



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

**UNIVERSIDAD DE SONORA**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos  
Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos

**Especialidad en Conservación y Procesamiento de Productos Marinos**

**Evaluación de la Migración de Catequina Contenida en Películas  
Compatibilizadas de Polietileno de Baja Densidad y su Efecto  
Antioxidante en Aceite de Pescado**

**TESIS**

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

Presenta:

**Q.B. Erika Padilla Gastelum**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

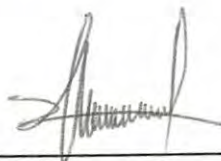


Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## APROBACIÓN

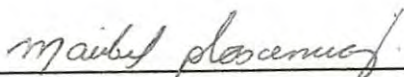
### Evaluación de la Migración de Catequina Contenida en Películas Compatibilizadas de Polietileno de Baja Densidad y su Efecto Antioxidante en Aceite de Pescado

Q.B. Erika Padilla Gastelum



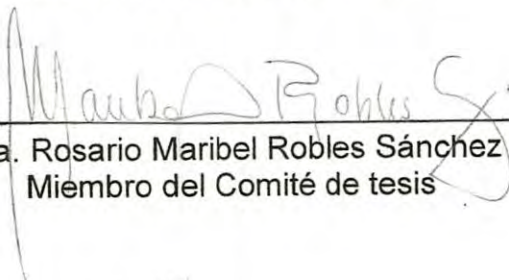
---

Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo  
Director de Tesis



---

Dra. Maribel Plascencia Jatomea  
Miembro del Comité de tesis



---

Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez  
Miembro del Comité de tesis



---

Dra. Josafat Marina Ezquerra Brauer  
Miembro del Comité de tesis

## DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Maestro en Ciencias** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador de Programa de Posgrado.

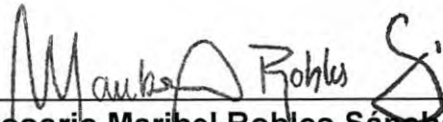
Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente



---

**QB Erika Padilla Gastelum**



---

**Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez**  
**Coordinador del Programa de Posgrado**

Hermosillo, Sonora

Junio del 2012



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi Alma Mater a la **Universidad de Sonora**, por permitirme desarrollar mis estudios, así como para poder crecer día con día como persona y profesionista.

Al **Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos**, así como a los **docentes y personal** por mantener siempre sus puertas abiertas, y permitirle a los estudiantes como yo, una oportunidad para realizar sus estudios y crecer en conocimientos.

Extiendo un agradecimiento amplio a **CONACyT**, por la beca otorgada para mis estudios de maestría.

A la Secretaría de Educación Pública y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (fondo SEP-CONACyT) por el apoyo otorgado a través del proyecto de investigación “Cinética de difusión de catequina en películas de polietileno compatibilizadas para actividad antioxidante y antimicrobiana”, clave No. 105235.

A la **Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo**, por su tiempo, apoyo, paciencia y por permitirme desarrollar mis estudios de maestría bajo su tutela.

A mis sinodales, la **Dra. Maribel Plascencia Jatomea**, **Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez** y a la **Dra. Josafat Marina Ezquerra Brauer**, por su tiempo, su apoyo y su paciencia, para apoyarme y ayudarme durante estos años.

Agradezco al **Departamento de Ciencias Químico Biológicas**, en especial al **Laboratorio de Productos Marinos**, por permitirme realizar una importante parte de la presente investigación en sus instalaciones, en especial al profesor **Cesar B. Otelo León** y al **Dr. Edgar Iván Jiménez Ruiz**, por ayudarme y darme su tiempo.

Agradezco al **Centro de Investigación en Química Aplicada**, en especial al **Dr. Saúl Sánchez Valdes**, al **Ing. Jesús Rodríguez Velázquez** y a la **M.C. Isaura Gpe. Yáñez Flores**, del **Departamento de Procesos de Transformación de Plásticos**, por brindarme el apoyo necesario durante la estancia en sus instalaciones.

Al **Departamento de Posgrado en Polímeros y Materiales**, en especial a la **Dra. María Mónica Castillo Ortega** y al **Dr. Francisco Brown Bojórquez**, por permitirme su tiempo así como el uso de sus instalaciones y equipos para el desarrollo de la investigación.

## DEDICATORIA

*“Nunca permitas que destruyan tus sueños, cree en ti, en tus propias capacidades, aunque el mundo desconfíe”.*

A **Dios** por brindarme las fuerzas necesarias para salir adelante, por ser mi guía, mi fortaleza y mi apoyo, por permitirme llegar a esta etapa de mi vida y por tantas cosas que no son posibles mencionar.

A mis **padres, Ma. Rosalba Gastelum y Víctor M. Padilla** por confiar en mí, por brindarme su apoyo ciego, y apoyarme en los tiempos de crisis.

A la **Fam. Padilla Ramírez**, por todo el apoyo que me han brindado estos años; así como a mis **abuelos**, a las **Fam. González Padilla y Padilla Bustamante**, por el apoyo moral brindado.

Dedico este trabajo a **Edissa Alejandra Jaime**, porque sin su ayuda no hubiera sido posible el terminar con tanto trabajo (esas ocasiones que no comíamos ni dormíamos por estar en el laboratorio, incluso las noches que pasamos ahí). ¡GRACIAS!.

A mis amigos, que son muchos, entre ellos **Anabel, Ramón, Karlita, Gemma, Alvaro, Jovana**, a los **chicos de artes (Dago, Diana...)**, a mis primas (**Gaby, Alma**), **Cuco, Diana**, entre muchos más, por apoyarme, prestarme material de sus laboratorios, acompañarme en mis tardes de trabajo e incluso ayudarme en



incontadas ocasiones; compartir la estancia conmigo y ser mis psicólogos al escucharme esas ocasiones. A **Coty**, a la **Dra. Marina** y a la **Dra. Robles**, por apoyarme y echarme porras.

A los compañeros que conocí en Saltillo, **Emilio, Sol** y **Juan**, por apoyarme durante mi estancia y llevarme a conocer la ciudad.

Existe una gran variedad que durante estos años hicieron un lugar especial en mi corazón, que directa o indirectamente me ayudaron, algunas de ellas ya estaban presentes en mi vida otros más, llegaron, sin embargo es imposible mencionarlos a todos pero, aunque en una hoja no pueden quedar escritos todos estos nombres, me gustaría hacerles ver que en mi quedan marcados como personas especiales.

