | 66 |
| Figura 7 Vida de anaquel para el parámetro Q10 de hamburguesas..... | 70 |
| Figura 8 Croquis experimental de la distribución de las unidades experimentales en el cuarto frío..... | 72 |
| Figura 9 Croquis experimental de la distribución de las unidades experimentales en las placas petri | 74 |
| Figura 10 Gráfico de puntos para las medias del porcentaje de pérdida de peso de las UE..... | 81 |
| Figura 11 Gráfico de puntos para las medias de la textura de las UE | 86 |
| Figura 12 Gráfico de puntos para las medias del pH de las UE..... | 90 |
| Figura 13 Gráfico de puntos para las medias del contenido de ácido láctico de las UE..... | 94 |
| Figura 14 Diagrama de dispersión para la correlación entre pérdida de peso y textura..... | 95 |
| Figura 15 Diagrama de dispersión para la correlación entre pérdida de peso y el contenido de ácido láctico | 96 |
| Figura 16 Diagrama de dispersión para la correlación entre el pH y el contenido de ácido láctico..... | 96 |
| Figura 17 Gráfico de barras para las medias de los halos de inhibición de las películas comestibles..... | 100 |

Figura 18 Gráfico de barras para el puntaje global de las fichas de cata..... 106

Resumen

En la actualidad ha surgido la necesidad de buscar compuestos naturales como una alternativa para la conservación de alimentos, en especial los que son de origen cárnico, debido a que múltiples sustancias que han sido utilizadas cotidianamente para su conservación han sido asociadas al origen de enfermedades e intoxicaciones. Considerando esto, en el presente estudio se evaluó el efecto funcional antimicrobiano de extracto liofilizado de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) como ingrediente de una película comestible en carne molida para hamburguesas. Se formuló las películas comestibles con diferentes concentraciones de extracto liofilizado de clavo, siendo: T1 (película comestible + 0% de liofilizado de clavo), T2 (película comestible + 2,5% de liofilizado de clavo), T3 (película comestible + 5,0% de liofilizado de clavo) y T4 (película comestible + 7,5% de liofilizado de clavo). La evaluación inició el día en el que las hamburguesas fueron recubiertas con las películas comestibles, en el cual se incluyó al tratamiento testigo T0 (hamburguesa sin película comestible), para posteriormente almacenarlas en refrigeración a 7,5 °C por un tiempo de 9 días. Las variables evaluadas fueron: pérdida de peso (%), textura (cm), pH, acidez (contenido de ácido láctico %), diámetro del halo de inhibición bacteriana (mm) y la calidad organoléptica; en el caso de las variables fisicoquímicas los datos fueron tomados el día 3, 6 y 9. En cuanto al diseño experimental para las variables fisicoquímicas se aplicó un DCA en parcela dividida con 3 repeticiones, para la variable microbiológica un DCA con 4 repeticiones y para la calidad organoléptica un DBCA con 12 catadores que actuaron como bloques; en todos los casos se aplicó un ANOVA y una prueba de comparación de medias de Tukey. Es así que se logró determinar que las películas comestibles formuladas con distintas dosis de liofilizado de clavo (T2, T3 y T4) tuvieron propiedades antibacterianas, que ayudó a prolongar la vida útil de las hamburguesas sin perjudicar su calidad organoléptica.

Palabras clave: película comestible, clavo de olor, hamburguesa, liofilizado

Abstract

Currently, the need to search for natural compounds as an alternative for food preservation has arisen, especially those of meat origin, due to the fact that multiple substances that have been used daily for their preservation have been associated with the origin of diseases and intoxications. Considering this, in the present study the functional antimicrobial effect of lyophilized extract of clove (*Syzygium aromaticum*) was evaluated as an ingredient of an edible film in ground beef for hamburgers. Edible films were formulated with different concentrations of lyophilized clove extract, being: T1 (edible film + 0% lyophilized clove), T2 (edible film + 2,5% lyophilized clove), T3 (edible film + 5,0% lyophilized clove) and T4 (edible film + 7,5% lyophilized clove). The evaluation began the day the hamburgers were covered with the edible films, in which the control treatment T0 (hamburger without edible film) was included, to later store them in refrigeration at 7,5 °C for a period of 9 days. The variables evaluated were: weight loss (%), texture (cm), pH, acidity (lactic acid content%), diameter of the halo of bacterial inhibition (mm) and organoleptic quality; in the case of physicochemical variables, data were taken on days 3, 6 and 9. As for the experimental design for the physicochemical variables, a DCA was applied in a divided plot with 3 repetitions, for the microbiological variable a DCA with 4 repetitions and for the organoleptic quality a DBCA with 12 tasters who acted as blocks; in all cases, an ANOVA and a Tukey test for comparison of means were applied. This is how it was possible to determine that the edible films formulated with different doses of lyophilized clove (T2, T3 and T4) had antibacterial properties, which helped to prolong the shelf life of the hamburgers without harming their organoleptic quality.

Keywords: edible film, clove, hamburger, lyophilized

Capítulo I

Introducción

Antecedentes

En la actualidad, la contaminación microbiana de múltiples productos perecederos es la principal causa del deterioro de los alimentos y de las enfermedades transmitidas por los mismos, puesto que, estos requieren ser transportados y almacenados hasta su consumo, provocando que su vida útil se acorte. Es así que, en los últimos años, el uso de películas y recubrimientos comestibles se ha consolidado como una estrategia novedosa para el control del crecimiento microbiano. En este sentido, la demanda de los consumidores hacia este tipo de alimentos es cada vez mayor, debido a que estos contienen menor cantidad de conservantes sintéticos, los cuales, son remplazados por compuestos aromatizantes saludables como son los aceites esenciales (Solano, Alamilla, & Jiménez, 2018).

A nivel nacional, las tendencias de consumo de carne, y la forma de producirla y comercializarla, han venido cambiando, particularmente por el tema de la salud y la conciencia ambientalista de los consumidores; sin embargo, gran parte de los productos cárnicos distribuidos a nivel nacional han sido producidos de forma artesanal y por tanto, estos se encuentran sujetos a problemas de producción derivados por la falta de técnicas o conocimientos científicos de preservación y almacenamiento (Sarabia, 2011). La carne fresca y los productos cárnicos pueden contaminarse fácilmente con microorganismos y, si no se manipulan y conservan adecuadamente, favorecen el crecimiento de bacterias patógenas, lo que conduce a la pérdida de calidad y a posibles problemas de salud pública (Colcha, 2011). Por tal motivo el uso de películas comestibles en alimentos cárnicos surge como una alternativa para aumentar su vida útil, puesto que teóricamente podría ayudar a disminuir la tasa de respiración, evitar la proliferación de microorganismos (gracias al uso de extractos naturales) y

retrasar la pérdida de peso por deshidratación en estos alimentos, sin el uso de conservantes artificiales.

En Ecuador, resulta irrisorio el uso de ingredientes activos o aceites esenciales liofilizados de plantas que son usadas como especias en el ámbito culinario, si lo comparamos con otros países; por lo que estos compuestos han despertado gran interés debido a sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes y a sus posibles implicaciones benéficas en la salud humana. Es así que se ha tratado de encontrar nuevas formas seguras de incorporar dichos compuestos en formulaciones que beneficien a la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica (García E. , 2019).

Justificación

La carne es un ingrediente de suma importancia en la alimentación humana por su gran riqueza nutritiva, la cual se debe fundamentalmente a su contenido en proteínas de alto valor biológico; sin embargo, es uno de los alimentos más perecederos debido a su alto contenido en agua, composición y pH, lo que favorece su alteración y contaminación microbiana, pudiendo constituir un riesgo para la salud de los consumidores. Las alteraciones de la carne son debidas a su propia composición y a su interacción con factores físico-químicos como la luz, la temperatura o el aire; por tal motivo, es de vital importancia desarrollar técnicas o métodos que permitan a estos alimentos aumentar su vida útil sin que se incurra al uso de aditivos de origen químico (González, Mesa, & Quintero, 2014).

Los efectos antimicrobianos de diferentes hierbas y especias han sido conocidos y utilizados hace mucho tiempo para aumentar la vida útil de los alimentos. Actualmente, ha surgido la necesidad de buscar compuestos naturales como alternativa para la conservación de alimentos; esto debido a que las sustancias químicas que se han venido utilizando han sido asociadas a intoxicaciones y al origen de enfermedades. Es así, como se ha incrementado el

interés por el uso de agentes antimicrobianos de origen natural para controlar poblaciones microbianas en alimentos. Aunque el tema aún es materia de investigación, dichas sustancias vienen siendo empleadas en reemplazo de los conservantes químicos y artificiales para extender el tiempo de vida útil en gran cantidad de productos (Pastrana, Durango, & Acevedo, 2017).

Es así que, los aceites esenciales y sus componentes, que se utilizan actualmente como aromas alimentarios, también se sabe que poseen actividad antimicrobiana in vitro, por lo que podrían ser utilizados como conservantes de alimentos, y especialmente su mayoría son clasificados como GRAS (Generalmente reconocido como seguro), o aprobados como aditivos alimentarios por la FDA (Administración de Alimentos y Drogas). Por tanto, no necesitan permiso para su uso en los alimentos, sin embargo, son necesarios estudios preliminares para entender mejor su actividad antimicrobiana (García A. , 2016).

Al considerar esto, la presente investigación pretende evaluar el efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) presente en un liofilizado, para su uso como ingrediente en una película comestible sobre la caracterización y vida útil de carne molida destinada para su uso en hamburguesas refrigerada. El propósito es comprobar si la película posee propiedades antimicrobianas que puedan favorecer el tiempo de conservación del producto, además de verificar si posee efectos significativos sobre sus características físico-químicas y organolépticas.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar efecto funcional antimicrobiano de extracto liofilizado de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) como ingrediente de una película comestible en carne molida para hamburguesas.

Objetivos específicos

Describir el método de extracción y liofilización más adecuado para aislar el extracto o principio activo del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).

Cuantificar los parámetros físicos, químicos, antimicrobianos y la vida útil de la carne molida bajo refrigeración, tras la aplicación de tres tipos de películas comestibles donde se incluya el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) liofilizado en distintas concentraciones como ingrediente.

Analizar los parámetros sensoriales de la carne molida tras la aplicación de la película comestible mediante catas.

Hipótesis

Hipótesis nula (H₀)

El uso de extracto liofilizado de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) como ingrediente de una película comestible no influye en las propiedades físico-químicas, microbiológicas, organolépticas y sobre la vida útil de la carne molida para hamburguesas.

Hipótesis alterna (H_i)

El uso de extracto liofilizado de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) como ingrediente de una película comestible influye en las propiedades físico-químicas, microbiológicas, organolépticas y sobre la vida útil de la carne molida para hamburguesas.

Variables

- Variable dependiente: Tiempo de vida útil de las hamburguesas.
- Variable independiente: Películas comestibles con distintas concentraciones de clavo.
- Variables cuantitativas: Porcentaje de pérdida de peso, textura, pH, porcentaje de ácido láctico y halo de inhibición bacteriana de las películas comestibles.
- Variable cualitativa: Evaluación organoléptica de las hamburguesas.

Capítulo II

Revisión de literatura

El clavo de olor

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllata*) es una especie perteneciente a la familia *Myrtaceae*, la cual se caracteriza por habitar ambientes principalmente tropicales. Es originaria de Indonesia, y actualmente se cultiva en India, Australia, Brasil, Haití, Kenia, Madagascar, Malasia, México, Seychelles, Sri Lanka, Tanzania, entre muchos otros países. Su nombre deriva de la palabra clavo (de los fabricados en metalurgias), ya que la forma del botón floral guarda un gran parentesco con ellos (Singh, Baghotia, & Goel, 2012). Crece en suelos ricos en humus arcillosos, así como en suelos lateríticos propios de las regiones cálidas, pobres en sílice, altos en hierro y alúmina (conocido como óxido de aluminio), profundos y sueltos. Esta especie se obtiene de un árbol perenne que florece dos veces al año; los botones florales tienen inicialmente un color pálido que poco a poco se convierte en verde para después tornarse a un color rojo o marrón oscuro. Los tallos, las hojas y los botones sin abrir son las partes de este árbol que se utilizan principalmente para la extracción de aceite esencial conocido como Eugenol (Aguilar & López, 2013).

El árbol del clavo de olor se caracteriza por ser perenne y crecer hasta una altura de 10 a 20 m. Tiene hojas lanceoladas e inflorescencias racimosas; en cuanto a las yemas florales, estas presentan inicialmente un color pálido que consecutivamente cambia al verde, después de lo cual comienzan a tornarse de un color rojizo brillante indicativo de que están listas para ser recolectadas o cosechadas. Las yemas florales suelen cosecharse cuando alcanzan una longitud de 1,5 a 2 cm, y poseen un receptáculo alargado que contiene el ovario; sobre el receptáculo se insertan los demás verticilos florales, que son: cuatro pétalos, cuatro sépalos y numerosos estambres (Singh, Baghotia, & Goel, 2012).

Figura 1

Vista general de la planta de clavo de olor (Syzygium aromaticum).



Nota. Representación de las yemas florales de la planta de clavo de olor, tomado de (Köhler, 2007).

Las plantas de clavo empiezan a dar sus primeras flores a los 6 años y la producción máxima se mantiene hasta los 20 años, pero el árbol continúa brindando flores durante 80 años o más. La recolección de esta especia se debe realizar con mucho cuidado ya que se puede perjudicar el futuro crecimiento de la planta, es por esta razón que se recolecta con las manos para evitar el daño de las hojas; en ese momento el tamaño de los yemas florales son de aproximadamente 2cm de largo; algo muy importante que se debe tomar en cuenta es que la especia debe ser cosechada antes de que las flores tiendan a abrirse (Milind & Deepa, 2011).

Antecedentes históricos

Antiguamente el clavo de olor creció sólo en algunas de las islas Molucas históricamente llamadas "Islas de las especias", entre ellas Bacán; no obstante, encontraron rutas a Europa y el Medio Oriente ya antes de nuestra era, debido a que, arqueólogos han encontrado clavos de olor en una vasija de cerámica en Siria como evidencia que existió en esa localidad hace unos 1721 años A.C. Existe evidencias que a inicio del siglo IV A.C. los

monarcas chinos de la Dinastía Han exigían, a aquellos que les dirigían la palabra, que masticaran clavos de olor para mejorar el aliento, para hacer más llevaderas las conversaciones. Es así que junto con la nuez moscada y la pimienta el clavo fue altamente valorado en tiempos del florecimiento del Imperio romano (Milind & Deepa, 2011).

Esta especia fue altamente mercantilizada por múltiples comerciantes árabes durante la Edad Media, a través de la ruta marítima del Océano Índico por medio del empleo de medianos navíos a vela de un palo, típicos de la época. A mediados del siglo XV, Portugal se hizo con el control de tal ruta marítima, debido principalmente a la creación del Tratado de Tordesillas con España. Debido a esto los portugueses trajeron enormes cantidades de clavo de olor a Europa, principalmente de las Islas Maluku, pues en aquella época el clavo de olor era una de las especias más valoradas, llegando a costar un kilogramo del mismo alrededor de siete gramos de oro. En décadas posteriores Francia logró introducir con gran dificultad el árbol del clavo en las islas Mauricio en el año 1770; y posteriormente fue introducido en Guyana, Brasil, las Antillas y Zanzíbar, en donde la mayoría de los clavos de olor o giroflés crecen y se cultivan hasta hoy (Hussain, Rahman, Mushtaq, & Belaskri, 2017).

Taxonomía

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllata*), es una especia muy apreciada a nivel mundial, que es miembro de la familia *Myrtaceae*, debido a que se ha empleado durante siglos como conservante de alimentos y como medicina. El género *Syzygium* es el más grande de la familia *Myrtaceae*, que comprende alrededor de 1200 a 1800 especies de plantas con flores, que están ampliamente distribuidas en áreas tropicales y subtropicales de Asia, África, Madagascar y en múltiples regiones del Pacífico y Oceanía (Hussain, Rahman, Mushtaq, & Belaskri, 2017). Es así que la clasificación taxonómica del clavo de olor se presenta a continuación:

Tabla 1

Taxonomía de Syzygium aromaticum.

| Taxonomía del Clavo de olor | |
|------------------------------------|---|
| Reino | Plantae |
| División | Magnoliophyta |
| Clase | Magnoliopsida |
| Subclase | Rosidae |
| Orden | Myrtales |
| Familia | Myrtaceae |
| Subfamilia | Myrtoideae |
| Tribu | Syzygieae |
| Género | <i>Syzygium</i> |
| Especie | <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M.Perry |

Nota. Clasificación taxonómica de la planta de clavo de olor, tomado de (Cueva, 2017).

Composición nutricional

Desde la antigüedad, los pueblos descubrieron los poderes curativos y paliativos de esta especia. En la India, por ejemplo, se masticaban las flores para acrecentar la saliva y ayudar a la digestión. La medicina ayurvédica recomienda utilizar los clavos de olor para todo tipo de anormalidades, incluyendo fiebre, dispepsia y alteraciones del cerebro, riñón, estómago, bazo e intestinos, o para fortalecer el corazón (Agustín & Olascoaga, 2020). Por sus poderes estimulantes y carminativos es una de las especias más utilizada en la gastronomía internacional; todo esto gracias a su composición nutricional, la cual se detalla a continuación:

Tabla 2

Composición nutricional del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).

| Composición nutricional de 100 g de clavo de olor | |
|--|--------------|
| Componente | Valor |
| Proteína | 5,98 g |
| Grasas | 20,07 g |
| Carbohidratos totales | 61,21 g |
| Sacarosa | 0,02 g |
| Glucosa | 1,14 g |
| Cafeína | 0 g |
| Humedad | 6,86 g |
| Minerales | |
| Calcio | 646 mg |
| Magnesio | 264 mg |
| Potasio | 105 mg |
| Fósforo | 112 mg |
| Sodio | 243 mg |
| Elementos traza | |
| Hierro | 8,68 mg |
| Cobre | 1,09 mg |
| Zinc | 0,35 mg |
| Manganeso | 30 mg |
| Selenio | 5,9 mg |
| Vitaminas | |
| Provitamina A | 84 µg |
| Vitamina E | 8,52 mg |
| Vitamina C | 80,8 mg |
| Vitamina B1 (tiamina) | 0,12 mg |
| Vitamina B2 | 0,27 mg |

Nota. Composición nutricional del clavo de olor por cada 100 g de materia seca, tomado de (Maigua, 2022).

Usos y propiedades

El clavo (*Syzygium aromaticum*) es una especia ampliamente aprovechada en la perfumería y la medicina; dentro de la industria alimenticia, su aceite esencial es utilizado mayormente como saborizante y aromatizante. Existe mucha información acerca de las funciones antimicrobianas de este aceite esencial contra patógenos transmitidos por el consumo de alimentos, e incluso, contra microorganismos resistentes a antibióticos y a antifúngicos (Aguilar & López, 2013). El clavo de olor tiene diversos usos desde siglos atrás y en la actualidad, debido a que son muy utilizados dentro de variadas industrias (Maigua, 2022). Por su extensa lista de propiedades el clavo presenta múltiples usos, los cuales se presentan a continuación.

Tabla 3

Principales aplicaciones del clavo de olor (Syzygium aromaticum).

| Usos del aceite de clavo de olor | |
|---|--|
| En el ámbito medicinal | Antiinflamatorio y antimicrobiano. |
| | Estimulante del sistema inmunológico. |
| | Previene el cáncer pulmonar. |
| | Estimula el flujo sanguíneo. |
| | Antioxidante |
| | Reductor de la somnolencia. |
| Veterinaria | Relajante muscular. |
| | Analgésico |
| Cocina | Trata problemas de vómito en perros. |
| | Brindar sabor a ensaladas y encurtidos. |
| Usos diversos | Bridar sabor a productos cárnicos. |
| | Uso en productos farmacéuticos y pasta dental. |
| | Brinda aroma a los perfumes. |

Nota. Usos principales del clavo de olor en diversas industrias en la actualidad, tomado de (Maigua, 2022).

El peculiar aroma del clavo de olor se debe a que posee una sustancia llamada eugenol (ingrediente activo) que se puede utilizar en perfumes, en la cocina y para crear incienso en las culturas china y japonesa, en otras culturas como la indonesia se usa en un popular cigarrillo llamado kretek (Mamani & Huallpa, 2014).

Para el ser humano, el clavo de olor es una especia muy conocida por sus propiedades estimulantes, estomacales, expectorantes y sedantes. El aceite esencial de los clavos y de las raíces tiene una potente acción carminativa y antiespasmódica sobre el aparato digestivo, igualmente es un tónico, ligeramente excitante y afrodisíaco. Además, su gran contenido de eugenol le proporciona virtudes antisépticas (odontología), bactericidas, cicatrizante y ligeramente anestésica (Mamani & Huallpa, 2014).

Aceite esencial de clavo de olor

La aplicación de aceites esenciales de plantas y especias en distintos campos tales como gastronomía, medicina y en la industria de los alimentos es numerosa; es así que el clavo de olor, *Syzygium aromaticum*, también conocido como *Eugenia caryophyllata*, es una especia ampliamente usada y conocida, debido a que su aceite esencial posee eugenol, el cual ha demostrado tener amplio espectro de acción contra una gran variedad de microorganismos causantes de distintos padecimientos que afectan a humanos, animales y plantas (Aguilar & López, 2013).

El aceite de clavo es considerado como un potente agente antimicrobiano, ha sido admitido por la FDA (Administración de Alimentos y Drogas) como una sustancia alimentaria, además se encuentra en la lista de elementos GRAS (Generalmente reconocida como segura) que lo convierte en un componente saludable. El aceite de clavo de olor es considerado como una sustancia antimicrobiana porque contiene componentes que inhiben algunos patógenos, siendo el eugenol el principal de ellos (Maigua, 2022).

El aceite de clavo de olor posee un elevado contenido de eugenol y es aquel que le imputa las propiedades antimicrobianas. Debido a que el eugenol es una sustancia que se identifica por destruir la membrana celular de los diferentes microorganismos provocando así la muerte (Burt, 2004).

Tabla 4

Principales componentes químicos de aceites esenciales con propiedades antimicrobianas.

| Componentes principales de los aceites esenciales con propiedades antimicrobianas | | | |
|--|-------------------------------|-----------------------------|---------------------|
| Nombre común | Nombre científico | Componentes químicos | % aproximado |
| Orégano | <i>Origanum vulgare</i> | Carvacrol | 80 % |
| | | Timol | 64 % |
| Romero | <i>Rosmarinus officinalis</i> | a-pineno | 2 – 25 % |
| | | 1,8-cineol | 3 – 89 % |
| Clavo de olor | <i>Syzygium aromaticum</i> | Eugenol | 75 – 85 % |
| | | Acetato de eugenilo | 8 – 15 % |

Nota. Principales componentes químicos antimicrobianos de especias de uso común, tomado de (Burt, 2004).