Por ello dedico con mucho cariño a todos mi trabajo y les extiendo un infinito **¡GRACIAS!**

## RESUMEN

Entre las nuevas tendencias de conservación de alimentos susceptibles a la oxidación de lípidos se encuentra el empleo de envases activos adicionados con antioxidantes. Este sistema de envasado implica la liberación de un compuesto activo hacia la superficie del producto, como es el caso de los antioxidantes. Durante el almacenamiento de los alimentos se pueden aplicar para prevenir su deterioro por oxidación lipídica, sin embargo, debido a que los antioxidantes en su mayoría son de naturaleza polar, a diferencia de los materiales en los que se incorporan como el polietileno de baja densidad (PEBD), el comportamiento de este tipo de envases requiere mejoras, una de ellas es el uso de agentes compatibilizantes que permiten una mejor interacción entre los componentes de diferente naturaleza química. Con base a lo anterior, en el presente trabajo se desarrollaron películas plásticas a base de PEBD incorporadas con el flavonoide galato de epigallocatequina (GEGC), en dos concentraciones distintas (1 y 3%), y un agente compatibilizante (PEBD injertado con anhídrido maléico) así como sus respectivos controles libres de GEGC y de agente compatibilizante. Las películas elaboradas fueron caracterizadas en sus propiedades ópticas, mecánicas, térmicas y también se evaluó su efecto antioxidante en aceite de pescado almacenado a 40°C mediante la determinación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) e índice de peróxidos (IP). Asimismo, se determinó la liberación (migración) del antioxidante hacia un simulante de alimento graso (etanol 95%) durante 14 días a 40°C. Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica



de barrido revelaron una superficie homogénea de las películas extruídas y mediante el análisis de FT-IR se evidenció la interacción por puentes de hidrógeno entre los componentes de las películas que contenían 1% de catequina y el agente compatibilizante. La adición de GEGC así como del agente compatibilizante afectó la resistencia a la tensión, el porcentaje de elongación y la temperatura de fusión ( $p < 0.05$ ) de las películas; además proporcionó una tonalidad rosa a las películas y menor transmisión de la luz. Respecto a la migración del GEGC, se observó que las películas con 1 y 3% de GEGC sin compatibilizante, mostraron una velocidad de difusión de  $1.34 \times 10^{-9}$  y  $1.75 \times 10^{-9}$   $\text{cm}^2/\text{s}$ , respectivamente, mientras que las películas compatibilizadas y adicionadas con 1 y 3% de GEGC presentaron valores de  $1.24 \times 10^{-9}$  y  $9.9 \times 10^{-10}$   $\text{cm}^2/\text{s}$  respectivamente, observándose una menor velocidad de difusión en la última película. Respecto al efecto antioxidante, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las películas elaboradas y mediante la evaluación de TBARS se encontró una mayor estabilidad a la oxidación del aceite de pescado en contacto con la película control compatibilizada y la película con 1% de GEGC, libre de compatibilizante (CQ1). De acuerdo a los resultados obtenidos, la incorporación de agentes compatibilizantes a envases activos antioxidantes pudiera brindar una alternativa a la liberación gradual del antioxidante hacia el alimento, aunque se requiere continuar caracterizando su efecto en la oxidación lipídica de alimentos con diferente contenido de lípidos y conservados bajo diferentes condiciones de almacenamiento.

## CONTENIDO

	Página
<b>DERECHOS DE AUTOR</b> .....	iii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iv
<b>DEDICATORIA</b> .....	vi
<b>RESUMEN</b> .....	viii
<b>CONTENIDO</b> .....	x
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	xii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xiii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	6
Oxidación de Lípidos en Alimentos.....	6
Mecanismo de Oxidación.....	7
Factores Relacionados con la Autooxidación de Lípidos.....	8
Técnicas Analíticas Empleadas en la Evaluación de la Oxidación Lipídica.....	10
Índice de Peróxidos.....	10
Substancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico.....	11
Antioxidantes.....	11
Clasificación de Antioxidantes.....	12
Por Mecanismo de Acción .....	13
Antioxidantes Primarios.....	13
Antioxidantes Secundarios.....	14
Por Origen.....	14
Antioxidantes Sintéticos.....	14
Antioxidantes Naturales.....	15
Aplicación de los Antioxidantes en los Alimentos.....	20
Polímeros Empleados en la Elaboración de Envases.....	21
Polímeros Sintéticos.....	26
Envasado Activo de Alimentos.....	26
Agentes Compatibilizantes.....	29
Envases Activos con Agentes Compatibilizantes.....	35
Migración.....	36
Tipos de Migración.....	36
Factores que Influyen en Migración.....	37
Legislación y Normatividad.....	38



Simulantes de Alimentos Empleados para Evaluar la Migración.....	39
Coeficiente de difusión (D).....	40
<b>HIPÓTESIS</b> .....	44
<b>OBJETIVOS</b> .....	45
Objetivo General.....	45
Objetivos específicos.....	45
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	46
Materiales.....	46
Formulación y Obtención de Pellets.....	46
Elaboración de Películas.....	48
Caracterización de las Películas Desarrolladas.....	48
Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	48
Espectroscopía Infrarroja de Transformadas de Fourier (FT-IR).....	49
Propiedades Ópticas.....	49
Color.....	49
Transmisión de Luz.....	50
Propiedades Mecánicas.....	50
Propiedades Térmicas.....	51
Cuantificación de Catequina.....	51
Evaluación de la Migración de Catequina.....	52
Determinación del Coeficiente de Difusión (D).....	53
Evaluación del Efecto Antioxidante de las Películas Desarrolladas.....	54
Índice de Peróxidos.....	54
Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).....	55
Análisis Estadístico.....	55
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	57
Microscopía Electrónica de Barrido.....	57
Espectroscopía de Infrarrojo.....	57
Propiedades Mecánicas.....	70
Propiedades Térmicas.....	76
Propiedades Ópticas.....	81
Análisis de Color.....	81
Transmisión de Luz.....	87
Contenido de GEGC en las Películas Elaboradas.....	89
Migración de GEGC en Películas Desarrolladas.....	91
Determinación del Coeficiente de Difusión (D).....	96
Estabilidad a la Oxidación del Aceite de Pescado.....	100
Índice de Peróxidos.....	100
Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico.....	103
<b>CONCLUSIONES</b> .....	106
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	108
<b>REFERENCIAS</b> .....	109

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Líquidos propuestos por Directivas como simulantes de alimentos a emplear en ensayos de migración.....	41
2	Formulación de las películas de PEBD a elaborar indicando su contenido de catequina (CQ) y compatibilizante (COMP).....	47
3	Resistencia a la tensión de las películas de PEBD desarrolladas.....	71
4	Elongación (%) de las películas de PEBD desarrolladas.....	72
5	Temperatura de fusión (°C) de las películas elaboradas.....	78
6	Porcentaje de cristalinidad de las películas de PEBD y sus mezclas.....	8/0
7	Evaluación de color (CIE L*a*b*) de las películas desarrolladas.....	83
8	Contenido de GEGC en las películas elaboradas.....	90

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Mecanismo de autooxidación de lípidos.....	9
2	Estructura química básica de la catequina.....	18
3	Estructuras de las principales catequinas presentes en las hojas de té ( <i>Camellia sinensis</i> L.).....	19
4	Clasificación de copolímeros en base al ordenamiento de sus monómeros.....	22
5	Representación esquemática de la estructura amorfa y cristalina de los polímeros.....	24
6	Estructura del polietileno.....	25
7	Anhídrido maléico injertado en una cadena de PEBD.....	32
8	Reacción de compatibilización entre anhídrido maléico y almidón....	34
9	Morfología superficial de las películas analizadas por SEM.....	58
10	Espectros FT-IR obtenidos para el a) PEBD (control) y b) agente compatibilizante (PEBD injertado con anhídrido maléico).....	60
11	Espectros FT-IR obtenidos para el PEBD (control) y PEBD con 5% del agente compatibilizante (control-comp).....	61
12	Espectro FT-IR obtenido para la catequina (GEGC).....	63
13	Espectro FT-IR obtenido para las películas con 1 y 3% de catequina sin compatibilizante.....	64
14	Espectro FT-IR de las películas elaboradas con 1% de catequina....	66
15	Espectro FT-IR de las películas elaboradas con 3% de catequina....	67



<b>16</b>	Esquematación de la posible reacción que se puede llevar a cabo entre el PEBD-compatibilizante-catequina.....	69
<b>17</b>	Curva de esfuerzo-deformación de las películas elaboradas.....	74
<b>18</b>	Cambios en la luminosidad ( $\Delta L^*$ ), matiz rojo-verde ( $\Delta a^*$ ), matiz amarillo-azul ( $\Delta b^*$ ) y color total ( $\Delta E$ ) de las películas plásticas desarrolladas conteniendo GEGC (respecto a la película control)....	86
<b>19</b>	Características de transmisión de luz para las películas elaboradas a base de PEBD.....	88
<b>20</b>	Cambios en la concentración de GEGC en las películas de PEBD adicionadas con agente compatibilizante y sin compatibilizar en, contacto de etanol por 14 días a 40°C.....	92
<b>21</b>	Cambios en la concentración de GEGC en etanol por el contacto con las películas de PEBD desarrolladas, durante su almacenamiento a 40°C por 14 días.....	95
<b>22</b>	Cinética de migración de GEGC en películas de PEBD desarrolladas hacia etanol, durante su almacenamiento a 40°C por 14 días.....	97
<b>23</b>	Índice de peróxidos del aceite de pescado en contacto de las películas desarrolladas durante su almacenamiento a 40°C por 14 días.....	101
<b>24</b>	Grado de oxidación, evaluado mediante sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, del aceite de pescado en contacto de las películas desarrolladas durante su almacenamiento a 40°C por 14 días.....	104

## INTRODUCCIÓN

En la industria en general es de gran importancia el método de envasado de los productos obtenidos, ya que gracias a ello se puede lograr un manejo más adecuado de los productos durante su manipulación y transporte. En el caso de la industria de alimentos, existe una intensa investigación para el desarrollo de nuevos envases que además de contener y proteger al alimento de factores externos, presenten una interacción activa con el alimento para retardar su deterioro e incrementar su vida de anaquel (Chi-Hsien Huang 2004).

En el desarrollo de envases conocidos como activos, se deben de tomar en cuenta varias consideraciones, como la naturaleza química de los materiales empleados en su elaboración y las técnicas de empleo, así como la naturaleza y estado físico del producto que contendrán y, en base a ello, seleccionar el polímero o mezcla de estos más adecuada para su elaboración. Entre los principales polímeros empleados para elaborar envases se tiene al polietileno de baja y alta densidad, etilen vinil alcohol, polipropileno, entre otros. Los sistemas de envasado activo son desarrollados para prevenir el deterioro de los alimentos por mecanismos como la oxidación, ataque microbiano, aromas indeseables, entre otros, así como también para mantener sus características organolépticas originales por periodos mayores a los habituales (Chi-Hsien Huang 2004; Hsien-Tang y Yao-Kuei 2005; Hu, Ding y col. 2009). Este sistema



de envase, permite que el compuesto activo, una vez en contacto con el alimento, migre hacia él y así ejerza su efecto protector.

Un factor importante a considerar al momento de desarrollar envases activos es el número de capas que lo conformarán, ya que pueden contener una o varias, compuestas por diferentes materiales poliméricos, para obtener mejores propiedades que las que proporciona un solo tipo de polímero. En este último caso, las capas de diferente naturaleza química se unirán mediante adhesivos conocidos como agentes compatibilizantes. Para la elaboración de estos envases multicapa se requiere equipo más costoso para su elaboración, comparado con el que se utiliza para envases monocapa (Lehmann y Aubourg 2008; Rupasinghe, y col. 2010; Rupasinghe y Yasmin 2010). El anhídrido maléico (LLDPEgMA), uno de los agentes compatibilizantes más empleados, se caracteriza por poseer en su estructura una porción polar y otra apolar que permite la interacción entre las distintas capas, para que los materiales de diferente naturaleza química permanezcan unidos. Otro factor importante al momento de elaborar los envases es precisamente la naturaleza química de las materias primas que se van a emplear; por ejemplo, entre las resinas más empleadas por su bajo costo se tiene al polietileno de baja densidad (PEBD), que es un polímero no polar. Cabe mencionar que un gran número de compuestos activos empleados en este tipo de envase son de naturaleza polar, de aquí la importancia de desarrollar sistemas de envasado que permitan mejorar la afinidad de estos componentes. Lo anterior pudiera permitir la incorporación e interacción de los componentes polares y no polares en una película monocapa a fin de obtener una

película homogénea que favorezca la liberación gradual del compuesto activo durante el almacenamiento del producto. En diferentes trabajos se ha reportado una menor capacidad de compuestos activos al incorporarse al material polimérico y posteriormente aplicarse en contacto con alimentos o modelos alimenticios. Lo anterior se ha atribuido a una limitada migración del compuesto adicionado al envase debido a la incompatibilidad del agente con el material de envasado (Hung y col., 2004).

Los antioxidantes constituyen un grupo de compuestos activos que pueden ser incorporados a este tipo de envases. Estos compuestos, son capaces de prevenir la oxidación, en este caso del alimento. Existen antioxidantes naturales y sintéticos, aunque actualmente hay una tendencia a sustituir estos últimos por antioxidantes naturales. Entre los antioxidantes naturales se encuentran los flavonoides como los que se encuentran en extractos de té verde, romero, orégano, uva, entre otros (Pinelo y col., 2005). Específicamente, la catequina es uno de los compuestos fenólicos mas abundantes, presente en manzanas, uvas y té, que tiene la capacidad de atrapar radicales libres en los alimentos (Pinelo y col., 2005; Pedrielli y col., 2001).