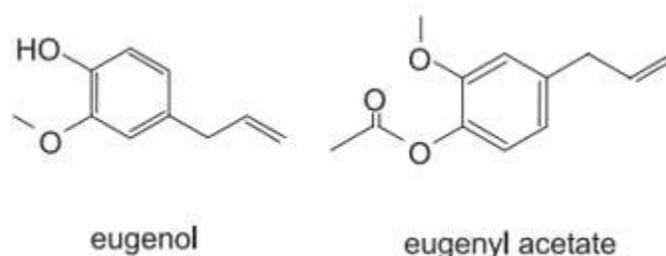
Composición química del aceite esencial de clavo de olor

El aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) extraído de las hojas y de los tallos es ligeramente distinto, debido a que este presenta un sabor más a madera que el de los botones florales; sin embargo, los compuestos más abundantes en toda la planta son el eugenol (75 a 85%), β – cariofileno (4 a 15%), acetato de eugenilo (8 a 15%) y α – humuleno. Con respecto a la distribución de estos compuestos en la planta, se ha determinado que los frutos encierran de un 2% a un 3% de esencia que contiene alrededor de un 50% de eugenol.

Los botones florales están provistos de un 15 a 20% de esencia compuesta de un 75 a 98% de eugenol y acetato de eugenilo (8 a 15%). El eugenol es inmiscible y más denso que el agua (Mamani & Huallpa, 2014).

Figura 2

Estructura de los principales componentes químicos del aceite esencial de clavo de olor.



Nota. Vista general de la estructura química de los principales componentes antimicrobianos del clavo de olor, tomado de (Burt, 2004).

Métodos de extracción del aceite esencial del clavo de olor

La destilación por arrastre de vapor es uno de los métodos más comunes y populares para la obtención de aceites esenciales, debido a que, esta técnica puede extraer la mayor parte de todos los componentes volátiles de la especia, se puede utilizar para llevar a cabo la extracción cuantitativa y preparativa, y se pueden obtener cantidades considerables del aceite esencial en periodos relativamente cortos de tiempo. Este proceso también puede ser conocido como extracción por arrastre de vapor, hidrodestilación, hidrodifusión o hidroextracción; sin embargo, se establece que la diferencia entre estos términos radica en la forma de empleo del vapor generado y los equipos e instrumentos que pueden llegar a ser empleados durante la extracción. La materia prima puede estar molida o también puede estar cortada, entera o la combinación de éstas (Aguilar & López, 2013).

Figura 3

Método de destilación por arrastre de vapor.



Nota. Vista general del método de destilación por arrastre de vapor usando clavo de olor, tomado de (Maigua, 2022).

Otra metodología de extracción recientemente desarrollada, es por medio de dióxido de carbono supercrítico, este método evita la degradación térmica e hidrolítica de los compuestos lábiles del aceite esencial. La principal ventaja de esta tecnología, es que el tiempo que toma el proceso se reduce significativamente, asimismo se produce un perfil organoléptico más natural, sin embargo, este proceso es mucho más costoso. De la misma manera, puede darse el caso de que exista la presencia de residuos de los disolventes empleados (en algunos casos tóxicos), pero puede evitarse esto en caso de realizar la extracción por maceración (Aguilar & López, 2013).

Por último, en el trabajo de (Zhai, y otros, 2011), se utilizó una variación de la hidrodestilación, donde esta técnica se acoplo al uso de microondas. Para esto, se agregaron polvos de hierro carbonílico a la muestra de clavo seco (como medio de absorción de microondas) para extraer los aceites durante la destilación. El tiempo de extracción fue de menos de 7 min a una potencia de microondas de 440 W. Al mismo tiempo, esta técnica fue

comparada con la hidrodestilación tradicional, donde no hubo grandes diferencias en cuanto a los componentes obtenidos de los aceites esenciales recuperados por ambos métodos; sin embargo, el tiempo de extracción y el tamaño de la muestra requeridos son menores en el caso del acoplamiento a microondas (Zhai, y otros, 2011).

Liofilización

La liofilización es un proceso que tiene como objetivo separar el agua (u otro solvente) de una disolución mediante congelación y su posterior sublimación del hielo que contiene a presión reducida. La liofilización es el proceso más suave para secar productos y es el mejor método para secar compuestos orgánicos o inorgánicos sin alterar su composición cualitativa o cuantitativa. El proceso de liofilización se realiza en condiciones de vacío y a baja temperatura y así, por ejemplo, es posible evitar la desnaturalización de las proteínas. Los alimentos y los materiales biológicos tales como células, tejidos, bacterias y vacunas se convierten en productos secos, evitando su paso por su fase líquida (sublimación), y en consecuencia los cambios enzimáticos, biológicos y químicos son mínimos (GIDOLQUIM, 2014).

La liofilización se logra congelando el material y luego reduciendo la presión circundante, de esta manera, se puede lograr que el hielo sublime, pasando directamente de estado sólido a gaseoso. Para lograr mayor efectividad en dicho proceso, se realizan ciclos de congelación/sublimación, con lo cual, se logra eliminar la totalidad del líquido (agua o cualquier otro tipo de disolvente) del producto original, preservando la estructura molecular de la sustancia a conservar (Noguera, 2020).

La liofilización es un método de conservación de alimentos en el que confluyen distintos procesos físicos y químicos. El resultado es un producto seco, pero con todas las características organolépticas de su estado original, como el aroma, el color y el gusto o el sabor. Alimentos "instantáneos" como frutas finas, sopas, café o comidas que utilizan los

astronautas en las misiones espaciales son algunos de los productos que se liofilizan. Este proceso facilita su conservación y ayuda a detener el crecimiento de patógenos, puesto que el resultado es un alimento de menos peso y sin la presencia de humedad en su estructura (Chavarrías, 2010).

Antecedentes históricos

Este proceso tiene sus inicios en el Imperio Inca, en el altiplano andino a 4000 m sobre el nivel del mar. Allí sus pobladores elaboraban (y continúan haciéndolo) un producto llamado Chuño, resultado de la deshidratación de la papa y el Charqui a base de carne de llama. Esta técnica consistía y consiste en la actualidad en dejar las papas cosechadas sobre el suelo, de manera que durante la noche se congelen como consecuencia de las muy bajas temperaturas de la zona, y durante el día la acción del sol y el viento seco crean las condiciones necesarias para que se produzca el cambio de estado del agua desde el sólido al vapor, sin pasar por la fase líquida (conocido como sublimación). Con el paso de los años este procedimiento se desarrolló industrialmente integrando la congelación y la deshidratación de medicamentos, medicinas y extractos (Ramírez, 2007).

El desarrollo comercial del proceso de liofilización se produjo durante la Segunda Guerra Mundial, debido a que se empleó para conservar plasma sanguíneo y en la preparación de los primeros antibióticos de penicilina. Años después, alrededor de 1960, comenzó a utilizarse en una gran variedad de productos, entre ellos los alimentos. Actualmente el proceso de liofilización se aplica en industrias farmacéuticas, para preservar antibióticos y vacunas, plasma, hemoderivados, vitaminas, extractos, leche materna y otros. En la industria química, se emplea en la preparación de catalizadores, secado de materiales orgánicos, preservación de animales (taxidermia), conservación de documentos y libros antiguos. En relación a la industria de los alimentos, primero comenzó a utilizarse en la elaboración de productos especiales para

montañistas, astronautas, bases militares y otros de usos similares; sin embargo, desde hace tiempo, se comercializan productos liofilizados tanto como ingredientes industriales como para el consumidor en general, ampliándose así el mercado de estos productos con alto valor agregado, como por ejemplo el café instantáneo (Parzanese, 2019).

Etapas del proceso de liofilización

A nivel de laboratorio, para pequeñas cantidades de muestra se utilizan como contenedores de la muestra viales, tubos o matraces de fondo redondo (mayor resistencia, con posibilidad de cierre dentro del liofilizador). A nivel industrial, para grandes cantidades de material a liofilizar (como sucede en la industria del café instantáneo) se utilizan bandejas (GIDOLQUIM, 2014). El procedimiento para liofilizar una muestra determinada consta de varias etapas, las cuales se resumen y detallan a continuación:

Fase 1: Congelación de la muestra a bajas temperaturas. En la liofilización, la congelación de los productos es una fase de suma importancia, puesto que influye directamente en la apariencia y en la calidad del producto final que se desea obtener. Habitualmente se introduce la muestra en nitrógeno líquido (-196°C) o en un baño de nieve carbónica y acetona (-78°C) hasta que se encuentre congelado en su totalidad; la muestra también puede ser congelada de forma convencional con ayuda de una nevera, sin embargo, los productos congelados tienen que presentar una apariencia opaca y mantenerla durante todo el proceso de secado (GIDOLQUIM, 2014).

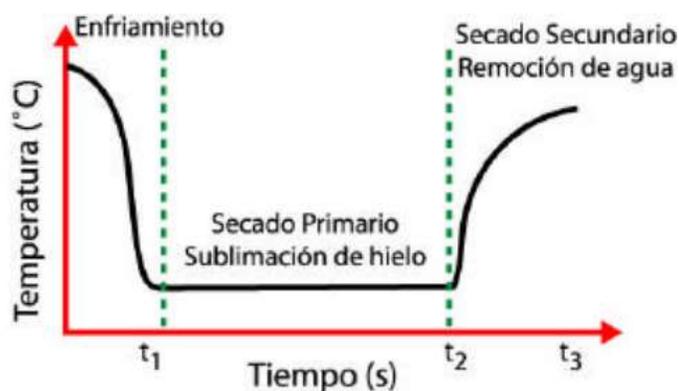
Fase 2: Secado del producto congelado por sublimación. Primero se debe introducir la muestra previamente congelada en uno de los recipientes de la cámara de sublimación y se conecta el vacío con cuidado para evitar posibles implosiones. Si existen otros productos que se están liofilizando en otros recipientes conectados a la cámara, se deberá cerrar las llaves de

todos ellos, abrir la nuestra, y cuando se haya llegado al vacío, abrir todas las demás (GIDOLQUIM, 2014).

De acuerdo con la información presentada por el grupo (GIDOLQUIM, 2014), una vez finalizada la liofilización se debe realizar el proceso inverso para romper el vacío en la muestra o muestras que fueron sometidas a este proceso con mucho cuidado, dejando entrar aire lentamente. Si no se realiza esto se pueden crear turbulencias provocando que la muestra sólida salga del vial y quede dispersada en las paredes de la cámara. Seguidamente se cierra la llave, se desconecta de la cámara, se saca el vial y se tapa a fin de evitar la entrada de humedad; por ultimo las muestras son debidamente etiquetadas y almacenadas de tal forma que no exista el riesgo de que ingrese humedad del exterior (GIDOLQUIM, 2014).

Figura 4

Vista general del proceso de liofilización.



Nota. Representación gráfica del proceso de liofilización en tres etapas, tomado de (Ramírez, 2007).

Fase 3: Almacenamiento del producto. Los productos liofilizados y adecuadamente cerrados se pueden guardar por largos períodos de tiempo con la retención de sus propiedades físicas, químicas, biológicas y organolépticas de sus estados originales. Es aconsejable que el

almacenamiento de los productos liofilizados sea en lugares con temperaturas bajas, ya que de esta forma se evita la desnaturalización de proteínas (GIDOLQUIM, 2014).

Equipos de liofilización

Actualmente en el mercado se puede conseguir equipos destinados para el laboratorio, para plantas piloto e industria, los cuales tienen variadas especificaciones técnicas con forme al tipo muestras y cantidades que se van a liofilizar, que se detallan a continuación (Ramírez, 2007).

Tabla 5

Principales especificaciones de los equipos de liofilización.

| Descripción | Laboratorio | Piloto | Industria |
|----------------------------|---------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|
| Bomba de vacío | 6 m ³ /h | 18 – 35 m ³ /h | - |
| Capacidad de condensador | 6 – 10 kg | 15 – 30 kg | 30 – 300 kg |
| Temperatura de condensador | -50 °C | -50 a -80 °C | -75 °C |
| Superficie*(# de estantes) | 0,33 m ² * (3) | 0,48 – 1,8 m ² * (3 - 5) | 2 – 12 m ² * (5 - 8) |

Nota. Descripción de las especificaciones principales de los equipos de liofilización usados en múltiples industrias, tomado de (Ramírez, 2007).

Ventajas y desventajas del uso de la liofilización

Entre las principales ventajas de la liofilización, se puede mencionar que: se obtienen productos que se pueden volver a regenerar muy rápidamente, debido a que tanto la forma y características del producto final son esencialmente las originales (antes de ser sometidas a proceso de liofilización), es un método idóneo para secar sustancias termolábiles, los constituyentes oxidables están protegidos, y el contenido de humedad final es muy bajo

(GIDOLQUIM, 2014); sin embargo, al considera el elevado costo del proceso, la liofilización queda generalmente reservada para productos con un alto valor agregado, semejantes a los productos farmacéuticos o alimentos para bebés y ciertas especies (Ramírez, 2007).

El proceso de liofilización presenta múltiples ventajas si se compara con un proceso de secado convencional o también conocido como tradicional, como se presenta en la Tabla 6.

Tabla 6

Diferencias entre el secado convencional y la liofilización.

| Secado convencional | Liofilización |
|--|--|
| Recomendado para obtener alimentos secos (verduras y granos). | Recomendado para la mayoría de los alimentos, pero se ha limitado a aquellos que son difíciles de secar. |
| Es poco satisfactorio para carne. | Recomendado para carnes crudas y cocidas. |
| Rango de temperatura 37 – 93 °C. | Temperaturas debajo del punto de congelación. |
| Presiones atmosféricas. | Presiones reducidas (0,01 mbar). |
| Se evapora el agua del alimento. | Se sublima el agua del frente de congelación. |
| Movimiento de solutos y lo que causa algunas veces endurecimiento. | Movimiento mínimo de solutos. |
| Las tenciones en alimentos sólidos causan daño estructural y encogimiento. | Cambios estructurales o encogimientos mínimos. |
| Rehidratación incompleta o retardada. | Rehidratación completa o rápida. |
| Partículas porosas secas tienen a menudo una densidad más alta que el alimento original. | Partículas porosas secas tienen una densidad más baja que el alimento original. |
| Olor y sabor frecuentemente anormal. | Olor y sabor normalmente intensificado. |
| Color frecuentemente más oscuro. | Color normal. |
| Valor nutritivo reducido. | Nutrientes retenidos en gran porcentaje. |
| Costos generalmente bajos. | Costos generalmente altos, aproximadamente cuatro veces más que el secado convencional. |

Nota. Descripción de las principales ventajas y desventajas de procesos de deshidratación convencional contra el proceso de liofilización, tomado de (Ramírez, 2007).

Además de lo expuesto anteriormente, una de las desventajas principales de la liofilización son los riesgos habituales que representa el trabajar con productos químicos que son usados para congelar las muestras como el nitrógeno líquido y nieve carbónica. También los asociados con el vacío: las posibles explosiones o implosiones por cambios de presión extremos o por trabajar con material en estado defectuoso (GIDOLQUIM, 2014). En síntesis, el proceso de liofilización ofrece ventajas tan importantes como la conservación, la posibilidad de facilitar el transporte de productos que podrían abarcar grandes volúmenes y pesos de forma natural, la ausencia de temperaturas altas, la inhibición del crecimiento de microorganismos, o la recuperación de las propiedades del alimento al añadirle el volumen de agua que en un principio tenía (Ramírez, 2007).

Hamburguesa

Comúnmente se considera a la hamburguesa como un sándwich cuyo ingrediente principal es la carne molida (o de origen vegetal), amasada en forma de filete o disco, la cual puede ser cocinada a la parrilla o a la plancha, aunque también puede freírse u hornearse. Es más común encontrarla por el apelativo de origen estadounidense burger, que se deriva del acortamiento de la palabra hamburger. En general se presenta en un pan ligero partido en dos discos que posee forma de óvalo y que es previamente calentado en la plancha junto con la carne molida. Suele estar acompañada de aros de cebolla, hojas de lechuga, alguna rodaja de tomate riñón, láminas de encurtidos como los pepinos (conocidos también como pepinillos) y papas fritas; y puede estar aliñada con algún condimento, como puede ser la salsa de tomate (o ketchup), la mostaza, mayonesa, salsa picante, entre otros más (Edge, 2005).

La popularidad de la hamburguesa creció durante el siglo XX y durante ese mismo siglo fue adquiriendo un simbolismo especial a nivel mundial; hasta formar parte o ser conocido como uno de los alimentos icono de la cocina estadounidense. Históricamente la primera

cadena de restaurantes norteamericanos que puso en circulación la hamburguesa como comida rápida fue White Castle en la década de 1920, y consecutivamente durante la década de 1940 con McDonald's, así como Burger King. En la actualidad la hamburguesa es, un alimento tan popular que aparece con sus diversas variantes (que se han adaptado al estilo de vida y los sabores de cada país del mundo) en casi todo el planeta, al igual que otros alimentos, como pueden ser la pizza, los tacos y la comida china (Edge, 2005).

Es así que los productos cárnicos como embutidos y hamburguesas, se constituyen como una alternativa a la carne fresca, debido a que su consumo ha ido aumentando no solo por su valor nutritivo sino también por sus características sensoriales. Este producto es importante por su gran aceptación y consumo, puesto que permite obtener un producto cárnico de forma rápida, en diversas presentaciones y con carne de variadas especies animales o de origen vegetal (Andrade, 2017).

Carne molida para hamburguesas

Se puede mencionar sin ningún tipo de prejuicio que es el ingrediente más caro e importante de la hamburguesa; la carne molida o picada fue y es, desde hace tiempo, un ingrediente de diversos platos en todo el mundo. La carne empleada para las hamburguesas ha sido tradicionalmente de ganado vacuno, aunque es posible ver algunos casos de mezcla como de carne magra de ganado vacuno y grasa de cerdo. Igualmente, existen algunas excepciones en las que se emplea carne de bisonte, carne de avestruz o de cérvidos, como puede ser el venado; así también como el uso de mezclas de origen vegetal que pueden asemejarse a la carne, como la lenteja y la soya. Dentro de las variantes de carne de ganado vacuno, existen algunas únicas que emplean razas de vacuno especiales, como la Angus o la Gran azul belga. Se puede decir que es el elemento más discutido de la hamburguesa, y esta es la razón por la que a veces se denomina hamburguesa a ciertos sándwiches que sin tener carne poseen la

misma filosofía como es el caso de la hamburguesa vegetal a base de soya, o la hamburguesa de pescado. Algunos cocineros orientales usan tofu o seitán para poder ofrecer hamburguesas a las personas vegetarianas o veganas. Por todo esto resulta frecuente ver en los supermercados la carne picada y con la forma de disco, lista para ser cocinada (Edge, 2005).

Al momento de la preparación de las hamburguesas es común que durante la cocción de la carne molida suela ser aplastada (generalmente con una espátula apropiada para el caso) hasta que tenga una forma de disco o hasta que se encuentre en el término adecuado. En compañías de comida rápida, lo más habitual es que la carne sea molida en la propia industria cárnica, se le proporcione la forma adecuada por medio de un sistema mecanizado y en breve se congele en grandes sistemas de congelación para su almacenamiento y posterior distribución. Estas piezas congeladas se distribuyen posteriormente en masa a los puntos de venta y van directamente a las freidoras o a las parrillas según sea el método de cocinado que emplee la cadena de comida rápida (Edge, 2005).

Esta mezcla cuyo ingrediente principal es la carne por lo general preocupa a los consumidores, debido al contenido graso de la carne molida, ya que se sabe que puede estar entre el 20% al 40% del peso total de la hamburguesa. El caso es que el contenido graso de la carne, junto con la forma específica de ser cocinada (frita, barbacoa, al horno, al microondas, ...), resultan ser un factor relevante a la hora de definir el conjunto de sabores presentes, de igual forma, por regla general, los valores más apreciados de ternura se asocian a contenidos altos de grasa y a preparaciones al horno de forma tradicional. No obstante, se han investigado mezclas de bajo contenido graso (en torno a los 10 %) con proteína de soja concentrada, proporcionando unos valores de sabor aceptables (Edge, 2005).

Ingredientes y preparación

De acuerdo con lo descrito por (Echeverri, Rincón, López, & Restrepo, 2004), la formulación general para sazonar la carne destinada para hamburguesas y las cantidades de las materias primas en general son las presentadas en la siguiente tabla, sin embargo, las proporciones y las especias pueden variar de acuerdo con el gusto del consumidor, así como la disponibilidad de las mismas.

Tabla 7

Formulación para sazonar carne molida para hamburguesas.

| Ingrediente | Cantidad (%) |
|-----------------------|---------------------|
| Carne 0/100 | 49,0 |
| Grasa | 24,5 |
| Texturizado de soya | 1,5 |
| Concentrado de soya | 2,5 |
| Miga para hamburguesa | 1,2 |
| Sal | 1,4 |
| Condimento | 1,5 |
| Hielo | 18,4 |

Nota. Lista de los principales ingredientes y sus respectivas proporciones para preparar hamburguesas, tomado de (Echeverri, Rincón, López, & Restrepo, 2004).

En algunas ocasiones a la carne picada suele añadirse alguna sustancia ligante para que se compacte adecuadamente y pueda ser más fácil de ingerir, como el huevo, el texturizante de soya o el pan rallado. La carne picada debe manipularse con extremo cuidado, debido a que puede contener bacterias que podrían contaminar la hamburguesa y provocar

intoxicaciones alimentarias a los consumidores, tal y como puede ser la causada por la *Escherichia coli* O157:H7; es por este motivo por lo que resulta conveniente que la carne al momento de la cocción alcance una temperatura lo más elevada posible o que por lo menos supere una temperatura de 90 °C en su interior (Edge, 2005).

Películas y recubrimientos comestibles

El uso de películas y recubrimientos comestibles surge como una alternativa promisoría para mejorar la calidad de los alimentos durante su procesado, conservación y su posterior consumo. Estos recubrimientos en general están compuestos por finas películas de polímeros naturales (polisacáridos, proteínas animales o vegetales, y lípidos) biodegradables, por lo que es una tecnología respetuosa con el medio ambiente que responde a la demanda creciente por parte de los consumidores, de producir a gran escala alimentos naturales, seguros, saludables y obtenidos mediante un procesado mínimo (Ancos, González, Colina, & Sánchez, 2015).