Por otra parte, los productos marinos son una fuente rica de compuestos nutricios como lo son las proteínas, ácidos grasos, vitaminas y minerales, aunque representan una alta susceptibilidad a su deterioro por distintos factores como microbianos, enzimáticos, oxidación de sus componentes, entre otros (Erkan y col., 2007). Una de las principales causas del deterioro de los productos marinos es la oxidación de sus



ácidos grasos poliinsaturados, sobre todo en aquellos productos con alto contenido graso (Lehmann y Aubourg, 2008; Rupasinghe y col., 2010). La oxidación de los lípidos en los alimentos produce olores y sabores desagradables, aunado a que se afecta la calidad nutricia de los ácidos grasos poliinsaturados al disminuirlos; por otra parte, al finalizar las reacciones de oxidación producen compuestos como hidroxiperóxidos, aldehídos como el malonaldehído, entre otros, potencialmente tóxicos para el consumidor (Fennema 2000).

Para prevenir el deterioro de productos altamente susceptibles a la oxidación lipídica, los antioxidantes se pueden aplicar de manera directa al alimento por métodos de inmersión en soluciones o aspersion superficial. Una técnica alternativa es la incorporación del compuesto antioxidante al material de envase. Torres-Arreola y col. (2007) elaboró una película monocapa adicionada con butil hidroxitolueno (BHT), un antioxidante sintético, para prevenir la oxidación de lípidos en músculo de sierra; de igual forma se han realizado estudios sobre películas adicionadas con  $\alpha$ -tocoferol (García y col., 2006).

Con respecto al uso de películas monocapa compatibilizadas para mejorar la distribución del compuesto activo, existe escasa información, por lo que, con base a lo anterior, en la presente propuesta se planteó el desarrollo de películas plásticas monocapa obtenidas mediante extrusión a partir de PEBD empleando como agente compatibilizante polietileno de baja densidad injertado con anhídrido maléico. Este material polimérico se empleó para mejorar la afinidad entre PEBD y la catequina,



con la finalidad de desarrollar un material con actividad antioxidante con potencial aplicación para el envasado activo de alimentos.

# REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## Oxidación de Lípidos en Alimentos

La oxidación de los lípidos es una de las principales causas de deterioro de los alimentos y causante de importantes pérdidas tanto económicas como de valor nutricional de los mismos. Este proceso deteriorativo ocasiona la rancidez en los alimentos grasos, la cual se caracteriza por el desarrollo de aromas y sabores indeseables; aunado a la síntesis de compuestos potencialmente tóxicos para los seres humanos, como los aldehídos y cetonas, entre otros. Los ácidos grasos insaturados (AGI) son especialmente susceptibles a oxidarse y llegan a producir compuestos como los hidroperóxidos y aldehídos, entre los cuales se encuentran el metilpropanal, n-pentanal, n-hexanal, así como otras sustancias poliméricas, que pueden alterar el alimento (Granda-Restrepo y col., 2009; Lehmann y Aubourg, 2008). Los productos de la oxidación tienen implicaciones toxicológicas y se han asociado con la inducción de enfermedades crónico degenerativas (Vasantha y Afsana, 2010, Torres-Arreola y col., 2007).

Actualmente existe un creciente interés en el consumo de productos marinos dado su elevado contenido de nutrimentos como proteínas y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), lo cual se ha asociado con beneficios en la salud. Distintas especies grasas como la macarela, la sardina, anchoveta, atún, entre otras, aportan a la dieta AGPI tanto de la serie omega 3 como omega 6, entre los cuales se pueden encontrar al

ácido eicosapentanoico, ácido docosahexanoico, ácido linoléico, entre otros. Los sistemas de insaturaciones presentes en estos ácidos grasos son muy susceptibles a reacciones de oxidación, las cuales se pueden presentar incluso a temperaturas de congelación (Lehmann y Aubourg, 2008), una de las principales formas en las que se ofrecen los productos marinos al público, provocando el rechazo por parte del consumidor. Una alternativa para la preservación de alimentos es la adición de antioxidantes, los cuales han mostrado que son efectivos retardando la oxidación de productos marinos.

### **Mecanismo de Oxidación**

La oxidación lipídica es el término dado a la compleja serie de cambios químicos que sufren los alimentos lipídicos al interactuar con el oxígeno, el cual tiene como consecuencia el desarrollo de olores, colores y texturas desagradables para el consumidor, siendo la autooxidación uno de los mecanismos más comunes. Es aquí donde la generación de compuestos formados mantienen y aceleran la oxidación de más sustrato (Fennema, 2002). El contenido de insaturaciones en los ácidos grasos promueven su autooxidación, involucrando la formación de radicales libres; en una segunda etapa se da la propagación, aquí el radical libre reacciona con el oxígeno y forma un hidroperóxido el cual es inestable, dando lugar a la formación de nuevos radicales libres, los cuales, en una etapa de terminación, se estabilizan a través de la formación de dímeros así como con su interacción con otros componentes de los



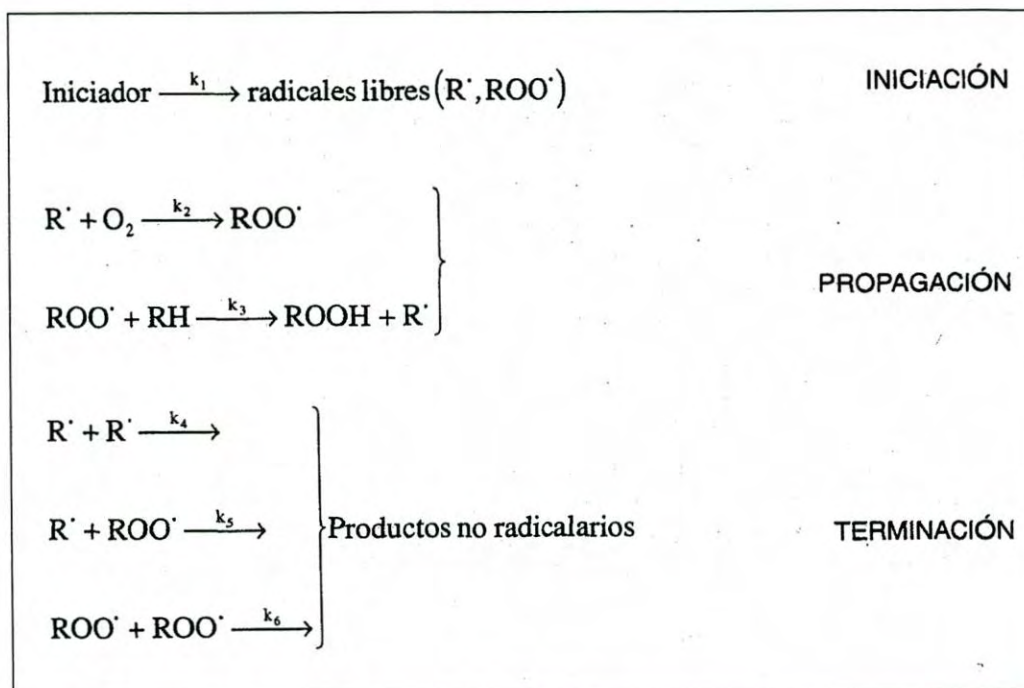
alimentos, como las proteínas (Figura 1) (Zuta y col., 2007, Granda-Restrepo y col., 2009).