Entre las principales ventajas de las películas comestibles se establece teóricamente que pueden constituirse para actuar como una barrera selectiva para los gases (O₂, CO₂, etileno), pueden reducir la pérdida de agua de los alimentos, retardar los procesos oxidativos (pardeamiento enzimático) propios de múltiples alimentos, el crecimiento microbiológico (dependiendo de los ingredientes que se usen en su formulación) y aumentan la resistencia mecánica de los alimentos mínimamente procesados. Por tanto, reducen o eliminan los mecanismos causantes del deterioro alimenticio que tienen lugar durante un procesado mínimo. Además, los recubrimientos y películas comestibles pueden ser considerados envases activos, debido a que pueden incorporar en su matriz polimérica aditivos naturales como antimicrobianos (eugenol de clavo de olor), antioxidantes, reafirmantes de la textura, nutrientes o ingredientes bioactivos con el objetivo de incrementar la seguridad y las características

sensoriales, nutricionales y funcionales de los alimentos mínimamente procesado (Ancos, González, Colina, & Sánchez, 2015).

Las películas comestibles al ser utilizadas pueden proporcionar que el alimento mantenga su alta calidad y facilitar que los mismos sean distribuidos de forma más eficiente y segura; es así que en la industria cárnica es una alternativa para obtener alimentos más duraderos y resistentes ante los tratamientos térmicos que sufren durante su transformación y comercialización, además de convertirse en una herramienta para conservar las características sensoriales y organolépticas que son piezas clave en la selección por parte de los consumidores. Lípidos, proteínas y polisacáridos, son algunas de las materias primas empleadas en la elaboración de películas comestibles; cada una cumple una función específica por lo que su comportamiento no será el mismo en todos los alimentos (Guzmán, Acevedo, Romero, & Estrada, 2014).

Composición de las películas comestibles

Un recubrimiento comestible es una delgada capa de material comestible formada encima de la superficie externa de un alimento; mientras que, una película comestible es una capa delgada preformada, hecha de material comestible, que una vez formada puede ser colocada sobre o entre componentes alimentarios. La principal diferencia entre estos sistemas alimentarios es que la cobertura comestible es aplicada en forma líquida sobre los alimentos, usualmente por inmersión del producto en una solución formada por una matriz estructural que por lo general contiene carbohidratos, proteínas, lípidos o la mezcla de ellos; en cambio, una película comestible es primero moldeada como una hoja sólida, que son luego aplicadas como envoltura sobre el producto alimenticio (Falguera, Quintero, Jiménez, Muñoz, & Ibarz, 2011).

De acuerdo con lo indicado por (Falguera, Quintero, Jiménez, Muñoz, & Ibarz, 2011), los recubrimientos y películas comestibles generalmente se clasifican según su material

estructural del cual se encuentran formados. De esta forma, las películas y recubrimientos comestibles se pueden basar en proteínas, lípidos, polisacáridos o compuestos (la interacción de los anteriores). Por ejemplo, una película compuesta puede consistir en lípidos e hidrocoloides combinados para formar una bicapa o un grupo. En algunos estudios recientes se plantea la producción de películas comestibles y biodegradables mediante la mixtura de varios polisacáridos, proteínas y lípidos con el objetivo de aprovechar las propiedades de cada compuesto y la sinergia entre ellos. Las propiedades mecánicas y de barrera de estas películas no solo dependen de los compuestos utilizados en la matriz polimérica, sino también de su compatibilidad, es así, que si los compuestos empleados no son compatibles pueden provocar que no se forme la película comestible o aparezcan roturas en su superficie (Osorio & Yáñez, 2018).

Almidón. Por lo general es una mezcla de dos polímeros: la amilosa, que se encuentra en forma lineal, y la amilopectina, que es ramificada. El almidón ha recibido un especial cuidado y la investigación enfocada a este polímero se ha intensificado en los últimos años, debido principalmente a su bajo costo, su abundancia y alta aplicabilidad en diversos campos. En los recubrimientos a base de almidón esta forma la matriz o red durante el proceso de secado de una dispersión gelatinizada mediante los puentes de hidrogeno que se establecen entre los grupos hidroxilo. La amilosa (estructura lineal) es la responsable de la capacidad formadora de las coberturas, un porcentaje mayor de este componente proporciona mayor fuerza y más flexibilidad a las coberturas, las estructuras ramificadas de amilopectina en cambio, si se encuentran en porcentajes elevados conllevan a recubrimientos con pobres propiedades mecánicas (Gamarra, 2017).

Las coberturas de almidón son transparentes o translúcidas, insípidas, inodoras, incoloras, no tóxicas y seguras, aunque de acuerdo con la fuente de la cual se obtuvo el almidón usado, puede adquirir cierto grado de dulzura como en el caso del almidón de maíz, se

requiere generalmente la adición de plastificante para superar la fragilidad de esta.

Recubrimientos a base de almidón muestran favorablemente propiedades de barrera al oxígeno, extendiendo la vida útil del alimento. Sin embargo, la aplicación de coberturas de almidón está limitada por volverse frágiles en ambientes secos y pierden fuerza y propiedades de barrera a altas humedades relativas provocando que los alimentos no sean conservados de forma adecuada (Gamarra, 2017).

Goma xantana. La goma xantana se establece como un heteropolisacárido extracelular producido por fermentación del almidón de maíz por la acción de la bacteria *Xanthomonas campestris*. Dada sus características estructurales, cuenta con propiedades reológicas y de estabilidad sumamente importantes, que garantizan un amplio espectro de uso en calidad de agente espesante, de suspensión y texturizante (Aguilar, Gastón, Llopiz, & Jérez, 2005). Esta goma se diferencia de la gran mayoría de espesantes, debido a que su uso puede ser en frío, es decir, que no hace falta aplicar calor o darle un hervor para que funcione. Su potencial espesante es enorme por lo que siempre se usan cantidades relativamente pequeñas de este espesante. Una vez que esta goma ha alcanzado su nivel de espesor máximo, no variará con la temperatura a la que se encuentre el alimento; así también, la goma xantana no aporta sabor alguno y apenas añade calorías al alimento (unas 3 calorías por gramo), teniendo en cuenta que se usan cantidades realmente pequeñas del mismo (Cocinista, 2020).

Tween 80. O también conocido como Polisorbato 80 es un líquido de color amarillo, aceitoso, tensoactivo no iónico, que se obtiene a partir de la derivación de ésteres de sorbitán. Este puede ser soluble o dispersable en agua, pero difiere en solubilidades orgánicas y de aceites. Esta sustancia ha sido empleada durante mucho tiempo en diferentes industrias, en especial en la formulación de productos bioquímicos que incluyen solubilización de proteínas, sustancias emulsionantes y dispersantes de productos medicinales; así también como en la industria alimenticia. De igual manera el Polisorbato 80 proporciona estabilidad a las mezclas

de líquidos inmiscibles entre sí, evitando la sinéresis o separación de fases (producida al mezclar agua y aceite). Al ser un tensoactivo, este aumenta la solubilidad de un agente en otro, una sustancia que generalmente no se podría disolver en una solución en particular puede disolverse con el uso de un agente emulsificante como este (2VSQUÍMICOS, 2016).

Glicerol. Las películas comestibles en general necesitan tener una buena elasticidad y flexibilidad, poca fragilidad, alta resistencia y prevenir su agrietamiento durante su elaboración, manejo y almacenamiento. Por tal motivo, los plastificantes de bajo peso molecular (no volátil) típicamente son añadidos a las películas de hidrocoloide formando así soluciones para modificar la flexibilidad de estos. Comúnmente, los plastificantes son necesarios para las películas comestibles basadas en polisacáridos o proteínas; cuya cantidad añadida en coberturas varía entre 10 y 60% en peso. Los plastificantes más usados para estos fines alimenticios son: polioles como propilenglicol, glicerol, sorbitol, el glicol de polietileno, oligosacáridos (sacarosa) y el agua; sin embargo, en el caso del uso de agua, esta pierde esa capacidad con facilidad debido a la deshidratación en un ambiente de baja humedad relativa (Gamarra, 2017).

En las coberturas comestibles se puede utilizar los carbohidratos, como matriz estructural; almidones de interés como el de maíz plastificado con glicerol, polietilenglicol, e incorporado con compuestos antimicrobianos naturales como el aceite esencial de clavo. En la preparación de las coberturas comestibles se usa plastificantes, que son sustancias estables, no volátiles y con alto punto de ebullición, las cuales cambian las propiedades físicas o mecánicas del material, obteniendo de esta forma una cobertura menos frágil, más flexible, más dócil y, eventualmente, más dura y resistente; que es de vital importancia durante su manejo (Gamarra, 2017).

Requerimientos funcionales de las películas comestibles

Las películas comestibles deben presentar ciertos requerimientos funcionales que permitan controlar o reducir las causas de alteración de los alimentos a recubrir. Algunos de estos requerimientos, dependientes de la naturaleza del producto alimenticio al cual se aplica y de su principal mecanismo de deterioro son: presentar propiedades de barrera (presentar una adecuada permeabilidad al vapor de agua y solutos y una permeabilidad selectiva a gases y volátiles), deben estar libres de tóxicos y ser seguros para la salud, deben requerir una tecnología simple para su elaboración, tienen que ser un buen medio para adición de distintos aditivos (antioxidantes, saborizantes, colorantes, agentes antimicrobianos, nutrientes, probióticos y compuestos anti pardeamiento) si fuese necesario y los costos de las materias primas y de producción del recubrimiento deben ser de bajos (Gamarra, 2017).

Capítulo III

Materiales y métodos

Ubicación del lugar de investigación

El estudio se llevó a cabo en el campus de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, Hacienda El Prado, ubicado en la parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha (Figura 5). Geográficamente se localiza a $78^{\circ} 24' 44''$ LO, $0^{\circ} 23' 20''$ LS y 2748 m de altitud. La temperatura media anual es de 14°C , y la precipitación anual de 1300mm. Ecológicamente pertenece a bosque húmedo montano y su formación vegetal es el matorral altoandino o matorral húmedo montano (Arce, 2009).

Figura 5

Vista satelital de la Ubicación Geográfica del IASA I.



Nota. Representación de la ubicación donde se realizó la fase experimental del proyecto investigativo, tomado de (Google Earth, 2021).

Específicamente la preparación de las hamburguesas, el almacenamiento de las mismas, las evaluaciones físico-químicas y organolépticas se realizaron en el laboratorio de poscosecha, el cual se ubica geográficamente en la latitud 0° 23' 27,98" S y longitud 78° 24' 49,16" O; el cual cuenta con una adecuada ventilación y cuya temperatura promedio es de 16 °C, llegando a una temperatura máxima de 21 °C y mínima de 7 °C. Con respecto a la evaluación microbiológica de las películas comestibles, esta se llevó a cabo en el laboratorio de acuicultura, el cual geográficamente se ubica en la latitud 0° 23' 3,91" S y longitud 78° 24' 51.10" O (Jaramillo, 2020).

Materiales

Extracción del aceite esencial de clavo de olor por arrastre de vapor

Tabla 8

Materiales y equipos usados en la extracción del aceite esencial de clavo de olor.

| Materiales | Equipos |
|----------------------------------|------------------|
| Agua destilada | Hidro-destilador |
| Clavo de olor | Balanza digital |
| Alcohol de 70° | Cocineta |
| Recipientes de vidrio | Celular |
| Vaso de precipitación | Molino manual |
| Agua potable | |
| Recipientes de plástico con tapa | |

Nota. Detalle de los principales materiales y equipos que fueron utilizados durante este procedimiento. Tabla de autoría.

Liofilización del extracto de clavo de olor

Tabla 9

Materiales y equipos usados en la liofilización del aceite esencial de clavo de olor.

| Materiales | Equipos |
|---------------------------|-------------------------|
| Maltodextrina | Cámara de liofilización |
| Extracto de clavo de olor | Balanza digital |
| Alcohol de 70° | Nevera |
| Fundas Ziploc | Celular |
| Martillo | |
| Papel aluminio | |
| Recipientes de cristal | |

Nota. Detalle de los principales materiales y equipos que fueron utilizados durante este procedimiento. Tabla de autoría.

Preparación de las películas comestibles

Tabla 10

Materiales y equipos usados para la elaboración de las películas comestibles.

| Materiales | Equipos |
|-------------------------------|-----------------|
| Agua destilada | Balanza digital |
| Glicerina de uso comestible | Estufa |
| Alcohol de 70° | Celular |
| Almidón de maíz (maicena) | Cocineta |
| Extracto liofilizado de clavo | |

| Materiales | Equipos |
|----------------------------|----------------|
| Papel aluminio | |
| Papel encerado | |
| Moldes circulares de látex | |
| Recipientes de cristal | |
| Guantes quirúrgicos | |
| Ollas | |

Nota. Detalle de los principales materiales y equipos que fueron utilizados durante la preparación de las películas comestibles. Tabla de autoría.

Preparación de las hamburguesas

Tabla 11

Materiales y equipos usados para la elaboración de las hamburguesas.

| Materiales | Equipos |
|---|-----------------|
| Agua destilada | Balanza digital |
| Carne molida | Estufa |
| Alcohol de 70° | Celular |
| Miga para hamburguesa | Cocineta |
| Sal | Nevera |
| Papel aluminio | |
| Texturizado de soya (Carve) | |
| Condimento | |
| Guantes quirúrgicos | |
| Molde de aluminio de 5,6 cm de diámetro | |

Nota. Detalle de los principales materiales y equipos que fueron utilizados durante la preparación de las hamburguesas. Tabla de autoría.

Preparación de las unidades experimentales

Tabla 12

Materiales y equipos usados para la preparación de las unidades experimentales.

| Materiales | Equipos |
|----------------------------------|-----------------|
| Hamburguesas | Balanza digital |
| Películas comestibles | Cuarto frío |
| Alcohol de 70° | Celular |
| Recipientes grandes de plástico | |
| Recipientes pequeños de plástico | |
| Guantes de vinilo | |
| Tijeras | |
| Papel absorbente | |

Nota. Detalle de los principales materiales y equipos que fueron utilizados durante la preparación de las unidades experimentales (UE). Tabla de autoría.

Evaluación de la variable física correspondiente a pérdida de peso

Tabla 13

Materiales y equipos usados para medir la pérdida de peso de las hamburguesas.

| Materiales | Equipos |
|-------------------------|-----------------|
| Unidades experimentales | Balanza digital |
| Guantes quirúrgicos | Cuarto frío |
| Alcohol de 70° | Celular |

Nota. El peso de las unidades experimentales se tomó al día 0, 3, 6 y 9 a partir de su preparación. Tabla de autoría.

Evaluación de la variable física correspondiente a la textura

Tabla 14

Materiales y equipos usados para medir la textura de las UE.

| Materiales | Equipos |
|--------------------------------|----------------|
| Unidades experimentales | Calibrador |
| Guantes quirúrgicos | Cuarto frío |
| Alcohol de 70° | Cronómetro |
| Placas de vidrio de 25 x 25 cm | Celular |
| Pesa de 4 kg | |
| Marcador permanente | |
| Toallas de cocina | |

Nota. La textura al igual que el peso de las unidades experimentales se tomó al día 0, 3, 6 y 9 a partir de su preparación. Tabla de autoría.

Evaluación de la variable química correspondiente al pH

Tabla 15

Materiales y equipos usados para medir el pH de las muestras.

| Materiales | Equipos |
|-------------------------|----------------|
| Unidades experimentales | Potenciómetro |
| Guantes quirúrgicos | Cuarto frío |
| Agua destilada | Celular |
| Soluciones buffer | Licuada |
| Vaso de precipitación | |
| Vasos de plástico | |
| Colador | |

Nota. El pH de las unidades experimentales se tomó al día 0, 3, 6 y 9 a partir de su preparación. Tabla de autoría.

Evaluación de la variable química de contenido de ácido láctico

Tabla 16

Materiales y equipos usados para medir el % de ácido láctico de las muestras.

| Materiales | Equipos |
|-------------------------------|----------------|
| Unidades experimentales | Acidímetro |
| Guantes quirúrgicos | Cuarto frío |
| Agua destilada | Celular |
| Varilla agitadora | Licadora |
| Vaso de precipitación | |
| Vasos de plástico | |
| Fenolftaleína | |
| Hidróxido de sodio 0.1 Normal | |

Nota. El % de ácido láctico de las unidades experimentales se tomó al día 0, 3, 6 y 9 a partir de su preparación. Tabla de autoría.

Evaluación de la variable microbiológica (inhibición bacteriana)

Tabla 17

Materiales y equipos usados para medir el halo de inhibición de las películas comestibles.

| Materiales | Equipos |
|-----------------------|-------------------------|
| Carne molida | Cámara de flujo laminar |
| Películas comestibles | Agitador Vórtex |
| Agua de peptona al 1% | Celular |
| Agua destilada | Balanza |

| Materiales | Equipos |
|---------------------|----------------------|
| Agar Mueller Hinton | Cámara de incubación |
| Agar MacConkey | Micropipeta |
| Cajas petri | |
| Mechero | |
| Asa de inoculación | |
| Cinta Parafilm | |
| Autoclave | |
| Marcador permanente | |
| Guantes quirúrgicos | |

Nota. El halo de inhibición fue medido 24 horas después de la colocación de los discos de las películas comestibles en el agar Mueller Hinton. Tabla de autoría.

Evaluación organoléptica de los tratamientos

Tabla 18

Materiales y equipos usados para la evaluación organoléptica de las unidades experimentales.

| Materiales | Equipos |
|-------------------------|----------------|
| Unidades experimentales | Cocineta |
| Guantes quirúrgicos | Estufa |
| Fichas de cata | Celular |
| Sartén | |
| Platos de cartón | |
| Tenedores plásticos | |
| Botellas de agua | |

| Materiales | Equipos |
|------------------------|---------|
| Aceite de girasol | |
| Marcadores permanentes | |
| Toallas de cocina | |
| Cuchillos | |

Nota. Las unidades experimentales fueron evaluadas sensorialmente a los tres días de su preparación. Tabla de autoría.

Métodos

Extracción del aceite esencial de clavo de olor por arrastre de vapor

El proceso de extracción comenzó con la compra del clavo de olor seco en tiendas o supermercados. A continuación, se procedió a transportar el clavo de olor al laboratorio de poscosecha y molerlo de tal forma que las partículas obtenidas sean lo suficientemente grandes para que no traspasen los orificios de la malla interna del equipo de arrastre por vapor. Posteriormente, se pesó el clavo de olor obtenido y seguidamente se maceró durante 24 horas en agua destilada. En este proyecto investigativo se utilizó 200 g de clavo de olor (previamente molido) para que sea macerado en 1,5 L de agua destilada (este proceso fue realizado durante tres ocasiones usando en total 600 g de clavo, para obtener suficiente extracto) (Martínez, Morales, Xatruch, & Amey, 2015).

Seguidamente, el macerado obtenido fue colocado dentro del equipo de arrastre por vapor (tanto la parte líquida como sólida), se cerró el equipo y se encendió la cocina. En el extremo final de la manguera se puso un recipiente para medir la cantidad de extracto obtenido del proceso (vaso de precipitación de 500 ml), y en resto del cuerpo del equipo se debe verificar que el agua no se caliente (de ser el caso debe ser reemplazó la misma por agua fría) de tal forma que el vapor obtenido del proceso pueda ser condensado de forma adecuada. A partir de

que se empiece a obtener el extracto de clavo de olor es recomendable que el proceso tenga una duración de máxima de 50 minutos; sin embargo, puede llevarse a cabo hasta obtener el casi el mismo volumen de macerado que fue usado en un principio, pero con el riesgo de que el equipo se quemara. Una vez transcurrido el tiempo requerido, se procedió a medir el volumen obtenido y a guardarlo en un recipiente limpio de cristal (Martínez, Morales, Xatruch, & Amey, 2015).

Liofilización del extracto de clavo de olor

Con el extracto de clavo de olor obtenido del proceso anterior y teniendo en cuenta el volumen obtenido, se procedió a mezclarlo con maltodextrina, de tal forma que se añada el 10% de la misma con respecto al volumen del extracto. Inmediatamente, la mezcla fue agitada vigorosamente hasta que la maltodextrina haya sido incorporada por completo en la solución. A continuación, la solución obtenida fue colocada en el interior de fundas ziploc para ser congelada con la ayuda de la nevera durante un tiempo de 24 horas o hasta que se haya congelado en su totalidad. Transcurrido este tiempo y teniendo la sustancia congelada, se procedió a triturarla en pedazos pequeños, los cuales previo a su liofilización fueron ser colocados en el interior de fundas ziploc o en pequeñas bandejas de papel aluminio (GIDOLQUIM, 2014).

Seguidamente, los recipientes fueron debidamente colocados en el interior de la cámara de liofilización, y con la ayuda de unos pernos se procedió a sellar el equipo. Inmediatamente, se tuvo que configurar el equipo de tal forma que se logre liofilizar el extracto de clavo de olor en dos días consecutivos (aproximadamente 8 horas por día) (GIDOLQUIM, 2014).

Una vez transcurrido este tiempo, y procurando mantener la mayor seguridad del caso, se procedió a apagar el equipo, quitando previamente el vacío del mismo (evitando de esta forma que se generen implosiones), para proceder con su apertura. Por último, se extrajo el

extracto liofilizado (el cual contiene Eugenol) e inmediatamente se almaceno el mismo, pesándolo y etiquetando de forma adecuada (GIDOLQUIM, 2014).

Preparación de las películas comestibles

Para la adecuada elaboración de las películas comestibles fue necesario seguir la formulación presentada a continuación, debido a que en ensayos anteriores y de acuerdo a la bibliografía consultada fue la que mejores resultados presentó, en la cual los únicos ingredientes que van a variar en su porcentaje de uso van a ser el agua destilada y el liofilizado del extracto de clavo de olor, esto de acuerdo con las dosis de los tratamientos que fueron evaluados (Argueta & Trujillo, 2019).

Tabla 19

Formulación de una película comestible previamente evaluada en el laboratorio.

| Ingredientes | Porcentaje de inclusión (%) |
|-------------------------------|------------------------------------|
| Agua destilada | 93,5 – 91 – 88,5 – 86 |
| Glicerina | 2,5 |
| Almidón de maíz (maicena) | 4 |
| Extracto liofilizado de clavo | 0 – 2,5 – 5,0 – 7,5 |
| Total | 100 |

Nota. Descripción de los principales ingredientes usados en la formulación de las películas comestibles usadas en este proyecto, adaptado de (Argueta & Trujillo, 2019).

Como primer paso en la elaboración de las películas comestibles fue necesario tener todos los ingredientes descritos en la Tabla 19, al igual que los utensilios y equipos requeridos. Seguidamente, se procedió a colocar el agua destilada en el interior de un vaso de precipitación grande o en una olla de metal previamente lavada y desinfectada. Una vez realizado el paso anterior se tuvo que colocar el almidón de maíz (maicena) previamente

pesada en el agua destilada durante un tiempo de 10 minutos, para que las partículas del almidón se hidraten, provocando que en el paso siguiente tenga un adecuado proceso de gelatinización (Argueta & Trujillo, 2019).