### **Factores Relacionados con la Autooxidación de Lípidos**

La oxidación de los AGPI está dada por radicales libres que actúan y se propagan a partir de factores catalizadores tales como el oxígeno, la temperatura, la luz, la presencia de distintos metales, factores enzimáticos, metaloproteasas, así como también por la acción de microorganismos (Zuta y col., 2007; Granda-Restrepo y col., 2009). Otro factor importante es la composición y el contenido de los lípidos en el alimento, dado que a mayor grado de insaturación y mayor contenido en el alimento se oxidan con mayor facilidad; así mismo, la actividad de agua del alimento es otro factor, ya que se ha observado que los alimentos con actividad de agua baja, presentan mayor grado de oxidación de lípidos debido a que el agua actúa como barrera para el oxígeno y en su ausencia se presenta una baja capacidad protectora sobre el alimento (Wambura y col., 2011).

### **Técnicas Analíticas Empleadas en la Evaluación de la Oxidación Lipídica**

Durante el proceso de la oxidación de lípidos, se da la formación de compuestos que pueden ser utilizados como indicadores de la oxidación lipídica, entre ellos dienos conjugados, peróxidos, el índice de anisidina, carbonilos totales y aldehídos, como el



**Figura 1.** Mecanismo de autooxidación de lípidos.  
Fuente: Fennema (2002).



malonaldehído, el cual es útil para determinar el grado de oxidación de los alimentos, mediante su reacción con el ácido tiobarbitúrico (TBA) (Vasantha y col., 2010). A

### **Técnicas Analíticas Empleadas en la Evaluación de la Oxidación Lipídica**

Durante el proceso de la oxidación de lípidos, se da la formación de compuestos que pueden ser utilizados como indicadores de la oxidación lipídica, entre ellos dienos conjugados, peróxidos, el índice de anisidina, carbonilos totales y aldehídos, como el malonaldehído, el cual es útil para determinar el grado de oxidación de los alimentos, mediante su reacción con el ácido tiobarbitúrico (TBA) (Vasantha y col., 2010). A continuación se describen las técnicas empleadas en el presente trabajo para evaluar el grado de oxidación de lípidos en aceite de pescado.

#### **Índice de peróxidos (IP)**

Esta técnica se utiliza para determinar el estado de oxidación inicial de las grasas en etapas tempranas. Es en esta fase donde se da la formación de peróxidos (R-OOH). El IP se basa en la reducción del grupo hidroperóxido (ROOH) con el ión yodo ( $I^-$ ) el cual se encuentra presente como yoduro de potasio (KI). La cantidad de yodo ( $I_2$ ) liberado es proporcional a la cantidad de peróxidos presentes y se valora por titulación con una solución estándar de tiosulfato de sodio ( $Na_2S_2O_3$ ), utilizando almidón como indicador. Los resultados se expresan en miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de grasa (Zuta y col., 2007). Esta técnica permite determinar el grado

de oxidación de las grasas antes de que las mismas sean perceptibles organolépticamente por los consumidores.

### **Substancias reactivas al ácido tiobarbitúrico**

Durante la peroxidación lipídica se forman subproductos reactivos al ácido tiobarbitúrico (TBA). Esta técnica permite determinar el grado de oxidación en las etapas finales. El principal compuesto detectado por el TBA es el malonaldehído (MA), el cual es un dialdehído producido por la degradación oxidativa de ácidos grasos con tres o más dobles enlaces. El MA reacciona con el TBA, cuyo aducto formado presenta una fuerte absorción a una longitud de onda de 532 nm y su presencia se determina mediante espectroscopía. Los resultados son expresados como nmol de malonaldehído por gramos de muestra (Zuta y col., 2007).

## **Antioxidantes**

La FDA (Food and Drugs Administration) define a los antioxidantes como aquellas sustancias utilizadas para preservar a los alimentos, retardando el deterioro, rancidez y/o la decoloración del mismo debido a procesos de oxidación. Se considera que un antioxidante es eficaz cuando inhibe la formación de radicales libres en la primera etapa de la oxidación, o bien es capaz de interrumpir la propagación de los radicales libres. Los antioxidantes de uso en alimentos deben de ser incoloros, inodoros,

insaboros, ya que no deben de alterar las características organolépticas del alimento, deben de ser de bajo costo y no presentar toxicidad (Shaidi y Zhong, 2005).

Dependiendo de su estructura, los antioxidantes interfieren con la oxidación reaccionando con radicales libres, quelando metales prooxidantes, actuando como atrapadores de oxígeno, amortiguando oxígeno singulete y fotosensibilizadores, inactivando lipoxigenasa, o reaccionando con hidroperóxidos, así como donando moléculas de hidrógeno (Fennema, 2002).

### **Clasificación de Antioxidantes**

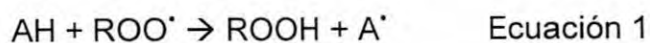
La clasificación de los antioxidantes está dada bajo distintos criterios, algunos de ellos se basan en el mecanismo de acción que tienen sobre el alimento, ya sean primarios o secundarios; otro criterio por el cual pueden estar clasificados es en base a su origen, natural o sintético. A continuación se describen estas clasificaciones.

#### **Por mecanismo de acción**

Según su mecanismo de acción se clasifican en dos grupos principales: primarios y secundarios (Wessling, 2000; Choe y Min, 2009; Akoh y Min, 2008).