Una vez transcurrido este tiempo, el recipiente que contiene el agua destilada con el almidón de maíz fue colocado en una fuente de calor (en el caso de la olla de metal en una cocineta, pero si se trata del vaso de precipitación en una plancha de calentamiento con agitación magnética) para que el almidón junto con el agua destilada se homogenice. Seguidamente, manteniendo una agitación constante se tuvo que esperar hasta que la mezcla se gelatinice (aproximadamente 15 minutos a partir de su colocación en una fuente de calor), para añadir gota a gota la glicerina con la finalidad de que esta se disuelva completamente en la mezcla. Una vez añadida la glicerina en la mezcla, se mantuvo en agitación durante 5 minutos para que se incorpore totalmente en la solución, la misma que a continuación fue retirarla de la fuente de calor. Dependiendo del tratamiento a ser realizado, se incluyó el extracto liofilizado de clavo en la solución tibia, y se procedió a agitarla hasta que se integre completamente en la mezcla (Argueta & Trujillo, 2019).

Consecutivamente, la mezcla líquida fue colocada en los moldes flexibles de látex, de un diámetro aproximado de 21 cm, de tal manera que se forme una película en el interior de los mismos; aproximadamente se vertió 100 ml en cada molde. Posteriormente, los moldes fueron colocados en el interior de la estufa, en la cual estuvieron a 35 °C con humedad relativa del 50%, durante dos días aproximadamente, para que las películas estén listas. Transcurrido este tiempo, los moldes fueron extraídos de la estufa, y con mucha delicadeza se procedió a retirar las películas comestibles que se formaron en su interior. Por último, las películas resultantes fueron guardadas en fundas ziploc, procurando que no absorban humedad y que estén debidamente etiquetadas de acuerdo con el tratamiento correspondiente (Argueta & Trujillo, 2019).

Preparación de las hamburguesas

Como primer paso para la preparación de las hamburguesas, fue necesario adquirir la carne molida (en este caso fue proveniente del lomo de ganado bovino, el cual posteriormente fue molido) de un lugar determinado y transportarla de forma higiénica hacia un frigorífico o nevera; de igual forma resultó indispensable tener listos todos los condimentos y moldes que van a ser usados a continuación. Seguidamente se procedió a incorporar a la carne molida todos los ingredientes presentados en la Tabla 20, respetando las cantidades indicadas (Echeverri, Rincón, López, & Restrepo, 2004).

Tabla 20

Formulación general para sazonar carne molida para hamburguesas.

| Ingredientes | Porcentaje de inclusión (%) |
|-----------------------------|------------------------------------|
| Carne molida | 94,4 |
| Miga para hamburguesa | 1,2 |
| Sal | 1,4 |
| Texturizado de soya (Carve) | 1,5 |
| Condimento | 1,5 |
| Total | 100 |

Nota. Descripción de los principales ingredientes usados en la formulación de las hamburguesas usadas en este proyecto, adaptado de (Echeverri, Rincón, López, & Restrepo, 2004).

A continuación, teniendo todo listo se procedió a mezclar todos los ingredientes de forma manual, por un periodo de 15 minutos, o hasta que la mezcla sea homogénea; Es recomendable trabajar con la carne molida a una temperatura menor de 4 °C, para que la hamburguesa se mantenga jugosa. Consecutivamente, ya con la mezcla para hamburguesas lista, se procedió a pesar porciones de aproximadamente 40 g de la mezcla para

hamburguesas y a colocarlas en moldes circulares de un diámetro de 5,6 cm para que todas mantengan un peso, grosor y diámetro uniforme, que será necesario en las evaluaciones físico-químicas y organolépticas. Por último, las hamburguesas fueron guardadas en un congelador durante 24 horas a -3°C para su posterior uso (Echeverri, Rincón, López, & Restrepo, 2004).

Preparación de las unidades experimentales

Como primer paso, fue necesario verificar que todas las hamburguesas requeridas se encuentren listas para ser utilizadas (estás tuvieron que estar congeladas debido a que su manipulación se facilita); de igual forma resulta indispensable tener todas las películas comestibles (con las formulaciones requeridas) previo a la preparación de las unidades experimentales, debido a que estos materiales fueron indispensables para el establecimiento del proyecto investigativo (Echeverri, Rincón, López, & Restrepo, 2004).

Con todo listo, a continuación, las hamburguesas fueron ser extraídas de la nevera (preferiblemente solo las que se van a utilizar durante ese día); todo esto de acuerdo con la disposición de los tratamientos, teniendo en cuenta las normas de higiene pertinentes. Una vez sacadas del congelador las hamburguesas, se procedió a cubrirlas en su totalidad con las películas comestibles; con las dosis de extracto de clavo de olor de acuerdo con los tratamientos que fueron planteados.

Seguidamente, las unidades experimentales fueron colocadas en recipientes plásticos pequeños, los cuales fueron introducidos en recipientes plásticos grandes (cada recipiente grande almacenó tres recipientes pequeños de un mismo tratamiento), y se procedió a almacenarlos en refrigeración a 7°C para su posterior evaluación, la cual fue a los tres, seis y nueve días a partir de su almacenamiento. Por último, las unidades experimentales fueron distribuidas en forma de un diseño completamente al azar, para sus posteriores evaluaciones.

Evaluación de la variable física correspondiente a pérdida de peso

Las hamburguesas con las películas (unidades experimentales) comestibles fueron pesadas en una balanza al inicio y cada tercer, sexto y noveno día del experimento; y se calculó la pérdida de peso mediante la ecuación presentada a continuación (Guzmán, Acevedo, Romero, & Estrada, 2014).

$$\text{Pérdida de peso} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

Para esto se tuvo que proceder de la siguiente forma; primeramente, las hamburguesas fueron retiradas del frigorífico, verificando que este sea cerrado de forma adecuada durante y después de extraer las hamburguesas. A continuación, se procedió a pesar cada una de las muestras, tomando fotografías y anotando los pesos de las mismas en el cuaderno de campo. Por último, se volvió a guardarlas en el frigorífico para sus posteriores evaluaciones (Guzmán, Acevedo, Romero, & Estrada, 2014).

Evaluación de la variable física correspondiente a la textura

La textura de las unidades experimentales se evaluó en base a los diámetros obtenidos después de aplicar un peso de 4 kg en todas las repeticiones de cada uno de los tratamientos. Es decir, esta variable permite establecer la resistencia a la deformación aparente que tiene la muestra al aplicársele un peso conocido en un periodo de tiempo previamente establecido. Para trabajar con muestras homogéneas previamente se usó una balanza electrónica para regular el peso de cada hamburguesa (aproximadamente 40 g), al igual que un molde para asegurar que todas tengan la misma forma y el mismo diámetro (aproximadamente 5,6 cm). Para lograr esto cada hamburguesa fue colocada entre dos placas de vidrio, y consecutivamente se aplicó un peso conocido (4 kg) en la placa superior durante 5 minutos;

transcurrido este tiempo se procedió a medir con ayuda de un calibrador el diámetro total de las hamburguesas, esto se realizó al tercer, sexto y noveno día de evaluación (Sánchez, 2015).

Evaluación de la variable química correspondiente al pH

Como primer paso, fue necesario que las hamburguesas sean extraídas del frigorífico en los días indicados previamente, verificando que estén debidamente etiquetadas. A continuación, se procedió a calibrar el pH metro o potenciómetro, con ayuda de las soluciones buffer; después de esto se tuvo que lavar el sensor del equipo con agua destilada y colocarlo en un lugar adecuado hasta su uso. Una vez que las hamburguesas fueron extraídas del frigorífico y el potenciómetro estuvo debidamente calibrado, se procedió a extraer 10 g de cada hamburguesa teniendo en cuenta el tratamiento correspondiente (Pérez & Ponce, 2013).

Seguidamente, se colocó los 10 g que fueron previamente extraídos en 100 ml de agua destilada (esto se realiza con cada uno de los tratamientos que se pretenden evaluar) y se procedió a homogenizar la muestra con ayuda de la licuadora o el procesador de alimentos. Una vez que la muestra se encontró totalmente homogénea, se procedió a colar la misma para que todos los tejidos que no se incorporaron a la mezcla sean descartados; a continuación, en la muestra ya colada se procedió a colocar el sensor del pH metro hasta que los valores que se presenten en el equipo se mantengan estables hasta por lo menos 10 segundos. Por último, se tomó las fotografías correspondientes y se anotó los valores presentados en el equipo en el cuaderno de campo (Pérez & Ponce, 2013).

Evaluación de la variable química de contenido de ácido láctico

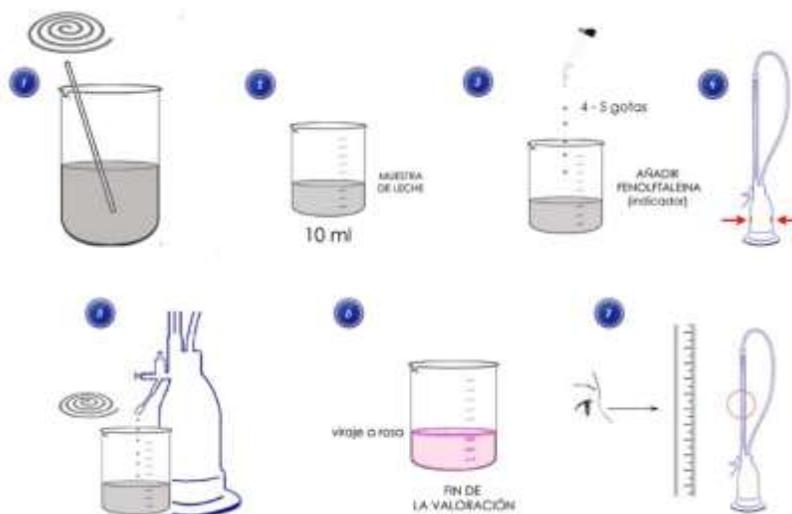
Como primer paso, resultó indispensable mezclar con una varilla agitadora la muestra de carne molida que fue previamente licuada para medir el pH, con la finalidad de que se homogenice. A continuación, se vertió 25 ml de la muestra en un vaso de precipitación o en un

recipiente previamente etiquetado con el tratamiento correspondiente. Seguidamente en los 25 ml de muestra se añadió 2 gotas de fenolftaleína y se tuvo que agitar durante un tiempo aproximado de 1 minuto hasta que esté completamente incorporada en la muestra (López, Velo, & Jara, 2015).

Consecutivamente, fue necesario enrasar la bureta del acidímetro, para esto se tuvo que presionar el frasco de plástico hasta que el hidróxido de sodio 0,1 Normal se encuentre a ras del 0 en la bureta. A continuación, se colocó el vaso de precipitación (que contiene los 25 ml de la muestra) en la parte inferior de la bureta y se dejó caer gota a gota el hidróxido de sodio en la muestra agitando al mismo tiempo el vaso de precipitación. La valoración concluyó cuando apareció una coloración rosa débil en la muestra, que debe persistir al menos durante unos segundos.

Figura 6

Esquema de determinación de acidez por titulación.



Nota. Representación gráfica del proceso de determinación del porcentaje de ácido láctico por titulación, adaptado de (López, Velo, & Jara, 2015).

Una vez que la coloración de la muestra cambió, se realizó la lectura del valor de la bureta de los ml de hidróxido de sodio 0,1 Normal que fueron gastados y a continuación se aplicó la ecuación para productos sólidos ajustada para calcular % de ácido láctico (López, Velo, & Jara, 2015).

$$\% \text{Acidez (ácido láctico)} = \frac{V_1 \times N_1 \times M}{V_2}$$

En la cual: V_1 es el volumen de la solución de NaOH 0,1N gastado en la titulación de la muestra en ml; N es la normalidad de la muestra de NaOH (0,1N); M es el peso molecular del ácido representativo (ácido láctico 90,08); y V_2 es el volumen de la muestra tomada para el análisis (López, Velo, & Jara, 2015).

Evaluación de la variable microbiológica (inhibición bacteriana)

Cultivo bacteriano. Primeramente, para obtener el cultivo general de las bacterias presentes en la carne molida, se procedió a pesar 2,5 g de la muestra de carne molida empleada en las hamburguesas y depositarla en una caja petri hasta su uso. A continuación, se agregó 22,5 ml de agua de peptona al 1% en un tubo eppendorf de 50 ml y seguidamente se agregaron los 2,5 g de la carne molida que fue pesada previamente. Seguidamente, el tubo fue agitado durante 10 minutos en un agitador vórtex para que los microorganismos presentes en la carne se liberen en el agua de peptona. A continuación, el agua de peptona con los microorganismos fue transportada a la cámara de flujo laminar para su siembra en las cajas petri que contienen el medio de cultivo agar MacConkey. Inmediatamente, con ayuda de una micropipeta se colocó 0,1 ml del caldo de peptona en cada placa petri que contiene el medio agar MacConkey. Por último, se procedió a estriar el caldo de peptona en las cajas petri, se sellaron las mismas con cinta Parafilm y se pusieron a incubar durante 24 horas a 36 °C (Jiménez, Chaidez, & León, 2012).

Antibiograma. Para la determinación del efecto antibacteriano de las películas comestibles con el extracto de clavo de olor, se utilizó el test llamado de inhibición bacteriana, propuesto por (Pumarola, Espias, & Canalda, 1989); el cual es una técnica de difusión en agar, que comparte una gran similitud con el antibiograma, sin embargo, en este caso se reemplazó a los sensidiscos comunes por discos de la película comestible con las distintas dosis del extracto liofilizado de clavo, para depositarlas en el agar previamente inoculado con las bacterias presentes en la carne molida, de tal forma que se pueda medir el halo de inhibición en cada tratamiento (Pumarola, Espias, & Canalda, 1989).

Para esto, previamente se prepararon cuatro cajas petri con agar Mueller Hinton (el cuál es comúnmente utilizado para pruebas de susceptibilidad a antibióticos) y el cultivo bacteriano previamente realizado que presentaba colonias bacterianas. Primeramente, en la cámara de flujo laminar, se colocaron en dos tubos eppendorf de 1,5 ml, aproximadamente 1 ml de agua de peptona al 1% con ayuda de la micropipeta. A continuación, se realizó un raspado de las colonias bacterianas que se encontraban presentes en el medio de agar MacConkey que fue sembrado 24 horas atrás, e inmediatamente fueron depositadas en los tubos eppendorf con el agua de peptona. Seguidamente los cuatro tubos fueron agitados durante 5 minutos en un agitador vórtex para que los microorganismos presentes se liberen en el agua de peptona. A continuación, el agua de peptona con los microorganismos fue transportada a la cámara de flujo laminar para su siembra en las cajas petri que contienen el medio de cultivo agar Mueller Hinton. Inmediatamente, con ayuda de una micropipeta se colocó 0,1 ml del caldo de peptona en cada placa petri que contiene el medio de cultivo. Por último, se procedió a estriar el caldo de peptona en las cajas petri, se colocaron los discos de las películas comestibles (etiquetándolos de forma adecuada con forme al tipo de tratamiento), se sellaron las cajas petri con cinta Parafilm y se pusieron a incubar durante aproximadamente 24 horas a 36 °C, para su lectura (Pumarola, Espias, & Canalda, 1989).

Evaluación organoléptica de los tratamientos

Para la realización del análisis sensorial de las unidades experimentales (hamburguesas con las películas comestibles), las personas a cargo de las catas fueron estudiantes de la materia de poscosecha; para lo cual se emplearon seis hombres y seis mujeres; puesto que debido al tiempo dispuesto para este análisis resulta inadecuado capacitar personas sin un previo conocimiento del tema o que sean las suficientes para el día dispuesto para las degustaciones. En este caso el proceso de selección de los participantes se limitó a preguntar quien se encuentra interesado en participar del análisis, considerando que deben ser el mismo número de hombres y de mujeres (Jaramillo, 2020).

El entrenamiento de los catadores consistió en una charla o capacitación previa a la degustación, en la que se explicó en que consiste la evaluación sensorial, el tema del proyecto investigativo y la ficha de cata que deberá de ser llenada de forma individual por cada uno de los participantes (cada parámetro tuvo una calificación de 1 a 5, siendo 1 el valor más bajo de gusto y 5 el valor más alto de aceptación del tratamiento); es así que se buscó lograr que los participantes desarrollen este análisis de la forma más adecuada posible, sin que exista problemas originados por la falta de conocimiento o por una inadecuada falta de seriedad con respecto a lo que se quiso lograr, puesto que objetivo de la degustación fue generar la información suficiente y fidedigna, que permita establecer cuál de los tratamientos de las películas comestibles empleadas en hamburguesas muestra el mayor grado de aceptabilidad por parte del público en general.

A continuación, fue necesario adecuar el aula de clases con la finalidad de que se asemeje a una sala de cata, para esto se realizó una limpieza general de las instalaciones (aula, sillas, pupitres y ventanas), de tal forma que los evaluadores se sientan de la forma más cómoda posible, sin que existan distracciones de ningún tipo durante la evaluación sensorial de las unidades experimentales. Consecutivamente, los pupitres y sillas fueron distribuidos de tal

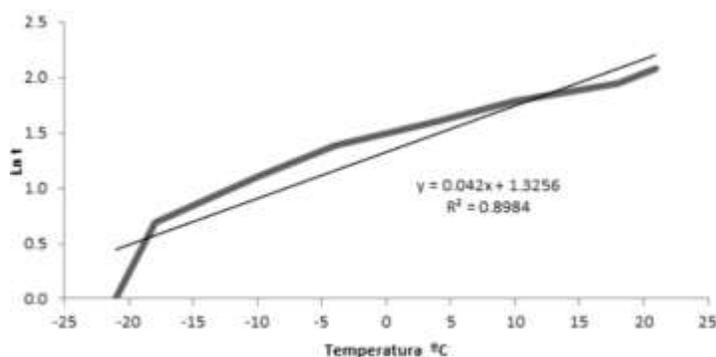
forma que no se encuentren muy juntos, puesto que, así se impidió de mejor forma la interacción entre los participantes, con la finalidad que los resultados de sus fichas de cata sean lo más subjetivas posibles. Con respecto a los tratamientos evaluados (hamburguesas con películas comestibles), estos fueron colocados en cada pupitre en recipientes previamente etiquetados con códigos; al igual que botellas de agua para que los participantes puedan hidratarse si así lo desean; y las fichas de evaluación sensorial.

Evaluación de la vida útil de la carne molida bajo refrigeración

Con respecto a la determinación de la vida útil aproximada de las hamburguesas que fueron almacenadas para sus respectivas evaluaciones a una temperatura promedio de 7,5 °C, se empleó la ecuación de regresión lineal planteada por (Terrazas, Roca, & Zumbado, 2017); en la cual de acuerdo a la temperatura de almacenamiento se puede estimar la vida útil (en días) de las mismas; puesto que, debido a inconvenientes con los tiempos de almacenamiento y toma de muestras fue imposible realizar los recuentos bacterianos de las unidades experimentales. Por tal razón se optó por evaluar la parte microbiológica por antibiogramas.

Figura 7

Vida de anaquel para el parámetro Q10 de hamburguesas.



Nota. Regresión lineal para la determinación de la vida útil de hamburguesas almacenadas en refrigeración, adaptado de (Terrazas, Roca, & Zumbado, 2017).

Diseño experimental

Variables de respuesta físico-químicas

Para la evaluación de las variables físicas (% de pérdida de peso y textura) y químicas (pH y % de ácido láctico) de respuesta, se realizó un diseño completamente al azar (DCA) cuya estructura de tratamientos fue de un diseño en parcela dividida (5 tratamientos x 3 días de evaluación) con tres repeticiones, siendo la unidad experimental cada hamburguesa recubierta o no con las películas comestibles formuladas con distintos porcentajes de extracto liofilizado de clavo de olor. A continuación, en la Tabla 21 se detallan los tratamientos con sus respectivos factores involucrados y en la Figura 8 su distribución. El modelo matemático que se aplicó para este tipo de diseño fue:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + \delta k(i) + D_j + (R * D)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

En el cual; Y_{ijk} : Variable de respuesta evaluada (% pérdida de peso, textura, pH, % ácido láctico); μ : Media general; R_i : Parcela grande (películas comestibles con distintas concentraciones de extracto liofilizado de clavo); $\delta k(i)$: Error para la parcela grande; D_j : Parcela pequeña (Días de evaluación); $(R * D)_{ij}$: Interacción entre la parcela grande y la parcela pequeña; y ϵ_{ijk} : Error para la parcela pequeña.

Tabla 21

Tratamientos en los que fueron evaluados sus variables físico-químicas.

| Tratamientos | Parcela grande | Parcela pequeña |
|--------------|-------------------------|-----------------|
| T0 | Sin película comestible | 3er día |
| | | 6to día |
| | | 9no día |
| T1 | Película + 0% de Clavo | 3er día |
| | | 6to día |
| | | 9no día |

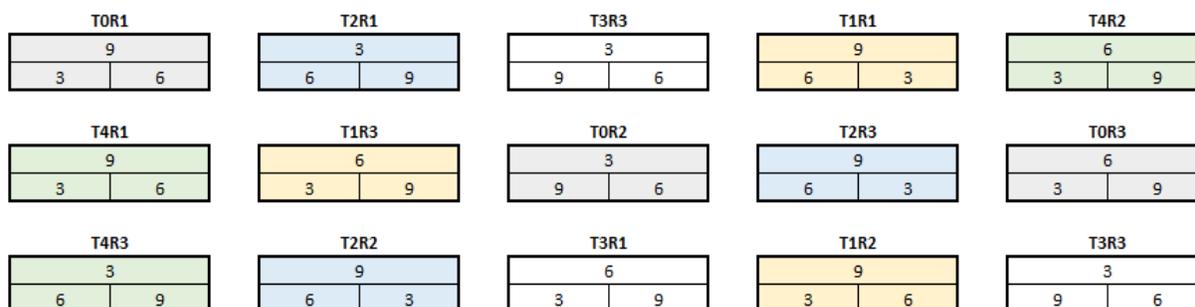
| Tratamientos | Parcela grande | Parcela pequeña |
|--------------|--------------------------|-----------------|
| T2 | Película + 2,5% de Clavo | 3er día |
| | | 6to día |
| | | 9no día |
| T3 | Película + 5% de Clavo | 3er día |
| | | 6to día |
| | | 9no día |
| T4 | Película + 7,5% de Clavo | 3er día |
| | | 6to día |
| | | 9no día |

Nota. Descripción de la forma en la que se conformó cada uno de los tratamientos evaluados. Tabla de autoría.

Una vez que se tuvieron todos los datos, estos fueron procesados por medio del análisis de varianza correspondiente (ANOVA) y se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de confianza del 95%, en el software estadístico Infostat.

Figura 8

Croquis experimental de la distribución de las unidades experimentales en el cuarto frío.