*Antioxidantes primarios.* Son aquellos capaces de actuar sobre los radicales libres presentes en los AGPI, inhibiendo la oxidación en sus primeras etapas, logrando estabilizar al radical libre de ácido graso o de hidroperóxido, evitando su propagación y la autooxidación de los AGPI. Estos antioxidantes finalizan la reacción en cadena de la oxidación mediante la donación de electrones, para dar lugar a compuestos más estables (Leopoldin y col., 2007; Zuta y col., 2007; Ferreira y col., 2007). Tradicionalmente, la mayoría de los antioxidantes primarios empleados en alimentos son fenoles estéricamente impedidos; este tipo de antioxidantes tienen un grupo hidroxilo fenólico y sustituyentes donadores de electrones esenciales para su modo de acción (Wessling, 2000). Entre los antioxidantes más comunes utilizados en las primeras etapas de la oxidación se encuentran compuestos como el terbutil hidroquinona (TBHQ), butilhidroxitolueno (BHT), así como compuestos naturales como los tocoferoles. La forma de actuar del antioxidante (AH) es por su participación como donador de electrones al radical de ácido graso (R•) o radical peróxido (ROO•) (ecuación 1), para regenerarlos e inactivarlos, formándose a su vez un radical libre del antioxidante (A•) (ecuación 2), el cual es más estable. La mayor estabilidad de los radicales antioxidante en comparación con los radicales de los alimentos se debe a la deslocalización por resonancia a lo largo de la estructura del anillo fenólico (Choe y Min, 2009).





*Antioxidantes secundarios.* Son compuestos capaces de interferir sobre la propagación de los hidroperóxidos, una vez iniciada la oxidación de los AGPI; son capaces de absorber los rayos ultravioleta, pueden secuestrar metales y neutralizar los radicales que ya han sido formados. Entre los antioxidantes secundarios se encuentra el ácido ascórbico, EDTA, ácido fosfórico, entre otros. La aplicación de los antioxidantes secundarios es generalmente de forma sinérgica con los antioxidantes primarios, para una mejor conservación de los alimentos (Leopoldin y col., 2007).

### **Por origen**

Otra forma de clasificar a los antioxidantes es en relación a la fuente de la cual son obtenidos, ya sea mediante procesos de elaboración sintética o bien de fuentes naturales.

*Antioxidantes Sintéticos.* El uso de antioxidantes en la industria alimentaria es común, siendo los sintéticos los de uso más frecuente. Entre estos se encuentran el BHT (butil hidroxitolueno), TBHQ (terbutil hidroxiquinona) y BHA (butil hidroxianisol), cuyo nivel de uso está reglamentado por las legislaciones correspondientes. Diferente países coinciden con las legislaciones impuestas por Estados Unidos, mediante la FDA, donde las concentraciones de este tipo de compuestos no deben de exceder las 200 ppm del contenido de grasa del alimento (Arrua y col., 2010; Serdaroğlu y Felekoğlu, 2003; Torres-Arreola y col., 2007; Vassantha y col., 2010). El empleo correcto de los antioxidantes sintéticos constituye una herramienta útil para evitar el deterioro lipídico de los alimentos (Shaidi y Zhong, 2005). No obstante, estos

antioxidantes presentan desventaja debido a que presentan implicaciones toxicológicas para los humanos, principalmente efectos carcinogénicos, por lo cual actualmente se evalúan nuevas alternativas a partir de fuentes naturales (Bimakr y col., 2008).

La mercadotecnia es otro factor determinante en las nuevas tendencias de consumo, ya que el consumidor prefiere los productos naturales, libres de aditivos sintéticos (Vassantha y col., 2010).

*Antioxidantes Naturales.* De forma natural podemos encontrar una gran variedad de compuestos capaces de fungir como antioxidantes ante la presencia de radicales libres. En los últimos años se ha puesto una mayor atención sobre aquellos componentes de frutos y plantas, que son capaces de secuestrar radicales libres, previniendo así la oxidación. Entre estos podemos encontrar al té negro, té verde, café, uvas, vinos, frutos rojos, plantas medicinales, entre otros (Leopoldin y col., 2007; Pinelo y col., 2005). Estas fuentes vegetales contienen fenoles y flavonoides, compuestos con grupos capaces de donar un hidrógeno para la estabilización de los radicales libres (Bimakr y col., 2008). Existen actualmente numerosas investigaciones relacionadas con el empleo de compuestos naturales con capacidad antioxidante que han demostrado efectos benéficos en la salud, sin reportarse hasta el momento efectos secundarios; incluso algunos han sido reconocidos como sustancias GRAS (por sus siglas en inglés de Generally Recognized as Safe), llegándose a recomendar su ingesta no sólo por sus características nutricias o



sensoriales, sino como medicina preventiva; sin embargo, escasos estudios se enfocan en su empleo para la preservación de los alimentos, a pesar de su efectividad en el retraso de la oxidación (Bimakr y col., 2008; Banayeb y col., 2007).

Actualmente existen diversos estudios de estabilidad oxidativa de compuestos como el  $\alpha$ -tocoferol, resveratrol, orégano, ácido ascórbico, péptidos, catequinas, así como distintos extractos naturales, empleados en productos como aceites de maíz, simulantes alimenticios, carne, sardina y leches en polvo, demostrando efectividad en retrasar la oxidación de los mismos (López de Dicastillo y col., 2012, Graciano-Verdugo y col., 2010). Torres-Arreola y col. (2007) y Serdaroğlu y Felekoğlu (2003) evaluaron la estabilidad lipídica de sierra y sardina congelada respectivamente, preservadas con BHT (Torres-Arreola y col., 2007) y extracto de romero (Serdaroğlu y Felekoğlu, 2003), observando una mayor estabilidad en las muestras con antioxidantes respecto a las muestras control almacenadas sin ningún tratamiento.

Un antioxidante natural con potencial aplicación en alimentos es la catequina, compuesto natural reconocido como GRAS, que se encuentra disponible en el mercado en forma purificada como galato de epigalocatequina (GEGC) (Danila y col., 2007; Graciano-Verdugo y col., 2010; Pinelo y col., 2005; Zuta y col., 2007).