Nota. Distribución de los tratamientos indicados en la Tabla 10, en el cuarto frío a una temperatura media de 7,5 °C con tres repeticiones cada uno. Gráfico de autoría.

Variable de respuesta microbiológica

Con respecto a la evaluación de la variable de respuesta microbiológica (diámetro del halo de inhibición de las películas comestibles), se realizó un diseño completamente al azar (DCA) unifactorial con cuatro repeticiones, siendo la unidad experimental cada película comestible formulada con distintos porcentajes de extracto liofilizado de clavo de olor. A continuación, en la Tabla 22 se detallan los tratamientos con sus respectivos factores involucrados y en la Figura 9 su distribución en cada caja petri. El modelo matemático que se aplicó para este tipo de diseño experimental fue:

$$Y_{ij} = \mu + F_i + \varepsilon_{ij}$$

En el cual; Y_{ij} : Variable de respuesta evaluada (Inhibición bacteriana mm); μ : Media general; F_i : Efecto de la i -ésima concentración de extracto liofilizado de clavo de olor en la película comestible; y ε_{ij} : Error experimental.

Tabla 22

Tratamientos en los que fueron evaluadas sus variables microbiológicas.

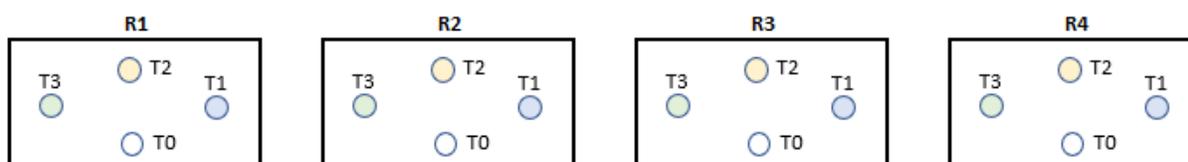
| Tratamientos | Descripción |
|---------------------|--------------------------------------|
| T0 | Película + 0% de extracto de Clavo |
| T1 | Película + 2,5% de extracto de Clavo |
| T2 | Película + 5% de extracto de Clavo |
| T3 | Película + 7,5% de extracto de Clavo |

Nota. Descripción de la manera en la que se formuló cada película comestible correspondiente a los tratamientos evaluados. Tabla de autoría.

Estos datos al igual que en las variables físico-químicas fueron procesados por medio del análisis de varianza correspondiente (ANOVA) y se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de confianza del 95%, en el software estadístico Infostat.

Figura 9

Croquis experimental de la distribución de las unidades experimentales en las placas petri.



Nota. Distribución de los tratamientos mencionados en la Tabla 22, en las cajas petri con el medio de cultivo agar Mueller Hinton, con cuatro repeticiones cada uno. Gráfico de autoría.

Evaluación organoléptica

Con respecto a la evaluación organoléptica, se realizó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) unifactorial con doce repeticiones (número de catadores), siendo la unidad experimental cada hamburguesa recubierta o no con las películas comestibles formuladas con distintos porcentajes de extracto liofilizado de clavo de olor que fueron previamente sometidas a un proceso de fritura (Jaramillo, 2020).

A continuación, en la Tabla 23 se detallan los bloques y la distribución de los tratamientos por cada uno de ellos, los cuales son los mismos que fueron descritos en la Tabla 21, sin embargo, en este caso solo se evaluó al tercer día. El modelo matemático que se aplicó para este tipo de diseño experimental fue:

$$Y_{ij} = \mu + P_i + B_j + \varepsilon_{ij}$$

En el cual; Y_{ij} : Puntaje de aceptación de los tratamientos; μ : Media general; P_i : Efecto de la i -ésima película comestible en la hamburguesa; B_j : efecto del j -ésimo bloqueo (catador) y ϵ_{ij} : Error experimental.

Tabla 23

Tratamientos en los que se evaluó su nivel organoléptico.

| Bloques (catadores) | Tratamientos | | | | | |
|---------------------|--------------|----|----|----|----|--|
| 1 | T0 | T4 | T1 | T3 | T2 | |
| 2 | T3 | T2 | T0 | T1 | T4 | |
| 3 | T1 | T4 | T2 | T0 | T3 | |
| 4 | T2 | T0 | T3 | T1 | T4 | |
| 5 | T4 | T1 | T0 | T3 | T2 | |
| 6 | T1 | T3 | T2 | T4 | T0 | |
| 7 | T4 | T2 | T0 | T1 | T3 | |
| 8 | T0 | T3 | T1 | T2 | T4 | |
| 9 | T2 | T1 | T4 | T0 | T3 | |
| 10 | T4 | T0 | T3 | T2 | T1 | |
| 11 | T3 | T1 | T4 | T0 | T2 | |
| 12 | T0 | T2 | T1 | T4 | T3 | |

Nota. Descripción de la manera en la que se distribuyó los tratamientos evaluados por cada uno de los catadores, adaptado de (Jaramillo, 2020).

Estos datos al igual que con las variables físico-químicas y microbiológicas fueron procesados por medio del análisis de varianza correspondiente (ANOVA) y se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de confianza del 95%, en el software estadístico Infostat.

Capítulo IV

Resultados y discusión

Extracción y liofilización del aceite esencial de clavo de olor

En la presente investigación debido al tiempo y a la disponibilidad de equipos con los que se contó en el laboratorio de poscosecha, previo al proceso de extracción del aceite esencial de clavo de olor, de forma teórica se evaluó la técnica a emplearse.

El mejor método de extracción de aceites esenciales es por hidrodestilación, no solo por el alto porcentaje de aceite esencial que se puede obtener en comparación del sistema de destilación Soxhlet, sino por la mayor cantidad de masa de partida que se pudo emplear en el hidrodestilador que fue de aproximadamente 200 g de clavo previamente macerado en 1,5 L de agua destilada, que es sumamente mayor al compararlo con la masa de partida del sistema Soxhlet que es de apenas 50g de clavo previamente macerado en 50 ml de agua destilada, que se describe en la Tabla 24 (Martínez, Morales, Xatruch, & Amey, 2015). Además, que, con hidrodestilación los aceites no tendrían residuales de los solventes, que sí podrían estar presentes con el método por Soxhlet.

Es así que para obtener la cantidad necesaria de extracto de clavo de olor se realizaron tres destilaciones, de las cuales se obtuvo en total 1500 ml de extracto de clavo de olor, en el cual después de su obtención, se añadió maltodextrina que serviría como matriz sólida de encapsulación del aceite esencial de clavo.

Tabla 24

Comparación del porcentaje de extracción de aceite esencial de clavo por medio de dos técnicas.

| Técnica | Masa de partida (g) | Masa del aceite extraído (g) | % de extracción |
|------------------|----------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| Hidrodestilación | 50,0 | 3,5 | 7,0 |

| Técnica | Masa de partida (g) | Masa del aceite extraído (g) | % de extracción |
|----------------|----------------------------|-------------------------------------|------------------------|
| Soxhlet | 50,0 | 2,7 | 5,4 |

Nota. Comparación entre los porcentajes de extracción resultantes de dos técnicas usadas en la obtención de aceite esencial de clavo, adaptado de (Martínez, Morales, Xatruch, & Amey, 2015).

Con respecto al método del liofilización empleado, se puede mencionar que se obtuvieron resultados satisfactorios con la cantidad de extracto liofilizado de clavo de olor que se extrajo de la cámara de liofilización, puesto que, en total se obtuvo 156 g (de aceite esencial encapsulado en la matriz sólida de maltodextrina) a partir de los 1500 ml del extracto de clavo obtenido por medio de la hidrodestilación en el que fue añadida la maltodextrina, el cual fue el suficiente para preparar las películas comestibles con las distintas dosis del mismo (en total se usó 75 g de extracto liofilizado de clavo de olor para formular todas las películas requeridas para la investigación). De igual forma, el uso de este método permitió que el aceite esencial de clavo no se volatilice ni se inactive al incluirlo en la formulación de las películas, permitiendo que tanto en la evaluación de las variables de respuesta físico-químicas y microbiológicas existan diferencias con respecto al tratamiento testigo; así también se pudo notar de forma sensorial una gran presencia del aceite esencial en el producto seco resultante del proceso de liofilización.

Evaluación de los parámetros físicos

Porcentaje de pérdida de peso

Medidas resumen. Con los datos resultantes del cálculo de la pérdida de peso de los tratamientos evaluados, fue necesario calcular la media, desviación estándar, varianza y el error experimental de los mismos.

Tabla 25

Medidas resumen del porcentaje de pérdida de peso de las UE al tercer, sexto y noveno día.

| Tratamiento | Día | Media | D.E. | Var (n-1) | E.E. |
|--------------------|------------|--------------|-------------|------------------|-------------|
| T0 | 3 | 1,180 | 0,117 | 0,014 | 0,068 |
| T1 | 3 | 1,429 | 0,290 | 0,084 | 0,167 |
| T2 | 3 | 1,497 | 0,144 | 0,021 | 0,083 |
| T3 | 3 | 1,689 | 0,423 | 0,179 | 0,244 |
| T4 | 3 | 2,273 | 0,331 | 0,109 | 0,191 |
| T0 | 6 | 2,545 | 0,099 | 0,010 | 0,057 |
| T1 | 6 | 2,581 | 0,418 | 0,175 | 0,241 |
| T2 | 6 | 2,781 | 0,222 | 0,049 | 0,128 |
| T3 | 6 | 1,952 | 0,207 | 0,043 | 0,119 |
| T4 | 6 | 4,559 | 0,455 | 0,207 | 0,263 |
| T0 | 9 | 4,459 | 0,226 | 0,051 | 0,130 |
| T1 | 9 | 4,314 | 0,449 | 0,202 | 0,259 |
| T2 | 9 | 4,393 | 0,238 | 0,057 | 0,138 |
| T3 | 9 | 4,927 | 0,187 | 0,035 | 0,108 |
| T4 | 9 | 6,097 | 0,200 | 0,040 | 0,116 |

Nota. Medidas resumen de los datos correspondientes al porcentaje de pérdida de peso calculados en el programa Infostat. Tabla de autoría.

Supuestos del análisis de varianza. Una vez que todos los datos para el análisis de esta variable fueron recolectados y de acuerdo con esto calculado el porcentaje de pérdida de peso, conforme a la metodología descrita en el capítulo anterior, se procedió a calcular los supuestos del análisis de varianza por medio de las pruebas formales de Normalidad y Homocedasticidad. De acuerdo con la prueba formal de Shapiro-Wilks representada en la Tabla 26, se acepta la H_0 por lo tanto los residuos de los datos se distribuyen de forma normal ($p = 0,4261$).

Tabla 26

Supuesto de Normalidad para el porcentaje de pérdida de peso de las UE.

| Variable | n | Media | D.E. | W* | p (unilateral D) |
|------------------------|----------|--------------|-------------|-----------|-------------------------|
| RDUO % pérdida de peso | 45 | 0,00 | 0,24 | 0,96 | 0,4261 |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Con respecto a la prueba formal de Levene para la Homocedasticidad, al igual que la normalidad los residuos absolutos de los datos aceptan la H_0 , por tal motivo la varianza de los datos es homogénea ($F = 1,45$ y $p\text{-valor} = 0,1914$), de acuerdo con lo presentado en la Tabla 27.

Tabla 27

Supuesto de Homocedasticidad para el porcentaje de pérdida de peso de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 0,33 | 14 | 0,02 | 1,45 | 0,1914 |
| Tratamiento | 0,33 | 14 | 0,02 | 1,45 | 0,1914 |
| Error | 0,49 | 30 | 0,02 | | |
| Total | 0,83 | 44 | | | |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Análisis de varianza (ANOVA). Existe una interacción significativa entre el tratamiento y el día de evaluación, con respecto a la variable de respuesta porcentaje de pérdida de peso ($F = 8.18$ y $p\text{-valor} = 0.0001$) de acuerdo con lo presentado en la Tabla 28.

Tabla 28

Análisis de varianza para el porcentaje de pérdida de peso de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 100,79 | 24 | 4,20 | 68,02 | <0,0001 |
| Tratamiento | 16,29 | 4 | 4,07 | 31,00 | <0,0001 |
| Tratamiento>Repetición | 1,31 | 10 | 0,13 | 2,13 | 0,0722 |
| Día | 79,15 | 2 | 39,57 | 640,96 | <0,0001 |
| Tratamiento*Día | 4,04 | 8 | 0,50 | 8,18 | 0,0001 |
| Error | 1,23 | 20 | 0,06 | | |
| Total | 102,03 | 44 | | | |

Nota. Análisis de varianza para un diseño completamente al azar, en parcela dividida con tres repeticiones. Tabla de autoría.

El tratamiento que presentó un mayor porcentaje de pérdida de peso fue el T4 al día 9 de refrigeración con 6.10% con respecto al tratamiento T3 en el día 6 el cual perdió 1.95% del peso, de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey con un $\alpha = 0.05$, que se presenta en la Tabla 29 y se representa gráficamente en la Figura 10.

Tabla 29

Prueba de comparación de medias de Tukey para el porcentaje de pérdida de peso de las UE.

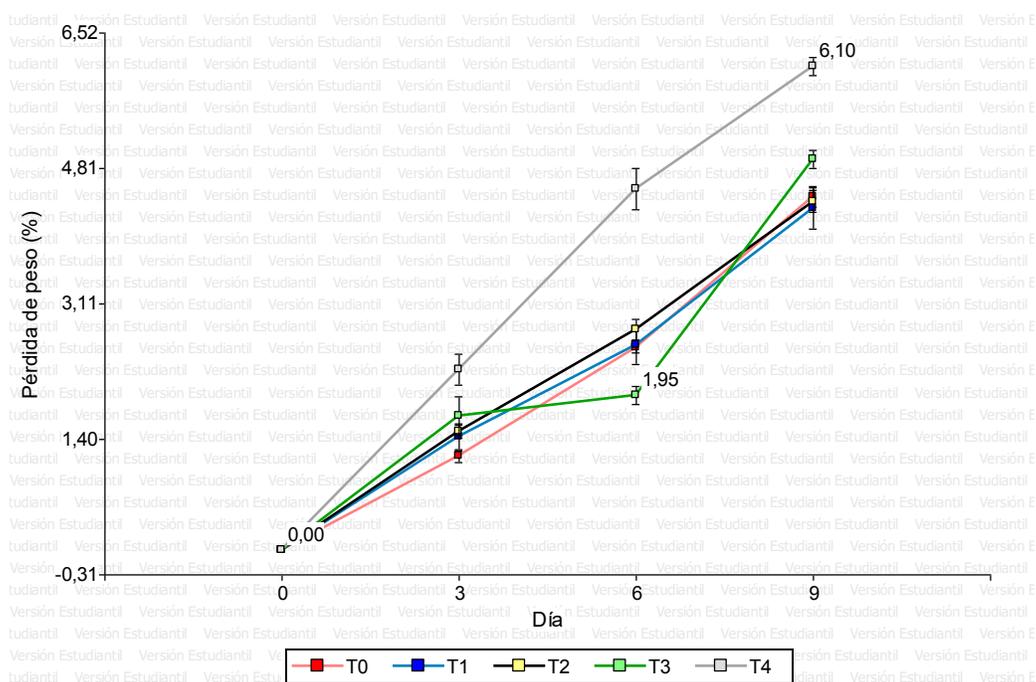
| Tratamiento | Día | Medias | n | E.E. | |
|--------------------|------------|---------------|----------|-------------|-----|
| T4 | 9 | 6,10 | 3 | 0,14 | A |
| T3 | 9 | 4,93 | 3 | 0,14 | B |
| T4 | 6 | 4,56 | 3 | 0,14 | B |
| T0 | 9 | 4,46 | 3 | 0,14 | B |
| T2 | 9 | 4,39 | 3 | 0,14 | B |
| T1 | 9 | 4,31 | 3 | 0,14 | B |
| T2 | 6 | 2,78 | 3 | 0,14 | C |
| T1 | 6 | 2,58 | 3 | 0,14 | C D |

| Tratamiento | Día | Medias | n | E.E. | | | | |
|-------------|-----|--------|---|------|---|---|---|---|
| T0 | 6 | 2,55 | 3 | 0,14 | C | D | | |
| T4 | 3 | 2,27 | 3 | 0,14 | C | D | E | |
| T3 | 6 | 1,95 | 3 | 0,14 | | D | E | F |
| T3 | 3 | 1,69 | 3 | 0,14 | | | E | F |
| T2 | 3 | 1,50 | 3 | 0,14 | | | E | F |
| T1 | 3 | 1,43 | 3 | 0,14 | | | | F |
| T0 | 3 | 1,18 | 3 | 0,14 | | | | F |

Nota. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p>0,05$). Tabla de autoría.

Figura 10

Gráfico de puntos para las medias del porcentaje de pérdida de peso de las UE.



Nota. Gráfico de puntos para las medias del porcentaje de pérdida de peso de las UE vs el día de evaluación. Figura de autoría.

Textura de las unidades experimentales (UE)

Medidas resumen. Con los datos de textura en cm, tomados en los diversos días de evaluación, fue necesario calcular la media, desviación estándar, varianza y el error experimental de los mismos.

Tabla 30

Medidas resumen de la textura de las UE al tercer, sexto y noveno día.

| Tratamiento | Día | Media | D.E. | Var (n-1) | E.E. |
|--------------------|------------|--------------|-------------|------------------|-------------|
| T0 | 3 | 7,433 | 0,058 | 0,003 | 0,033 |
| T0 | 6 | 6,917 | 0,104 | 0,011 | 0,060 |
| T0 | 9 | 7,133 | 0,208 | 0,043 | 0,120 |
| T1 | 3 | 7,200 | 0,100 | 0,010 | 0,058 |
| T1 | 6 | 7,050 | 0,132 | 0,018 | 0,076 |
| T1 | 9 | 6,567 | 0,058 | 0,003 | 0,033 |
| T2 | 3 | 6,917 | 0,029 | 0,001 | 0,017 |
| T2 | 6 | 6,683 | 0,076 | 0,006 | 0,044 |
| T2 | 9 | 6,217 | 0,029 | 0,001 | 0,017 |
| T3 | 3 | 6,700 | 0,100 | 0,010 | 0,058 |
| T3 | 6 | 6,333 | 0,058 | 0,003 | 0,033 |
| T3 | 9 | 6,017 | 0,126 | 0,016 | 0,073 |
| T4 | 3 | 6,617 | 0,126 | 0,016 | 0,073 |
| T4 | 6 | 6,350 | 0,087 | 0,008 | 0,050 |
| T4 | 9 | 5,850 | 0,050 | 0,003 | 0,029 |

Nota. Medidas resumen de los datos correspondientes a la textura que fueron calculados en el programa Infostat. Tabla de autoría.

Supuestos del análisis de varianza. Una vez que todos los datos para el análisis de esta variable fueron recolectados, se procedió a calcular los supuestos del análisis de varianza por medio de las pruebas formales de Normalidad y Homocedasticidad. De acuerdo con la prueba formal de Shapiro-Wilks representada en la Tabla 31, se acepta la H_0 por lo tanto los residuos de los datos se distribuyen de forma normal ($p = 0,7861$).

Tabla 31

Supuesto de Normalidad para la textura de las UE.

| Variable | n | Media | D.E. | W* | p (unilateral D) |
|-------------------|----|-------|------|------|------------------|
| RDUO Textura (cm) | 45 | 0,00 | 0,08 | 0,97 | 0,7861 |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Con respecto a la prueba formal de Levene para la Homocedasticidad, al igual que la normalidad los residuos absolutos de los datos aceptan la H_0 , por tal motivo la varianza de los datos es homogénea ($F = 1,7899$ y $p\text{-valor} = 0,0886$), conforme con lo presentado en la Tabla 32.

Tabla 32

Supuesto de Homocedasticidad para la textura de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|--------|----|--------|--------|---------|
| Modelo | 0,0503 | 14 | 0,0036 | 1,7899 | 0,0886 |
| Tratamiento | 0,0503 | 14 | 0,0036 | 1,7899 | 0,0886 |
| Error | 0,0602 | 30 | 0,0020 | | |
| Total | 0,1105 | 44 | | | |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Análisis de varianza (ANOVA). Existe una interacción significativa entre el tratamiento y el día de evaluación, con respecto a la variable de respuesta textura medida en cm ($F= 7,23$ y $p\text{-valor}= 0.0002$), de acuerdo con lo presentado en la Tabla 33.

Tabla 33

Análisis de varianza para la textura en cm de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 8,74 | 24 | 0,36 | 36,21 | <0,0001 |
| Tratamiento | 5,20 | 4 | 1,30 | 129,37 | <0,0001 |
| Tratamiento>Repetición | 0,10 | 10 | 0,01 | 1,00 | 0,4755 |
| Día | 2,85 | 2 | 1,43 | 141,82 | <0,0001 |
| Tratamiento*Día | 0,58 | 8 | 0,07 | 7,23 | 0,0002 |
| Error | 0,20 | 20 | 0,01 | | |
| Total | 8,94 | 44 | | | |

Nota. Análisis de varianza para un diseño completamente al azar, en parcela dividida con tres repeticiones. Tabla de autoría.

El tratamiento que presentó una mayor textura fue el T0 en el día 9 de refrigeración con 7,13 cm al compararlo con los tratamientos T3 y T4 en el día 9 los cuales tuvieron 6,02 cm y 5,85 cm de textura respectivamente, de acuerdo con la prueba inexacta de Tukey con un $\alpha= 0.05$, que se presenta en la Tabla 34 y se representa gráficamente en la Figura 11.

Tabla 34

Prueba de comparación de medias de Tukey para la textura (cm) de las UE.