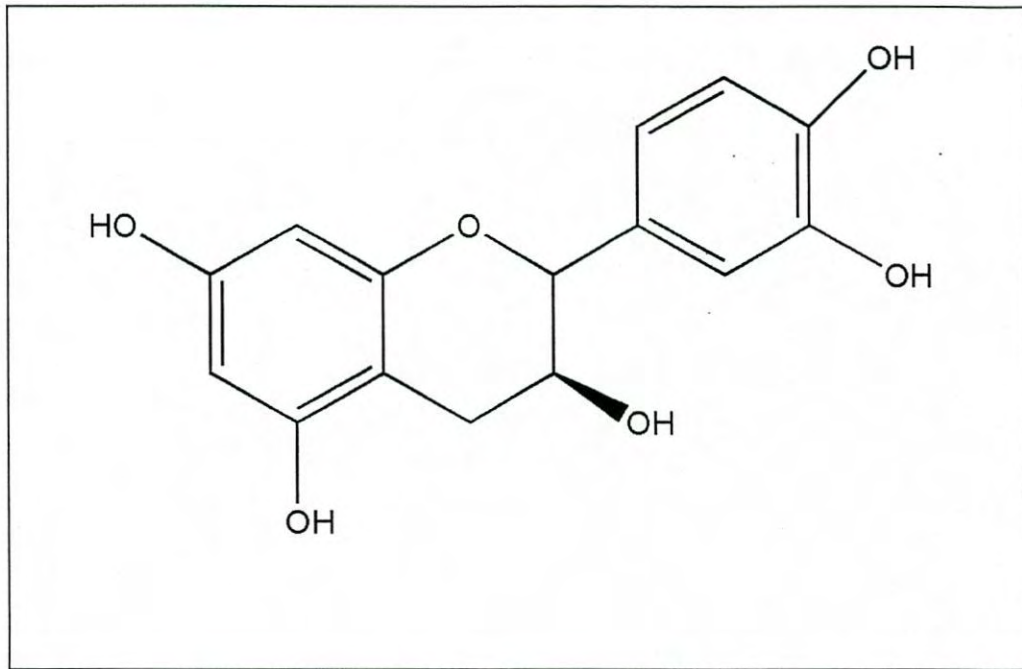
La catequina y el resveratrol son dos de los compuestos fenólicos más abundantes en la naturaleza. La catequina se puede encontrar en el té verde y negro, chocolate, cerveza, manzana y vinos tintos, así como en distintas variedades de plantas como



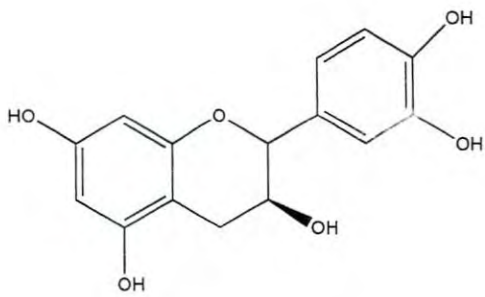
la yerba mate, entre otros (Pinelo y col., 2005; Zeeb y col., 2000; Leopoldin y col., 2007); su ingesta cotidiana en la dieta humana se ha asociado con la prevención de distintas enfermedades como las cardiovasculares (Zeeb y col., 2000).

La estructura química de la catequina está conformada por dos anillos aromáticos, que se encuentran unidos por un anillo saturado de seis miembros; conteniendo en su estructura grupos hidroxilo (Figura 2), los cuales son los encargados de donar sus protones al momento de estabilizar un radical libre (Leopoldin y col., 2007). En forma natural se pueden encontrar una gran variedad de catequinas. Zeeb y col. (2000) identificaron un total de 12 tipos de catequinas contenidas en el té verde, entre las cuales se encuentran compuestos como la (+)-catequina, (-)-epicatequina, (-)-galato de epigallocatequina (GEGC), (-)-galato de epicatequina, entre otras (Figura 3). Todas ellas presentan características antioxidantes capaces de actuar en las primeras etapas de la oxidación de AGI (Leopoldin y col., 2007; Tomihama y col., 2007).

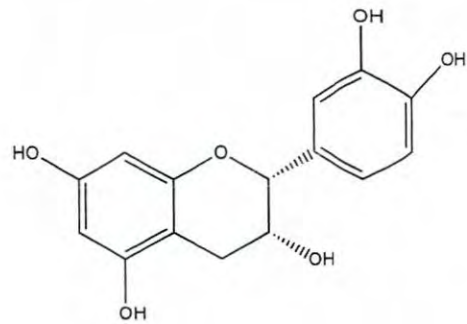
Nieto y col. (1993) utilizaron seis tipos de flavonoides (catequina, hesperidina, morina, maringina, rutina, quercetina) como antioxidantes adicionados directamente en aceite de sardina, observando una menor oxidación en presencia del antioxidante quercetina con respecto al resto de los antioxidantes; sin embargo, la catequina presentó una respuesta favorable ya que su estabilidad a la oxidación fue similar a la quercetina bajo estas condiciones de estudio.



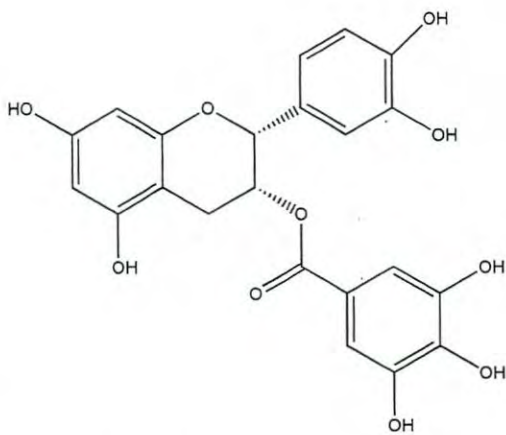
**Figura 2.** Estructura química básica de la catequina.  
Fuente: Valenzuela (2004).



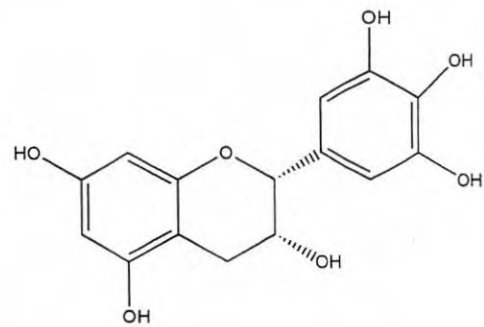
**Catequina**



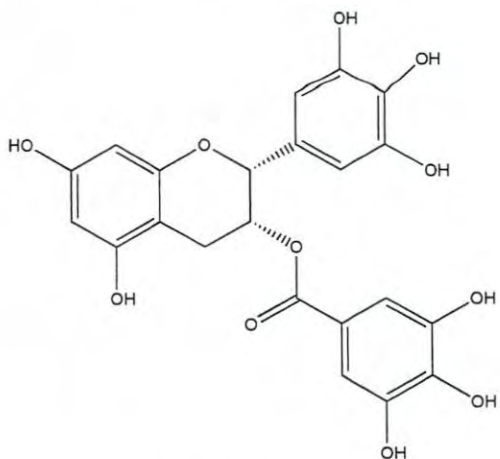
**Epicatequina (EC)**



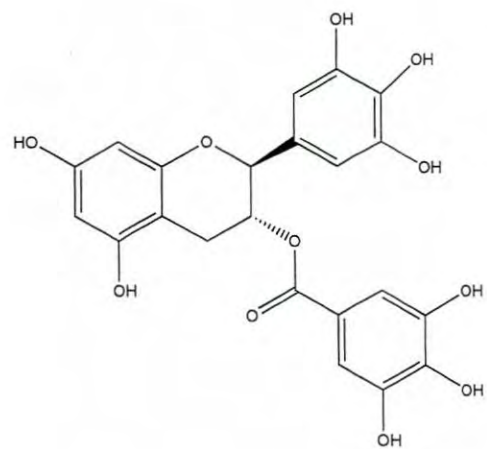
**Galato de Epicatequina (GEC)**



**Epigalocatequina (EGC)**



**Galato de Epigalocatequina**



**Galato de Galocatequina (GGC)**

**Figura 3.** Estructuras de las principales catequinas presentes en las hojas de té (*Camellia sinensis* L.).

Fuente: Valenzuela (2004).