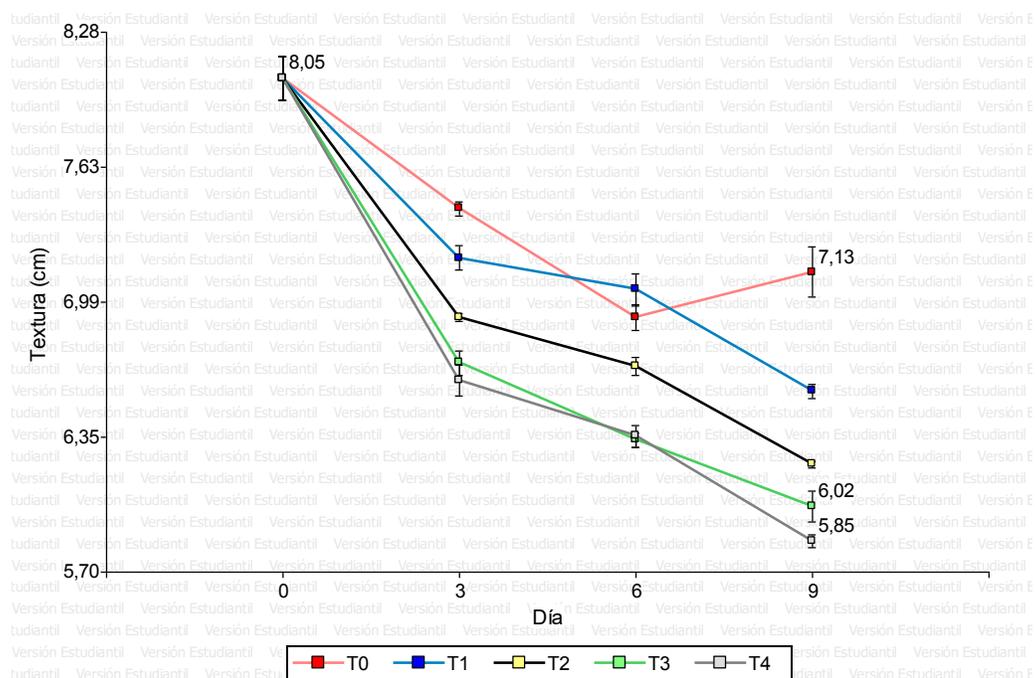
| Tratamiento | Día | Medias | n | E.E. | | | | | | | |
|--------------------|------------|---------------|----------|-------------|---|---|---|---|---|---|---|
| T0 | 3 | 7,43 | 3 | 0,06 | A | | | | | | |
| T1 | 3 | 7,20 | 3 | 0,06 | A | B | | | | | |
| T0 | 9 | 7,13 | 3 | 0,06 | A | B | | | | | |
| T1 | 6 | 7,05 | 3 | 0,06 | | B | | | | | |
| T0 | 6 | 6,92 | 3 | 0,06 | | B | C | | | | |
| T2 | 3 | 6,92 | 3 | 0,06 | | B | C | | | | |
| T3 | 3 | 6,70 | 3 | 0,06 | | | C | D | | | |
| T2 | 6 | 6,68 | 3 | 0,06 | | | C | D | | | |
| T4 | 3 | 6,62 | 3 | 0,06 | | | C | D | E | | |
| T1 | 9 | 6,57 | 3 | 0,06 | | | | D | E | | |
| T4 | 6 | 6,35 | 3 | 0,06 | | | | | E | F | |
| T3 | 6 | 6,33 | 3 | 0,06 | | | | | E | F | |
| T2 | 9 | 6,22 | 3 | 0,06 | | | | | F | G | |
| T3 | 9 | 6,02 | 3 | 0,06 | | | | | | G | H |
| T4 | 9 | 5,85 | 3 | 0,06 | | | | | | | H |

Nota. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Tabla de autoría.

Figura 11

Gráfico de puntos para las medias de la textura de las UE.



Nota. Gráfico de puntos para las medias de la textura en cm de las UE vs el día de evaluación. Figura de autoría.

Evaluación de los parámetros químicos

pH de las unidades experimentales

Medidas resumen. Con los datos de pH, tomados en los diversos días de evaluación, y gracias al programa estadístico Infostat se pudo calcular la media, desviación estándar, varianza y el error experimental de los mismos; los cuales se muestran en la Tabla 35.

Tabla 35

Medidas resumen del pH de las UE al tercer, sexto y noveno día.

| Tratamiento | Día | Media | D.E. | Var (n-1) | E.E. |
|-------------|-----|-------|--------|-----------|--------|
| T0 | 3 | 5,73 | 0,0100 | 0,0001 | 0,0058 |

| Tratamiento | Día | Media | D.E. | Var (n-1) | E.E. |
|-------------|-----|-------|--------|-----------|--------|
| T0 | 6 | 5,49 | 0,0265 | 0,0007 | 0,0153 |
| T0 | 9 | 5,70 | 0,0100 | 0,0001 | 0,0058 |
| T1 | 3 | 5,76 | 0,0115 | 0,0001 | 0,0067 |
| T1 | 6 | 5,34 | 0,0289 | 0,0008 | 0,0167 |
| T1 | 9 | 5,11 | 0,0115 | 0,0001 | 0,0067 |
| T2 | 3 | 5,77 | 0,0252 | 0,0006 | 0,0145 |
| T2 | 6 | 5,32 | 0,0252 | 0,0006 | 0,0145 |
| T2 | 9 | 4,87 | 0,0252 | 0,0006 | 0,0145 |
| T3 | 3 | 5,83 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |
| T3 | 6 | 5,35 | 0,0153 | 0,0002 | 0,0088 |
| T3 | 9 | 4,66 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |
| T4 | 3 | 5,84 | 0,0153 | 0,0002 | 0,0088 |
| T4 | 6 | 5,47 | 0,0321 | 0,0010 | 0,0186 |
| T4 | 9 | 4,74 | 0,0153 | 0,0002 | 0,0088 |

Nota. Medidas resumen de los datos correspondientes al pH calculados en el programa Infostat. Tabla de autoría.

Supuestos del análisis de varianza. Una vez que todos los datos para el análisis de esta variable fueron recolectados, se procedió a calcular los supuestos del análisis de varianza por medio de las pruebas formales de Normalidad y Homocedasticidad. De acuerdo con la prueba formal de Shapiro-Wilks representada en la Tabla 36, se acepta la H_0 por lo tanto los residuos de los datos se distribuyen de forma normal ($p = 0,2767$).

Tabla 36

Supuesto de Normalidad para el pH de las UE.

| Variable | n | Media | D.E. | W* | p (unilateral D) |
|----------|----|-------|------|------|------------------|
| RDUO pH | 45 | 0,00 | 0,02 | 0,95 | 0,2767 |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Con respecto a la prueba formal de Levene para la Homocedasticidad, al igual que la normalidad los residuos absolutos de los datos aceptan la H_0 , por tal motivo la varianza de los datos es homogénea ($F = 1,1980$ y $p\text{-valor} = 0,3264$), de acuerdo con la Tabla 37.

Tabla 37

Supuesto de Homocedasticidad para el pH de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 0,0013 | 14 | 0,0001 | 1,1980 | 0,3264 |
| Tratamiento | 0,0013 | 14 | 0,0001 | 1,1980 | 0,3264 |
| Error | 0,0024 | 30 | 0,0001 | | |
| Total | 0,0037 | 44 | | | |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Análisis de varianza (ANOVA). Existe una interacción significativa entre el tratamiento y el día de evaluación, con respecto a la variable de respuesta pH ($F = 1015,5671$ y $p\text{-valor} < 0,0001$), de acuerdo con lo presentado en la Tabla 38.

Tabla 38

Análisis de varianza para el pH de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|----------------|
| Modelo | 6,6813 | 24 | 0,2784 | 1527,7470 | <0,0001 |
| Tratamiento | 0,7211 | 4 | 0,1803 | 192,6936 | <0,0001 |
| Tratamiento>Repetición | 0,0094 | 10 | 0,0009 | 5,1341 | 0,0009 |
| Día | 4,4704 | 2 | 2,2352 | 12266,3902 | <0,0001 |
| Tratamiento*Día | 1,4805 | 8 | 0,1851 | 1015,5671 | <0,0001 |
| Error | 0,0036 | 20 | 0,0002 | | |
| Total | 6,6850 | 44 | | | |

Nota. Análisis de varianza para un diseño completamente al azar, en parcela dividida con tres repeticiones. Tabla de autoría.

Aunque todos los tratamientos inicialmente empezaron con un pH de 5,37, se pudo ver que al tercer día de evaluación los valores se incrementaron, siendo los tratamientos T3 y T4 los que obtuvieron valores más elevados (5,833 y 5,836, respectivamente) al compararlos con los tratamientos T1 y T2, los cuales tuvieron valores de pH de 5,766 y 5,773 respectivamente.

El tratamiento que presentó un mayor pH en el día 9 de refrigeración fue el T0 con 5,70 al compararlo con el tratamiento T3 en el día 9, el cual tuvo 4,66 de pH, de acuerdo con la prueba inexacta de Tukey con un $\alpha= 0.05$, que se presenta en la Tabla 39 y se representa gráficamente en la Figura 12.

Tabla 39

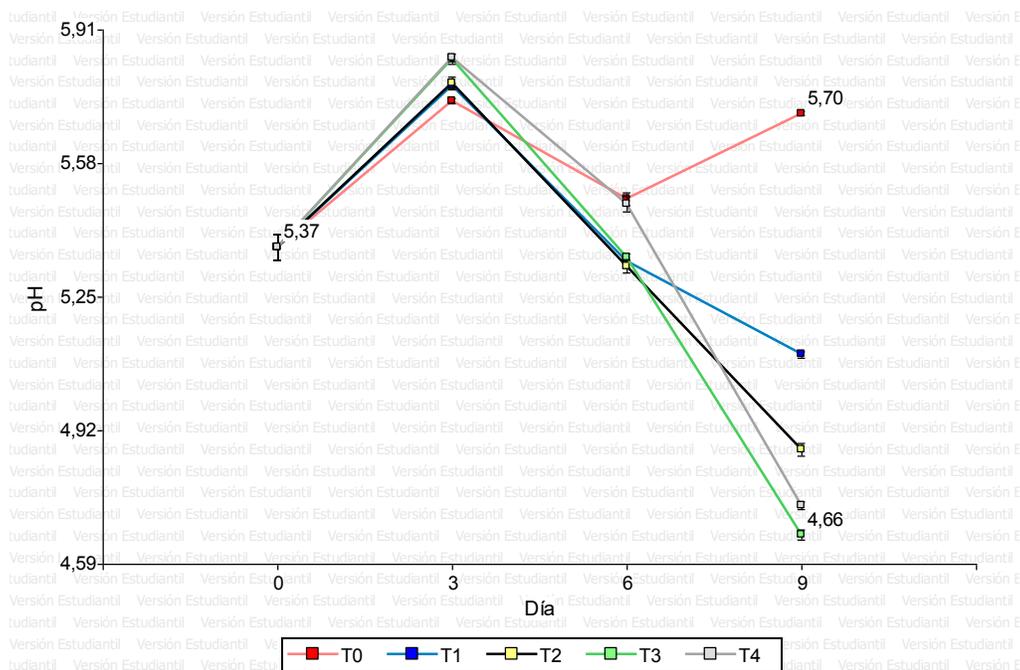
Prueba de comparación de medias de Tukey para el pH de las UE.

| Tratamiento | Día | Medias | n | E.E. | |
|-------------|-----|--------|---|--------|-----|
| T4 | 3 | 5,8367 | 3 | 0,0078 | A |
| T3 | 3 | 5,8333 | 3 | 0,0078 | A |
| T2 | 3 | 5,7733 | 3 | 0,0078 | B |
| T1 | 3 | 5,7667 | 3 | 0,0078 | B C |
| T0 | 3 | 5,7300 | 3 | 0,0078 | C D |
| T0 | 9 | 5,7000 | 3 | 0,0078 | D |
| T0 | 6 | 5,4900 | 3 | 0,0078 | E |
| T4 | 6 | 5,4767 | 3 | 0,0078 | E |
| T3 | 6 | 5,3467 | 3 | 0,0078 | F |
| T1 | 6 | 5,3367 | 3 | 0,0078 | F |
| T2 | 6 | 5,3233 | 3 | 0,0078 | F |
| T1 | 9 | 5,1067 | 3 | 0,0078 | G |
| T2 | 9 | 4,8733 | 3 | 0,0078 | H |
| T4 | 9 | 4,7367 | 3 | 0,0078 | I |
| T3 | 9 | 4,6633 | 3 | 0,0078 | J |

Nota. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p>0,05$). Tabla de autoría.

Figura 12

Gráfico de puntos para las medias del pH de las UE.



Nota. Gráfico de puntos para las medias del pH de las UE vs el día de evaluación. Figura de autoría.

Contenido de ácido láctico (%)

Medidas resumen. Con los datos del contenido de ácido láctico en porcentaje, tomados en los diversos días de evaluación y calculados de acuerdo a la metodología, se pudo calcular la media, desviación estándar, varianza y el error experimental de los mismos; los cuales se muestran en la Tabla 40.

Tabla 40

Medidas resumen del contenido de ácido láctico (%) en las UE al tercer, sexto y noveno día.

| Tratamiento | Día | Media | D.E. | Var (n-1) | E.E. |
|-------------|-----|--------|--------|-----------|--------|
| T0 | 3 | 0,7150 | 0,0104 | 0,0001 | 0,0060 |
| T0 | 6 | 0,7630 | 0,0104 | 0,0001 | 0,0060 |

| Tratamiento | Día | Media | D.E. | Var (n-1) | E.E. |
|-------------|-----|--------|--------|-----------|--------|
| T0 | 9 | 0,7870 | 0,0104 | 0,0001 | 0,0060 |
| T1 | 3 | 0,6250 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |
| T1 | 6 | 0,7450 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |
| T1 | 9 | 0,8050 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |
| T2 | 3 | 0,5647 | 0,0214 | 0,0005 | 0,0123 |
| T2 | 6 | 0,6490 | 0,0180 | 0,0003 | 0,0104 |
| T2 | 9 | 0,7090 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |
| T3 | 3 | 0,5523 | 0,0555 | 0,0031 | 0,0321 |
| T3 | 6 | 0,6970 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |
| T3 | 9 | 0,7810 | 0,0416 | 0,0017 | 0,0240 |
| T4 | 3 | 0,6010 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |
| T4 | 6 | 0,6850 | 0,0360 | 0,0013 | 0,0208 |
| T4 | 9 | 0,8170 | 0,0208 | 0,0004 | 0,0120 |

Nota. Medidas resumen de los datos correspondientes al contenido de ácido láctico en porcentaje calculados en el programa Infostat. Tabla de autoría.

Supuestos del análisis de varianza. Una vez que todos los datos para el análisis de esta variable fueron recolectados, se procedió a calcular los supuestos del análisis de varianza por medio de las pruebas formales de Normalidad y Homocedasticidad. De acuerdo con la prueba formal de Shapiro-Wilks representada en la Tabla 41, se acepta la H_0 por lo tanto los residuos de los datos se distribuyen de forma normal ($p = 0,4027$).

Tabla 41

Supuesto de Normalidad para el contenido de ácido láctico de las UE.

| Variable | n | Media | D.E. | W* | p (unilateral D) |
|--------------------|----|-------|------|------|------------------|
| RDUO Ácido láctico | 45 | 0,00 | 0,02 | 0,96 | 0,4027 |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Con respecto a la prueba formal de Levene para la Homocedasticidad, al igual que la normalidad los residuos absolutos de los datos aceptan la H_0 , por tal motivo la varianza de los datos es homogénea ($F = 1,9743$ y $p\text{-valor} = 0,0579$), de acuerdo con la Tabla 42.

Tabla 42

Supuesto de Homocedasticidad para el contenido de ácido láctico de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 0,0033 | 14 | 0,0002 | 1,9743 | 0,0579 |
| Tratamiento | 0,0033 | 14 | 0,0002 | 1,9743 | 0,0579 |
| Error | 0,0036 | 30 | 0,0001 | | |
| Total | 0,0069 | 44 | | | |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Análisis de varianza (ANOVA). Existe una interacción significativa entre el tratamiento y el día de evaluación, con respecto a la variable de respuesta contenido de ácido láctico en porcentaje ($F = 20,7298$ y $p\text{-valor} < 0,0001$). de acuerdo con lo presentado en la Tabla 43.

Tabla 43

Análisis de varianza para el contenido de ácido láctico (%) de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 0,3277 | 24 | 0,0137 | 81,5439 | <0,0001 |
| Tratamiento | 0,0692 | 4 | 0,0173 | 10,0961 | 0,0015 |
| Tratamiento>Repetición | 0,0171 | 10 | 0,0017 | 10,2269 | <0,0001 |
| Día | 0,2136 | 2 | 0,1068 | 637,968 | <0,0001 |
| Tratamiento*Día | 0,0278 | 8 | 0,0035 | 20,7298 | <0,0001 |
| Error | 0,0033 | 20 | 0,0002 | | |
| Total | 0,3310 | 44 | | | |

Nota. Análisis de varianza para un diseño completamente al azar, en parcela dividida con tres repeticiones. Tabla de autoría.

Aunque todos los tratamientos inicialmente empezaron con un contenido de ácido láctico de 0,66 %, se pudo ver que al tercer día de evaluación los valores se incrementaron,

únicamente en el tratamiento T0 llegando a alcanzar 0,715 % al compararlos con los tratamientos T3, T2, T4 y T1 los cuales tuvieron valores menores al día inicial de 0,552; 0,565; 0,601 y 0,625 respectivamente. Los tratamientos que presentaron un mayor contenido de ácido láctico en el día 9 de refrigeración fueron el T4, T1, T0 y T3 con 0,817; 0,805; 0,787 y 0,781 con respecto al tratamiento T2 en el día 9, el cual tuvo 0,709 de contenido de ácido láctico, de acuerdo con la prueba inexacta de Tukey con un $\alpha = 0.05$, que se presenta en la Tabla 44 y se representa gráficamente en la Figura 13.

Tabla 44

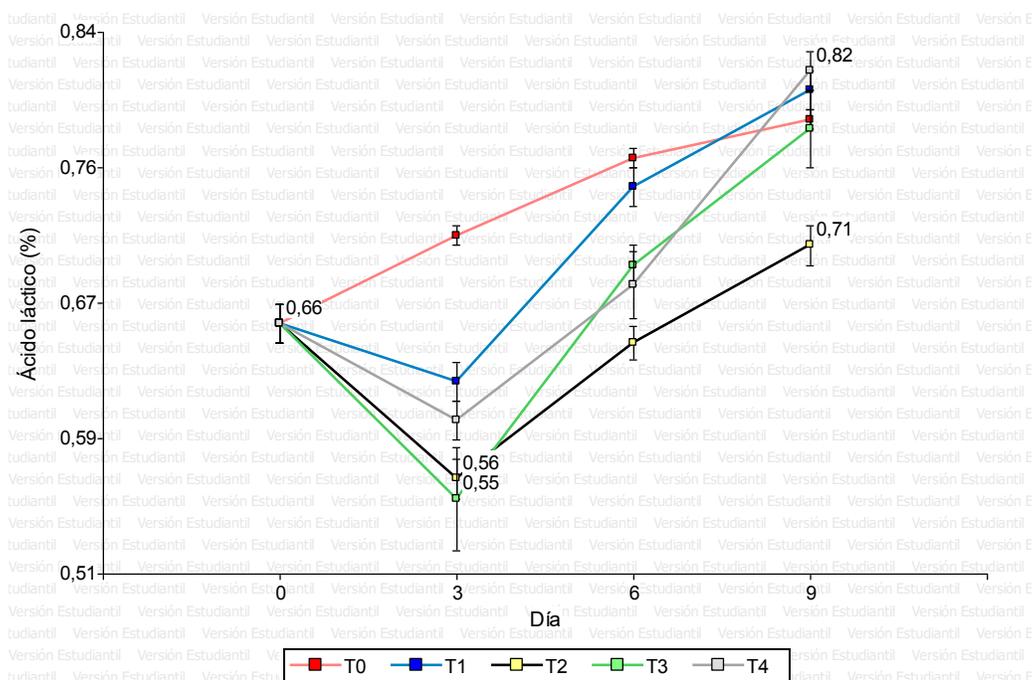
Prueba de comparación de medias de Tukey para el contenido de ácido láctico de las UE.

| Tratamiento | Día | Medias | N | E.E. | |
|-------------|-----|--------|---|--------|-------|
| T4 | 9 | 0,8170 | 3 | 0,0075 | A |
| T1 | 9 | 0,8050 | 3 | 0,0075 | A |
| T0 | 9 | 0,7870 | 3 | 0,0075 | A B |
| T3 | 9 | 0,7810 | 3 | 0,0075 | A B C |
| T0 | 6 | 0,7630 | 3 | 0,0075 | B C |
| T1 | 6 | 0,7450 | 3 | 0,0075 | C D |
| T0 | 3 | 0,7150 | 3 | 0,0075 | D E |
| T2 | 9 | 0,7090 | 3 | 0,0075 | D E |
| T3 | 6 | 0,6970 | 3 | 0,0075 | E |
| T4 | 6 | 0,6850 | 3 | 0,0075 | E F |
| T2 | 6 | 0,6490 | 3 | 0,0075 | F G |
| T1 | 3 | 0,6250 | 3 | 0,0075 | G H |
| T4 | 3 | 0,6010 | 3 | 0,0075 | H I |
| T2 | 3 | 0,5647 | 3 | 0,0075 | I J |
| T3 | 3 | 0,5523 | 3 | 0,0075 | J |

Nota. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Tabla de autoría.

Figura 13

Gráfico de puntos para las medias del contenido de ácido láctico de las UE.



Nota. Gráfico de puntos para las medias del contenido de ácido láctico de las UE vs el día de evaluación. Figura de autoría.

Coefficiente de correlación

Una vez que fueron analizados los supuestos del análisis de varianza para todas las variables de respuesta físico-químicas, y considerando que en todos los casos los datos se distribuyen de forma normal, se midió la fuerza de relación que existe entre las mismas por medio del software estadístico Infostat por medio del cálculo de los coeficientes de correlación de Pearson. Al analizar la Tabla 45 se encontró un grado de asociación negativo entre la pérdida de peso (%) y la textura (cm) de la carne de hamburguesa ($r=-0,856$ y $p\text{-valor} < 0,0001$) que se representa gráficamente en la Figura 14; asimismo, se encontró un grado de asociación positiva entre la pérdida de peso (%) y el contenido de ácido láctico (%) en las hamburguesas ($r=0,608$ y $p\text{-valor} < 0,0001$) representado gráficamente en la Figura 15; y por último se

encontró un grado de asociación negativo entre el pH y el % de ácido láctico de la carne de hamburguesa ($r=-0,63$ y $p\text{-valor} < 0,0001$) que se representa gráficamente en la Figura 16.

Tabla 45

Coefficiente de correlación de Pearson de las variables físico-químicas de respuesta.

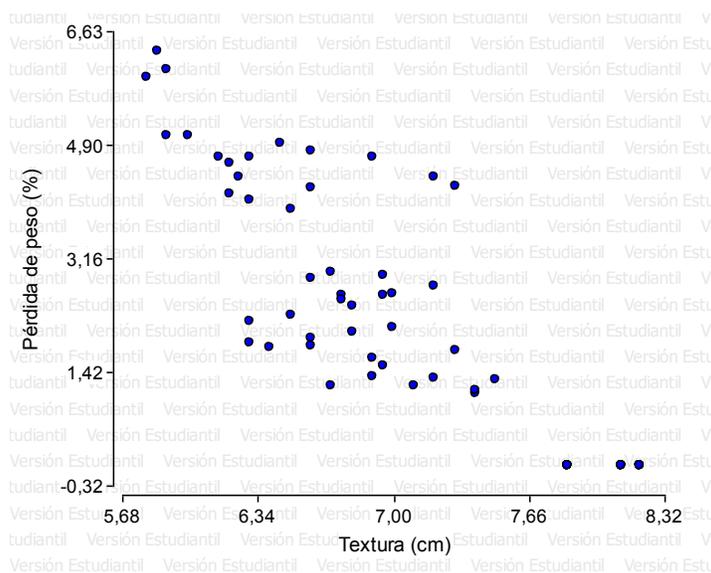
| Variable 1 | Variable 2 | n | Pearson (r) | p-valor |
|-----------------|---------------|----|-------------|----------|
| Pérdida de peso | Textura | 60 | -0,85616887 | < 0,0001 |
| Pérdida de peso | pH | 60 | -0,49833787 | 0,0001 |
| Pérdida de peso | Ácido láctico | 60 | 0,60884737 | < 0,0001 |
| Textura | pH | 60 | 0,38180281 | 0,0026 |
| Textura | Ácido láctico | 60 | -0,32779860 | 0,0106 |
| pH | Ácido láctico | 60 | -0,63055929 | < 0,0001 |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $r = 0$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si $r \neq 0$.

Tabla de autoría.

Figura 14

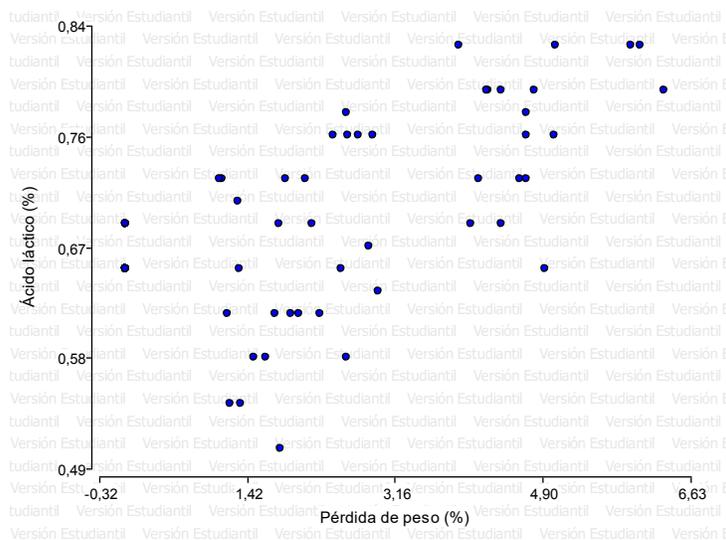
Diagrama de dispersión para la correlación entre pérdida de peso y textura.



Nota. Diagrama de dispersión para la correlación entre la pérdida de peso vs la textura de las UE. Figura de autoría.

Figura 15

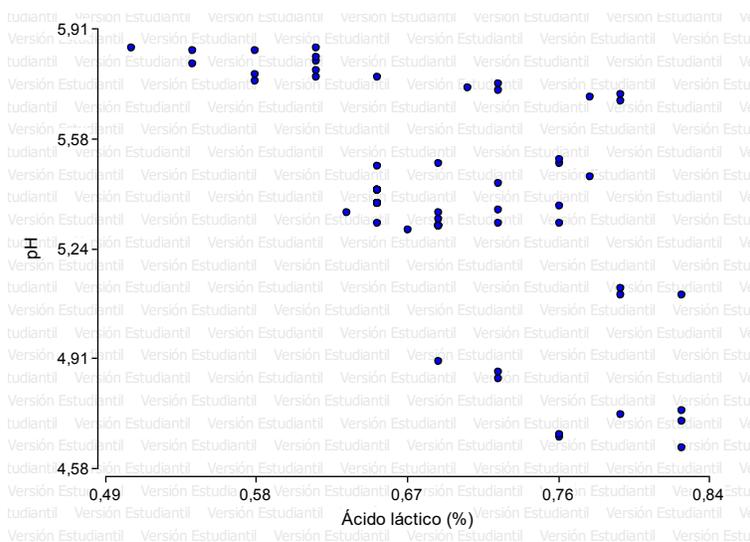
Diagrama de dispersión para la correlación entre pérdida de peso y el contenido de ácido láctico.



Nota. Diagrama de dispersión para la correlación entre la pérdida de peso vs el contenido de ácido láctico de las UE. Figura de autoría.

Figura 16

Diagrama de dispersión para la correlación entre el pH y el contenido de ácido láctico.



Nota. Diagrama de dispersión para la correlación entre el pH vs el contenido de ácido láctico de las UE. Figura de autoría.

Evaluación antimicrobiana de las películas comestibles

Halo de inhibición (antibiograma)

Medidas resumen. Con los datos de los diámetros de los halos de inhibición bacteriana en mm tomados en las cajas petri, y gracias al programa estadístico Infostat se pudo calcular la media, desviación estándar, varianza y el error experimental de los mismos; los cuales se muestran en la Tabla 46.

Tabla 46

Medidas resumen de los diámetros de los halos de inhibición de cada tratamiento.

| Tratamiento | Media | D.E. | Var (n-1) | E.E. |
|--------------------|--------------|-------------|------------------|-------------|
| T0 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| T1 | 1,375 | 0,096 | 0,009 | 0,048 |
| T2 | 1,600 | 0,082 | 0,007 | 0,041 |
| T3 | 1,925 | 0,096 | 0,009 | 0,048 |

Nota. Medidas resumen de los datos correspondientes a los diámetros de inhibición en mm calculados en el programa Infostat.
Tabla de autoría.

Supuestos del análisis de varianza. Una vez que todos los datos para el análisis de esta variable fueron recolectados, se procedió a calcular los supuestos del análisis de varianza por medio de las pruebas formales de Normalidad y Homocedasticidad. De acuerdo con la prueba formal de Shapiro-Wilks representada en la Tabla 47, se acepta la H_0 por lo tanto los residuos de los datos se distribuyen de forma normal ($p = 0,4285$).

Tabla 47

Supuesto de Normalidad para los halos de inhibición de las películas comestibles.

| Variable | n | Media | D.E. | W* | p (unilateral D) |
|------------------------------|----------|--------------|-------------|-----------|-------------------------|
| RDUO Halo de inhibición (mm) | 16 | 0,00 | 0,07 | 0,93 | 0,4285 |

Nota. La Ho se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la Hi si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Con respecto a la prueba formal de Levene para la Homocedasticidad, al igual que la normalidad los residuos absolutos de los datos aceptan la Ho, por tal motivo la varianza de los datos es homogénea ($F = 3,00$ y $p\text{-valor} = 0,0728$), conforme con lo presentado en la Tabla 48.

Tabla 48

Supuesto de Homocedasticidad para los halos de inhibición de las películas comestibles.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 0,015 | 3 | 0,005 | 3,000 | 0,0728 |
| Tratamiento | 0,015 | 3 | 0,005 | 3,000 | 0,0728 |
| Error | 0,020 | 12 | 0,002 | | |
| Total | 0,035 | 15 | | | |

Nota. La Ho se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la Hi si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Análisis de varianza (ANOVA). En este caso se acepta la Hi, por lo tanto, al menos uno de los tratamientos usados en el antibiograma difiere del resto, debido a que produjo halos de inhibición con un radio significativo para las bacterias aisladas de la carne molida ($F = 459,467$ y $p\text{-valor} < 0.0001$), de acuerdo con lo presentado en la Tabla 49.

Tabla 49

Análisis de varianza para el pH de las UE.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 8,615 | 3 | 2,872 | 459,467 | <0,0001 |
| Tratamiento | 8,615 | 3 | 2,872 | 459,467 | <0,0001 |
| Error | 0,075 | 12 | 0,006 | | |
| Total | 8,690 | 15 | | | |

Nota. Análisis de varianza para un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones. Tabla de autoría.

El tratamiento que presentó un mayor halo de inhibición fue el T3 (que contiene 7,5% de extracto liofilizado de clavo) con 1,925 mm al compararlo con el tratamiento T0 (que contiene 0% de extracto liofilizado de clavo) el cual no tuvo ningún efecto antibacteriano, de acuerdo con la prueba inexacta de comparación de medias de Tukey con un $\alpha = 0.05$, que se presenta en la Tabla 50 y se representa gráficamente en la Figura 17.

Tabla 50

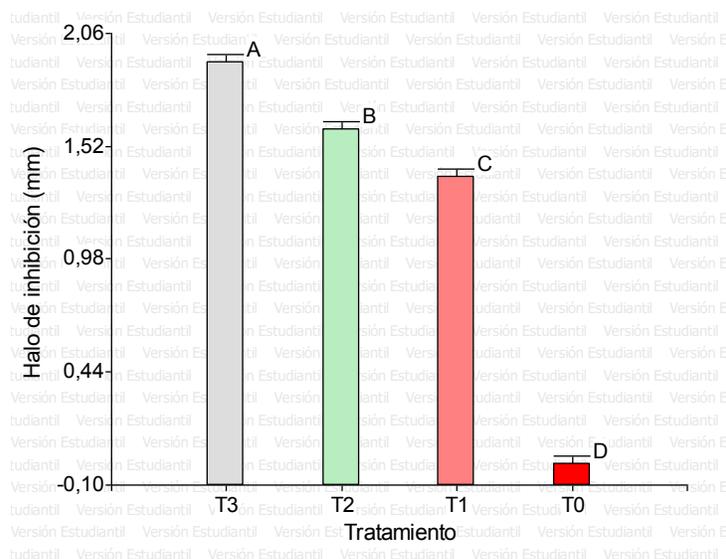
Prueba de comparación de medias de Tukey para el halo de inhibición.

| Tratamiento | Medias | n | E.E. | |
|--------------------|---------------|----------|-------------|---|
| T3 | 1,925 | 4 | 0,040 | A |
| T2 | 1,600 | 4 | 0,040 | B |
| T1 | 1,375 | 4 | 0,040 | C |
| T0 | 0,000 | 4 | 0,040 | D |

Nota. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Tabla de autoría.

Figura 17

Gráfico de barras para las medias de los halos de inhibición de las películas comestibles.



Nota. Gráfico de barras para las medias del halo de inhibición en mm de cada uno de los tratamientos evaluados. Figura de autoría.

Vida útil de la carne molida bajo refrigeración

Teniendo en cuenta que todas las variables de respuesta que fueron evaluadas en esta investigación no pueden ser utilizadas para determinar la vida útil de la carne molida usada para las hamburguesas, debido a que no pueden ser asociadas directamente a la calidad de las hamburguesas durante el transcurso del tiempo, tal y como se mencionó en el capítulo anterior se empleó la ecuación de regresión lineal planteada por (Terrazas, Roca, & Zumbado, 2017); en la cual de acuerdo a la temperatura de almacenamiento se puede estimar la vida útil (en días) de las mismas en base a recuentos bacterianos a lo largo del tiempo; es así que la vida útil de las hamburguesas para una temperatura promedio de almacenamiento de 7,5 °C es de aproximadamente 5,16 días.

$$y = 0,042x + 1,3256$$

$$\ln(t) = 0,042T + 1,3256$$

$$\ln(t) = 0,042(7,5 \text{ } ^\circ\text{C}) + 1,3256$$

$$\ln(t) = 0,315 + 1,3256$$

$$\ln(t) = 1,6406$$

$$e^{1,6406} = t \text{ (días)}$$

$$t \text{ (días)} = 5,16$$

Resumen de los mejores tratamientos

Con la finalidad de tener un mejor análisis de los resultados de las variables de respuesta físico-químicas presentadas anteriormente, en la Tabla 51 se muestran los valores de las medias con el porcentaje de pérdida de peso menor, los valores correspondientes a las mejores texturas, y el pH y contenido de ácido láctico dentro de los parámetros indicados por (Gomez, Gomez, & Martínez, 2016), que son considerados como óptimos.

Tabla 51

Resumen de los tratamientos con las mejores variables de respuesta.

| Día | Variables de respuesta | T0 | T1 | T2 | T3 | T4 |
|------------|-------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 3 | Pérdida de peso (%) | 1,18 | 1,43 | 1,50 | 1,69 | - |
| | Textura (cm) | 7,43 | 7,2 | - | - | - |
| | pH (5,5 – 6,18) | 5,73 | 5,77 | 5,77 | 5,83 | 5,84 |
| | % Ácido láctico (0,34 – 0,58) | - | - | 0,55 | 0,56 | - |
| 6 | Pérdida de peso (%) | 2,55 | 2,58 | - | 1,95 | - |
| | Textura (cm) | 6,91 | 7,05 | - | - | - |
| | pH (5,5 – 6,18) | 5,49 | - | - | - | 5,47 |
| | % Ácido láctico (0,34 – 0,58) | - | - | - | - | - |

| Día | Variables de respuesta | T0 | T1 | T2 | T3 | T4 |
|-----|-------------------------------|------|------|------|------|------|
| 9 | Pérdida de peso (%) | 4,46 | 4,31 | 4,39 | 4,93 | - |
| | Textura (cm) | 7,13 | - | - | 6,02 | 5,85 |
| | pH (5,5 – 6,18) | 5,70 | - | - | - | - |
| | % Ácido láctico (0,34 – 0,58) | - | - | - | - | - |

Nota. Variables de respuesta con los mejores promedios de acuerdo con cada tratamiento; parámetros de pH y % de ácido láctico adaptado de (Gomez, Gomez, & Martínez, 2016).

Conforme a lo presentado en la Tabla 51 el tratamiento que tuvo las mejores características físico-químicas fue el tratamiento testigo T0, sin embargo, de acuerdo con las evaluaciones realizadas en los días propuestos las unidades experimentales destinadas a este tratamiento al sexto día se encontraban con un olor desagradable y con una consistencia gomosa (al igual que el tratamiento T1, en el cual en la superficie de la película comestible se encontraban colonias bacterianas) por lo que es lógico considerarlas como descompuestas; en cambio los tratamientos T2 y T3, mantuvieron una consistencia y aroma adecuado hasta el sexto día, siendo ligeramente inadecuada al noveno día de evaluación; con respecto al tratamiento T4, se puede mencionar que aunque no tuvo las mejores características físico-químicas al compararlo con el resto de tratamientos, al noveno día de evaluación fue el único que mantuvo un aroma y consistencia adecuada, posiblemente ocasionada por el mejor grado de inhibición bacteriana que presentó esta película comestible.

Evaluación sensorial de las unidades experimentales

Cata de las hamburguesas

Medidas resumen. Con los datos de las fichas de evaluación sensorial que fueron tomadas a cada catador (considerado como bloque), y gracias al programa estadístico Infostat

se pudo calcular la media, desviación estándar, varianza y el error experimental de los mismos; los cuales se muestran en la Tabla 52.

Tabla 52

Medidas resumen del puntaje global de las fichas de evaluación sensorial.

| Tratamiento | Media | D.E. | Var (n-1) | E.E. |
|-------------|-------|-------|-----------|-------|
| T0 | 3,722 | 0,278 | 0,077 | 0,080 |
| T1 | 2,778 | 0,411 | 0,169 | 0,119 |
| T2 | 3,501 | 0,414 | 0,171 | 0,119 |
| T3 | 3,695 | 0,501 | 0,251 | 0,145 |
| T4 | 3,610 | 0,313 | 0,098 | 0,090 |

Nota. Medidas resumen de los datos correspondientes al puntaje global de las fichas de cata calculados en el programa Infostat. Tabla de autoría.

Supuestos del análisis de varianza. Una vez que todos los datos para el análisis de esta variable fueron recolectados, se procedió a calcular los supuestos del análisis de varianza por medio de las pruebas formales de Normalidad y Homocedasticidad. De acuerdo con la prueba formal de Shapiro-Wilks representada en la Tabla 53, se acepta la H_0 por lo tanto los residuos de los datos se distribuyen de forma normal ($p = 0,1558$).

Tabla 53

Supuesto de Normalidad para los puntajes globales de las fichas de cata.

| Variable | n | Media | D.E. | W* | p (unilateral D) |
|---------------------|----|-------|-------|-------|------------------|
| RDUO Puntaje global | 60 | 0,00 | 0,304 | 0,955 | 0,1558 |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p > 0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p < 0,05$. Tabla de autoría.

Con respecto a la prueba formal de Levene para la Homocedasticidad, al igual que la normalidad los residuos absolutos de los datos aceptan la H_0 , por tal motivo la varianza de los datos es homogénea ($F= 0,853$ y $p\text{-valor}= 0,4994$), conforme con lo presentado en la Tabla 54.

Tabla 54

Supuesto de Homocedasticidad para los puntajes globales de las fichas de cata.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 0,678 | 15 | 0,045 | 2,198 | 0,0218 |
| Tratamiento | 0,070 | 4 | 0,018 | 0,853 | 0,4994 |
| Bloque | 0,608 | 11 | 0,055 | 2,687 | 0,0099 |
| Error | 0,905 | 44 | 0,021 | | |
| Total | 1,583 | 59 | | | |

Nota. La H_0 se acepta debido a que el $p>0,05$, en cambio se rechaza y se acepta la H_1 si el $p<0,05$. Tabla de autoría.

Análisis de varianza (ANOVA). En este caso se acepta la H_1 , por lo tanto, al menos uno de los puntajes globales de los tratamientos evaluados difiere del resto, debido a que existe diferencias significativas entre las unidades experimentales catadas ($F= 14,877$ y $p\text{-valor} < 0,0001$), de acuerdo con lo presentado en la Tabla 55.

Tabla 55

Análisis de varianza para los puntajes globales de las fichas de cata.

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Modelo | 10,352 | 15 | 0,690 | 5,577 | <0,0001 |
| Tratamiento | 7,364 | 4 | 1,841 | 14,877 | <0,0001 |

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Bloque | 2,988 | 11 | 0,272 | 2,195 | 0,0323 |
| Error | 5,445 | 44 | 0,124 | | |
| Total | 15,797 | 59 | | | |

Nota. Análisis de varianza para un diseño de bloques completamente al azar, con doce bloques (catadores). Tabla de autoría.

Los tratamientos que presentaron un mayor puntaje global en las fichas de evaluación sensorial fueron el T0, T3, T4 y T2 con medias de 3,722; 3,695; 3,610 y 3,50 respectivamente, al compararlos con el tratamiento T1 que fue el que menos gusto a los catadores con un puntaje global de 2,778 sobre 5 puntos, de acuerdo con la prueba inexacta de comparación de medias de Tukey con un $\alpha = 0.05$, que se presenta en la Tabla 56 y se representa gráficamente en la Figura 18.

Tabla 56

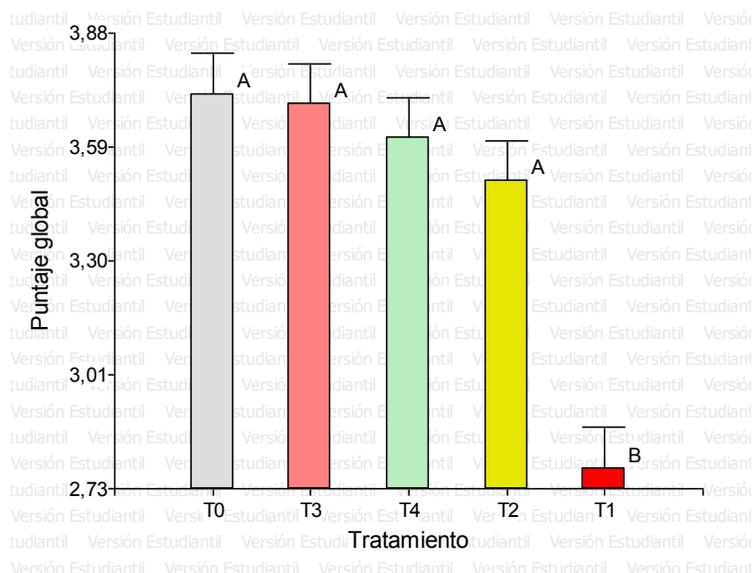
Prueba de comparación de medias de Tukey para el puntaje global de las fichas de cata.

| Tratamiento | Medias | n | E.E. | |
|--------------------|---------------|----------|-------------|---|
| T0 | 3,722 | 12 | 0,102 | A |
| T3 | 3,695 | 12 | 0,102 | A |
| T4 | 3,610 | 12 | 0,102 | A |
| T2 | 3,501 | 12 | 0,102 | A |
| T1 | 2,778 | 12 | 0,102 | B |

Nota. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). Tabla de autoría.

Figura 18

Gráfico de barras para el puntaje global de las fichas de cata.



Nota. Gráfico de barras para las medias del puntaje global de las fichas de cata con respecto a cada tratamiento. Figura de autoría.

Discusión

Con respecto al método de extracción empleado en esta investigación para la obtención del extracto de clavo de olor, se puede mencionar que el uso del hidroddestilador tuvo resultados satisfactorios al compararlo con el uso del sistema de destilación Soxhlet al igual que lo reportado por (Martínez, Morales, Xatruch, & Amey, 2015); no solo porque se puede obtener mayor cantidad de extracto con la misma masa de partida que es de 7% en el caso del hidroddestilador y 5,4% al usar el destilador Soxhlet, sino por la cantidad de la masa de partida que se puede emplear, puesto que en el hidroddestilador se pudo empezar el proceso con 200g de clavo previamente macerado en 1,5 L de agua destilada, en comparación del sistema Soxhlet, que en mejor de los casos puede iniciar con 100g de masa de partida de clavo previamente macerado en 100 ml de agua destilada.

De acuerdo con los resultados obtenidos, es incuestionable que el pH en el día de evaluación 3 en todos los tratamientos se encuentra dentro de los niveles adecuados, sin embargo, en el día 6 y 9 de evaluación los valores disminuyeron por debajo de un pH de 5,5 con excepción del tratamiento testigo, siendo evidente que la carne de los demás tratamientos se haya tornado pálida, blanda y exudativa (PSE), tal y como menciona (Gomez, Gomez, & Martínez, 2016), el cual añade que una carne más pálida de lo normal está asociada con un pH bajo, en general; concordando con lo apreciado en los tratamientos en el sexto y noveno día de evaluación.

A si mismo (Gomez, Gomez, & Martínez, 2016) con respecto al contenido de ácido láctico en la carne menciona que valores por encima de 0.58 % se deben al estrés antemortem que haya tenido el animal, explicando así el elevado contenido de ácido láctico de la carne al inicio (0.661 %), sin embargo, los valores más bajos de esta variable se obtuvieron con los tratamientos T2 y T3 al tercer día de evaluación; esto estando estrechamente ligado a la consistencia de la carne.

Con respecto al grado de asociación negativa entre las variables de respuesta contenido de ácido láctico (%) y el pH (Jurado, Montalvo, Ramírez, & Bolívar, 2011) mencionan que el contenido elevado de ácido láctico es el principal responsable de la reducción del pH y de la acción inhibitoria de microorganismos patógenos por parte de la acción antagónica de bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus acidophilus* a las cuales se les atribuye la producción de ácidos orgánicos como el ácido láctico, mostrando un efecto similar en esta investigación, debido a que en el día 3 de evaluación se pudo notar que todos los tratamientos con excepción del tratamiento testigo T0 tuvieron valores inferiores de contenido de ácido láctico al valor inicial reportado, debido en gran parte a la acción antimicrobiana de las películas comestibles que fueron formuladas con extracto de clavo de olor, en cambio todos los tratamientos mantuvieron un pH elevado en el mismo día.

En cuanto al cálculo de la vida útil de las hamburguesas almacenadas en refrigeración a 7,5 °C, se puede mencionar que se tuvo resultados satisfactorios al usar la fórmula de regresión lineal propuesta por (Terrazas, Roca, & Zumbado, 2017), debido a que teóricamente las hamburguesas almacenadas a la temperatura del experimento presente, tienen una vida útil de 5,16 días; y que en el caso de esta investigación se puede considerar que las unidades experimentales del tratamiento testigo estuvieron con signos de descomposición al sexto día de evaluación, por lo que se puede considerar que estos valores son próximos o similares, sin embargo, los tratamientos con las películas comestibles presentaron mayores signos de descomposición en días posteriores. Por esta razón para evitar posibles intoxicaciones en la evaluación sensorial se realizó solo el análisis al tercer día de almacenamiento, ya que, en este día ningún tratamiento presentó algún tipo de deterioro o descomposición; cabe indicar que todas las muestras fueron calentadas a altas temperaturas previo a la degustación.

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- Se concluye de acuerdo con los resultados obtenidos al momento de usar el método de extracción del aceite esencial de clavo por hidrodestilación o también conocido como por arrastre de vapor, que este es el más adecuado para aislar el principio activo, no solo por la cantidad de aceite esencial que se puede obtener a partir de la masa inicial de clavo de olor (la cual es de aproximadamente el 7% de acuerdo con la bibliografía utilizada), o por la cantidad de masa inicial que se puede introducir en el equipo (que fue de 200g de clavo de olor previamente macerado en 1,5 L de agua destilada), sino a que se puede obtener una cantidad significativa de extracto en un periodo corto de tiempo, que sumado al uso de la cámara de liofilización se logró obtener la cantidad necesaria para la formulación de las películas comestibles, la cual fue de 156 g de extracto liofilizado, el cual conservo las propiedades antibacterianas propias del liofilizado a base de maltodextrina que contenía al aceite esencial del clavo de olor.
- Con relación a la textura que al ser una medida de resistencia mecánica al aplastamiento antes que una medida de textura propiamente dicha, evidenciada por el desplazamiento en cm de la muestra de carne de hamburguesa, permite predecir de forma indirecta que las películas comestibles son permeables a la humedad, es decir, que cuanto más cantidad de aceite esencial de clavo con maltodextrina poseen mayor es la pérdida de peso del producto, siendo evidente en la Figura 12, al día 9 de evaluación, donde el testigo T0 presentó el mayor valor de textura en cm de deformación, seguido en orden de mayor a menor por el resto de tratamientos conforme

incrementaba la cantidad de aceite esencial liofilizado en la película comestible empleada.

- Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en cuanto a los parámetros físico-químicos, las unidades experimentales de los tratamientos T2 (hamburguesa con película comestible + 2,5 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina), T3 (hamburguesa con película comestible + 5,0 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina) y el testigo T0 (hamburguesa sin película comestible; siendo este el mejor de los tres) tuvieron las mejores medias con respecto a las variables de evaluación al tercer, sexto y noveno día; sin embargo, al considerar que el tratamiento T0 a partir del sexto día presentaba signos de descomposición, se determinó que ninguna de estas variables podía ser utilizada para el cálculo de la vida útil de las hamburguesas. Con respecto al tratamiento T4 (hamburguesa con película comestible + 7,5 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina), se puede mencionar que, aunque no tuvo las mejores características físico-químicas al compararlo con el resto de tratamientos este fue el que se mantuvo con menor grado de descomposición, puesto que, al noveno día su aroma fue el menos inadecuado, al igual que su textura y color. Por tal motivo el tratamiento T3 y T4, pueden ser considerados como los mejores, evidenciándose la acción antibacteriana del clavo presente en las películas comestibles.
- En cuanto a la vida útil de la carne molida usada en la preparación de las hamburguesas que estuvieron almacenadas en refrigeración a 7,5 °C durante su proceso de evaluación, teóricamente el cálculo realizado en base a la bibliografía consultada (que fue de una vida útil de 5,16 días) guarda una gran relación con el tratamiento testigo T0 (hamburguesa sin película comestible), puesto que, las unidades experimentales correspondientes a este tratamiento al sexto día de evaluación presentaban signos de descomposición al igual que el tratamiento T1 (hamburguesa con película comestible sin liofilizado de clavo); en cambio el tratamiento T2

(hamburguesa con película comestible + 2,5 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina) y T3 (hamburguesa con película comestible + 5,0 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina) mantuvieron una consistencia y aroma adecuado hasta el sexto día, siendo ligeramente inadecuada al noveno día de evaluación; con respecto al tratamiento T4 (hamburguesa con película comestible + 7,5 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina), se puede mencionar que al noveno día de evaluación fue el único que mantuvo un aroma y consistencia adecuada, posiblemente ocasionada por el mejor grado de inhibición bacteriana que presentó esta película comestible (tratamiento T3 en la evaluación microbiana) de acuerdo con el antibiograma realizado en el que tuvo el mayor diámetro de inhibición bacteriana, siendo este de 1,925mm.

- Con respecto a la evaluación sensorial de las unidades experimentales correspondientes a cada tratamiento, se tuvieron resultados satisfactorios, debido a que, los tratamientos que presentaron un mayor puntaje global en las fichas de evaluación sensorial fueron el T0 (hamburguesa sin película comestible), T3 (hamburguesa con película comestible + 5,0 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina), T4 (hamburguesa con película comestible + 7,5 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina) y T2 (hamburguesa con película comestible + 2,5 % de liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina) con medias de 3,722; 3,695; 3,610 y 3,50 respectivamente, al compararlos con el tratamiento T1 (hamburguesa con película comestible sin liofilizado de clavo) que fue el que menos gustó a los catadores con un puntaje global de 2,778 sobre 5 puntos. Siendo evidente que estadísticamente no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos que incluyen el liofilizado de clavo en las películas comestibles y el tratamiento testigo, por lo que el uso de este sistema de conservación de alimentos puede ser considerado como una alternativa al

uso de conservantes sintéticos en alimentos de origen animal, debido a que no interfiere en la calidad organoléptica de los mismos.

Recomendaciones

- Para próximas investigaciones es necesario realizar estudios posteriores de la cantidad del ingrediente activo (eugenol) que contiene el liofilizado de clavo encapsulado en maltodextrina, con la finalidad de realizar de forma más precisa formulaciones que puedan gozar de propiedades antibacterianas. De igual forma, se podrían probar mayores porcentajes de este aceite esencial para incrementar la vida útil de la carne de hamburguesas.
- En cuanto a los días de evaluación, es recomendable reducir los intervalos de toma de datos cada dos días, puesto que se pudo notar que existieron cambios en los variables físicas y químicas muy notables entre el día cero y el día tres; de igual forma esta evaluación debe de ser realizada en máximo ocho días, debido a que en el presente estudio la carne del noveno día ya presentaba signos de descomposición (resultando más evidente en el tratamiento testigo).
- Para posteriores investigaciones, resulta factible evaluar el comportamiento de las películas comestibles en carne de hamburguesas, sometidas a distintas temperaturas de refrigeración, puesto que, la temperatura de almacenamiento juega un papel de suma importancia en las características físico-químicas y microbiológicas de la carne. En el caso de mantenerse los tiempos de evaluación se recomienda bajar las temperaturas de almacenamiento a 2 °C para que la vida útil sea mayor.
- En cuanto a la vida útil de las hamburguesas con películas comestibles, es necesario que en futuras investigaciones se realice el recuento de aerobios mesofílicos presentes

en las unidades experimentales en múltiples días de evaluación, puesto que, de esta forma se puede determinar de forma precisa esta incógnita de la carne molida usada para la preparación de las hamburguesas de acuerdo con la temperatura de almacenamiento o el porcentaje de inclusión de extracto natural en la película comestible.

Bibliografía

- 2VSQUÍMICOS. (2016). *Tween 80 y su uso en el sector farmacéutico*. Recuperado el 29 de mayo de 2022, de <https://www.2vsq.com/post/65/tween-80-y-su-uso-en-el-sector-farmaceutico>
- Aguilar, A., & López, A. (2013). *Extractos y aceite esencial del clavo de olor (Syzygium aromaticum) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos*. Recuperado el 15 de mayo de 2022, de https://www.researchgate.net/profile/Ana-Aguilar-9/publication/339310008_Extractos_y_aceite_esencial_del_clavo_de_olor_Syzygium_aromaticum_y_su_potencial_aplicacion_como_agentes_antimicrobianos_en_alimentos/links/5e68c3524585153fb3d602ae/Extractos-y-aceit
- Aguilar, L., Gastón, C., Llopiz, J., & Jérez, A. (2005). *Estudio de termoestabilidad de goma xantano por análisis térmico y viscosimetría*. Recuperado el 29 de mayo de 2022, de <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120688009.pdf>
- Agustín, M., & Olascoaga, L. (octubre de 2020). *El clavo de olor, un viejo conocido*. Recuperado el 16 de mayo de 2022, de <https://revistauniversitaria.uaemex.mx/article/download/15548/11465/>
- Ancos, B., González, D., Colina, C., & Sánchez, C. (2015). *Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de IV y V Gama*. Recuperado el 29 de mayo de 2022, de <https://www.redalyc.org/pdf/813/81339864002.pdf>
- Andrade, A. (marzo de 2017). *Evaluación de propiedades físicas fisicoquímicas y mecánicas de hamburguesa de ovino adicionada con carragenina y aislado proteico de soya*. Recuperado el 19 de mayo de 2022, de <http://132.248.9.195/ptd2017/marzo/0756793/0756793.pdf>

Arce, M. (junio de 2009). *Normal climática y distribución de la precipitación de la hacienda El Prado-IASA*. Recuperado el 19 de mayo de 2022, de

<https://es.scribd.com/document/251338998/Datos-de-Clima-en-Salgotqui>

Argueta, M., & Trujillo, A. (junio de 2019). *Elaboración y caracterización de una biopelícula a partir de almidón de plátano verde (Musa paradisiaca) incorporando aceite de orégano (Origanum sp.) como inhibidor microbiano en la preservación de fresas empacadas*.

Recuperado el 04 de julio de 2022, de

<https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/24932/1/Elaboraci%C3%B3n%20y%20caracterizaci%C3%B3n%20de%20una%20biopel%C3%ADcula%20a%20partir%20de%20almid%C3%B3n%20de%20pl%C3%A1tano%20verde%20%28musa%20paradisiaca%29%20incorporando%20aceite%20esencial%20de%20or%C3%A9gan>

Burt, S. (03 de marzo de 2004). *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods*. Recuperado el 17 de mayo de 2022, de

https://naturalingredient.org/wp/wp-content/uploads/Burt_Essential_Oils_A_Review_2004.pdf

Chavarrías, M. (17 de febrero de 2010). *Liofilización para una mejor conservación*. Recuperado el 17 de mayo de 2022, de https://www.avideter.com/ftp_public/A2190210.pdf

Cocinista. (2020). *Xantana*. Recuperado el 29 de mayo de 2022, de Ingredientes modernos:

<https://www.cocinista.es/web/es/enciclopedia-cocinista/ingredientes-modernos/xantana.html>

Colcha, L. (2011). *Evaluación sobre buenas prácticas de manipulación y conservación de alimentos al personal que labora en el área de cocina del hospital general del cantón*

Colta provincia de Chimborazo 2010. Recuperado el 27 de mayo de 2022, de

<http://dspace.epoch.edu.ec/bitstream/123456789/9421/1/84T00090.pdf>

Cueva, J. (2017). *Actividad antifúngica "in vitro" del aceite esencial y extracto alcohólico de clavo de olor sobre Candida albicans cepa ATCC 10231*. Recuperado el 16 de mayo de 2022, de <https://1library.co/document/y6em3p7z-actividad-antifungica-esencial-extracto-alcoholico-syzygium-aromaticum-candida.html>

Echeverri, L., Rincón, S., López, J., & Restrepo, D. (03 de septiembre de 2004). *Un acercamiento al diseño de los productos carnicos bajos en grasa*. Recuperado el 19 de mayo de 2022, de Parte I. Productos de picado grueso: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v57n1/a07v57n1.pdf>

Edge, J. (2005). *Hamburgers and Fries: An American Story*. Recuperado el 18 de mayo de 2022, de Wikipedia: <https://archive.org/details/hamburgersfriesa00edge/page/n15/mode/2up>

Falguera, V., Quintero, P., Jiménez, A., Muñoz, J., & Ibarz, A. (junio de 2011). *Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use*. Recuperado el 29 de mayo de 2022, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224411000318>

Gamarra, A. (2017). *Efecto de la concentración de aceite esencial de clavo de olor en la cobertura comestible a base de gelatina-almidón y tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, recuento de mohos y levaduras y aceptabilidad general en bayas*. Recuperado el 29 de mayo de 2022, de http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/2885/1/RE_IND.ALIM_ANA.GAMARRA_ACEITE.ESENCIAL.DE.CLAVO_DATOS.PDF

García, A. (2016). *Efecto del aceite esencial de clavo de olor (Syzygium aromaticum) sobre la caracterización y vida útil de tomates (Solanum lycopersicum) frescos*. Recuperado el 04 de febrero de 2022, de <https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/661/IND-GAR-VILL-16.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- García, E. (2019). *Extractos hidroalcohólicos de Curcuma longa L. (cúrcuma) de tres regiones del Ecuador y su posible uso como antioxidante*. Recuperado el 06 de mayo de 2022, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/18822/1/T-UCE-0008-CQU-138.pdf>
- GIDOLQUIM. (04 de abril de 2014). *El proceso de la liofilización*. Recuperado el 17 de mayo de 2022, de <https://www.ub.edu/talq/es/node/261>
- Gomez, M., Gomez, N., & Martínez, J. (18 de noviembre de 2016). *Evaluación de las características organolépticas, físicas y químicas de pechuga de pollo, en San Juan de Pasto*. Recuperado el 27 de julio de 2022, de <http://vetzootec.ucaldas.edu.co/index.php/component/content/article/91-coleccion-articulos-espanol/215-evaluacion-de-las-caracteristicas-organolepticas>
- González, M., Mesa, C., & Quintero, O. (20 de octubre de 2014). *Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso*. Recuperado el 06 de mayo de 2022, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042014000300005
- Google Earth. (03 de noviembre de 2021). *Ubicación del IASA I*. Recuperado el 17 de julio de 2022, de https://earth.google.com/web/search/IASA,+Sangolqu%c3%ad/@-0.3856423,-78.4164022,2718.86699072a,1056.51552932d,35y,0h,45t,0r/data=CnsaURJLCiUweDkxZDViYmJkODY0NDg1MWI6MHhjNmM4YjJiYjZjMDI2OTY5GfQRnQpdrti_leC-aVWmmIPAKhBJQVNBLCBTYW5nb2xxdcOtGAlgASImCiQJcJQDN
- Guzmán, L., Acevedo, D., Romero, L., & Estrada, J. (04 de agosto de 2014). *Elaboración de una Película Comestible a Base de Colágeno Incorporado con Nisina como Agente Antimicrobiano*. Recuperado el 29 de mayo de 2022, de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v26n3/art04.pdf>

- Hussain, S., Rahman, R., Mushtaq, A., & Belaskri, A. (2017). *Clove: A review of a precious species with multiple uses*. Recuperado el 09 de julio de 2022, de https://www.researchgate.net/profile/Asma-El-Zerey-Belaskri/publication/337821557_Clove_A_review_of_a_precious_species_with_multiple_uses/links/5debf6d24585159aa46ba407/Clove-A-review-of-a-precious-species-with-multiple-uses.pdf
- Jaramillo, E. (2020). *Efecto de la adición de extractos antociánicos de mora de castilla (Rubus glaucus B.) y fresa (Fragaria x ananassa W.) sobre la capacidad antioxidante y aceptabilidad organoléptica en queso semi-maduro*. Recuperado el 20 de julio de 2022, de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/22056/1/T-IASAI-005592.pdf>
- Jiménez, M., Chaidez, C., & León, J. (diciembre de 2012). *Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa*. Recuperado el 20 de mayo de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-50922012000400002
- Jurado, H., Montalvo, C., Ramírez, C., & Bolívar, G. (2011). *Efecto de bioconservación de carne molida de cerdo, tipo hamburguesa con Lactobacillus acidophilus cepa ATCC 4356 y Staphylococcus carnosus NRRLO2*. Recuperado el 27 de julio de 2022, de <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/download/90/84>
- Köhler, F. (25 de enero de 2007). *Syzygium aromaticum*. Recuperado el 16 de mayo de 2022, de Wikipedia: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Syzygium_aromaticum_-_K%C3%B6hler%E2%80%93s_Medizinal-Pflanzen-030.jpg
- López, Á., Velo, D., & Jara, J. (noviembre de 2015). *Determinaciones Analíticas en Leche*. Recuperado el 10 de mayo de 2022, de <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.juntadeandalucia.es%2Fa>

griculturaypesca%2Fifapa%2Fservifapa%2Fregistro-servifapa%2Ff4c126b0-f732-480d-930e-2bb9b406f553%2Fdownload&psig=AOvVaw0MY3qGgqww6E6ai-gLnw_4&ust=1652288409885000&source=images&c

Maigua, S. (2022). *Elaboración de un acabado antimicrobiano mediante el proceso de micro encapsulación aplicando aceite de clavo de olor en medias tobilleras lisas de 100% algodón*. Recuperado el 16 de mayo de 2022, de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/12246/2/04%20IT%20295%20TRABAJO%20GRADO.pdf>

Mamani, V., & Huallpa, J. (2014). *ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y ANTIBACTERIANA in vitro DEL ACEITE ESENCIAL DE Eugenia caryophyllata (CLAVO DE OLOR) FRENTE A .C. albicans, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus y S. pyogenes*. Recuperado el 17 de mayo de 2022, de <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/3428/65.1509.FB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Martínez, M., Morales, H., Xatruch, C., & Amey, A. (15 de diciembre de 2015). *Aceite esencial de clavo de olor, Syzygium aromaticum: Análisis de la actividad microbiológica y farmacológica para el posible tratamiento contra la faringoamigdalitis estreptocócica y lesiones causadas por el acné*. Recuperado el 28 de mayo de 2022, de <https://revistas.uia.ac.cr/index.php/proveritatem/article/view/17/9>

Milind, P., & Deepa, K. (23 de enero de 2011). *Clove: A champion spice*. Recuperado el 12 de julio de 2022, de https://ijrap.net/admin/php/uploads/360_pdf.pdf

Noguera, B. (15 de septiembre de 2020). *Proceso de liofilización: Ventajas y aplicaciones*. Recuperado el 17 de mayo de 2022, de <https://www.ingenieriaquimicareviews.com/2020/09/liofilizacion-proceso-y-ventajas.html>

Osorio, N., & Yáñez, M. (agosto de 2018). *Obtención de un recubrimiento comestible a base de Mucilago de Nopal (Opuntia spp.) y Aceite Esencial de Romero (Rosmarinus officinalis)*.

Recuperado el 29 de mayo de 2022, de

<http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/5445/6/PC-000407.pdf>

Parzanese, M. (2019). *Tecnologías para la industria alimentaria*. Recuperado el 17 de mayo de 2022, de Liofilización de alimentos:

<http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Publicaciones/revistas/nota.php?id=209>

Pastrana, Y., Durango, A., & Acevedo, D. (junio de 2017). *Efecto antimicrobiano del clavo y la canela sobre patógenos*. Recuperado el 04 de febrero de 2022, de

<http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v15n1/v15n1a07.pdf>

Pérez, M., & Ponce, A. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio*. Recuperado el 17 de mayo de 2022, de Tecnología de Carnes:

<http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/carnes.pdf>

Pumarola, J., Espias, A., & Canalda, C. (1989). *Estudio comparativo de la acción antimicrobiana de diversos fondos cavitarios empleados en Odontología conservadora*.

Recuperado el 20 de mayo de 2022, de

<http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/67443/1/037840.pdf>

Ramírez, J. (enero de 2007). *Liofilización de alimentos*. Recuperado el 17 de mayo de 2022, de https://www.researchgate.net/publication/259620189_Liofilizacion_de_alimentos

Sánchez, D. (2015). *Elaboración de hamburguesas vegetarianas con diferentes productos naturales (avena, lenteja) empacadas al vacío*. Recuperado el 19 de mayo de 2022, de

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/10284/1/84T00377.pdf>

Sarabia, L. (septiembre de 2011). *Efecto del uso de Bactoferm™ LHP, Bactoferm™ F-RM-52, Bactoferm™ F-LC y Cultivo lácteo SLB 953 en la elaboración de chorizo madurado.*

Recuperado el 27 de mayo de 2022, de

<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3076/1/AL464.pdf>

Singh, J., Baghotia, A., & Goel, S. (diciembre de 2012). *Eugenia caryophyllata Thunberg*

(Family Myrtaceae): A Review. Recuperado el 15 de julio de 2022, de

https://www.researchgate.net/publication/310799727_Eugenia_caryophyllata_Thunberg_Family_Myrtaceae_A_Review

Solano, L., Alamilla, L., & Jiménez, C. (20 de agosto de 2018). *Películas y recubrimientos*

comestibles funcionalizados. Recuperado el 02 de julio de 2022, de

<https://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v21s2/2395-8723-tip-21-s2-e20180153.pdf>

Terrazas, S. D., Roca, M., & Zumbado, H. (septiembre de 2017). *Determinación de la vida útil de hamburguesa elaborada con nuez pecana conservada en atmósfera modificada.*

Recuperado el 25 de julio de 2022, de

https://www.researchgate.net/publication/348560063_DETERMINACION_DE_LA_VIDA_UTIL_DE_HAMBURGUESA_ELABORADA_CON_NUEZ_PECANA_CONSERVADA_EN_ATMOSFERA_MODIFICADA

Zhai, Y., Sun, S., Wang, Z., Zhang, Y., Liu, H., Sun, Y., . . . Yu, A. (18 de marzo de 2011).

Headspace single drop microextraction coupled with microwave extraction of essential oil from plant materials. doi:<https://doi.org/10.1002/jssc.201000629>

Enlace:

<https://drive.google.com/drive/folders/1QjOn-z0iiRlvfaNzMwVH8LFAWnHLxppW?usp=sharing>