Maestre y col. (2009), al medir la capacidad antioxidante de catequina, catalasa y ácido ascórbico en músculo de pescado, observaron que en concentraciones de 30 y 60 mM de catequina se presentó una mayor eficiencia para retardar la oxidación de los lípidos en comparación con los otros antioxidantes, llegando a la conclusión de que la catequina es un antioxidante con potencial de aplicación en alimentos.

Kondo y col. (1999) evaluaron la capacidad antioxidante de la catequina y el galato de epigallocatequina mediante la prueba de 2,2'-Azobis (2-aminopropano) hidroclicado (AAPH), observando una mayor capacidad antioxidante del GEGC que la catequina.

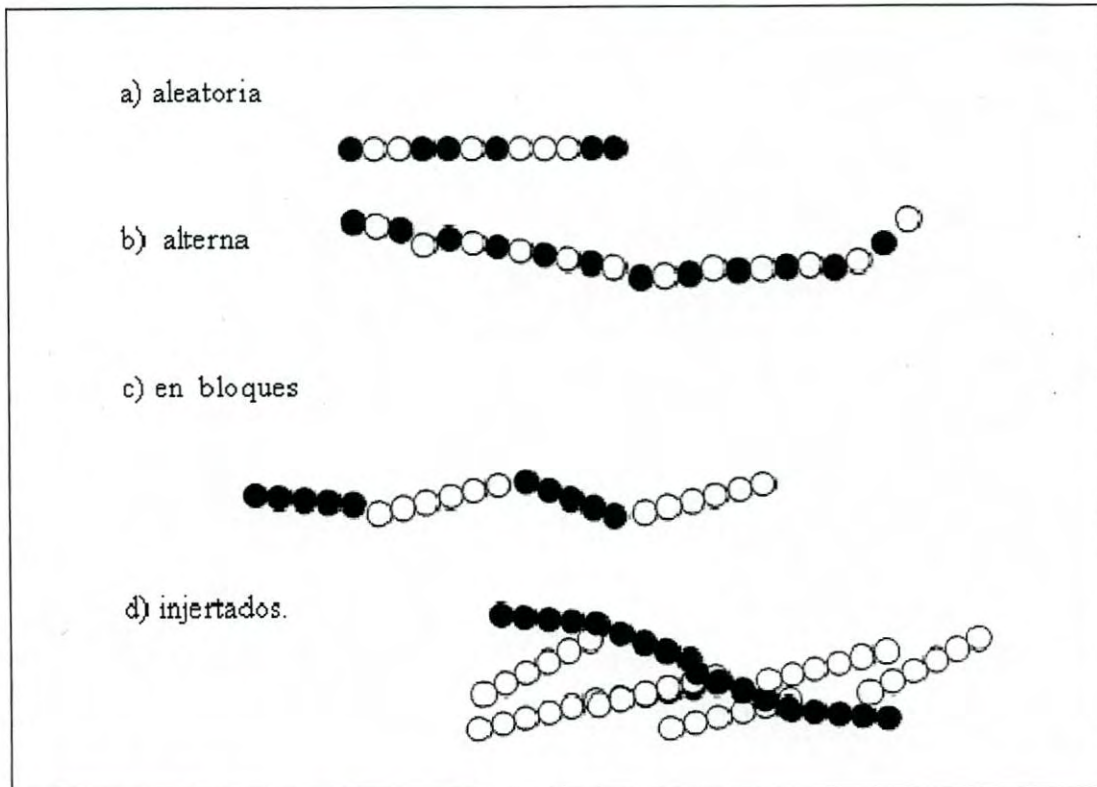
### **Aplicación de los Antioxidantes en los Alimentos**

Los antioxidantes pueden ser adicionados a los alimentos en diferentes formas. Entre las modalidades empleadas se tiene la incorporación directa de estos al alimento como un aditivo al momento de su elaboración, así como la inmersión del alimento en soluciones preparadas con el antioxidante. Una técnica utilizada recientemente es la incorporación de los antioxidantes a los materiales de envase, que al entrar en contacto con el alimento, migran hacia este para prevenir su rancidez (Serdaroğlu y Felekoğlu, 2003; Torres-Arreola y col., 2007).

## Polímeros Empleados en la Elaboración de Envases

Un polímero es aquel material constituido por la unión de cientos o miles de monómeros, los cuales forman largas cadenas. Recibiendo el nombre de homopolímeros aquellos que están conformados por una misma unidad estructural la cual es repetitiva como en el caso de los polietilenos; y se les llama copolímeros cuando están conformados por diferentes unidades estructurales. Los copolímeros se clasifican a su vez de acuerdo a la combinación de sus monómeros en aleatoria, alterna, en bloques e injertados (Figura 4). En el caso de los copolímeros injertados se tiene como ejemplo al PEBD injertado con anhídrido maléico (Ureta, 1989). La posición de los monómeros dentro de las cadenas proporcionan propiedades distintas al polímero de acuerdo al contenido de monómeros así como a la posición de estos; esto ayuda a conferir una gran versatilidad a los polímeros y por ende una amplia gama de aplicaciones industriales (Ureta, 1989).

Otra de las clasificaciones empleadas en polímeros es con base a su cristalinidad e incluye a polímeros cristalinos y amorfos. Se consideran cristalinos aquellos materiales que contienen moléculas ordenadas en tres dimensiones. Para el caso de los polímeros amorfos, el ordenamiento de sus moléculas es al azar y muestran características vítreas, donde las cadenas enmarañadas de los polímeros forman una estructura rígida. Cabe mencionar que los polímeros no son cristalinos del todo, como algunas otras sustancias; en este caso, las zonas cristalinas se encuentran



**Figura 4.** Clasificación de copolímeros en base al ordenamiento de sus monómeros.  
Fuente: Ureta (1978).



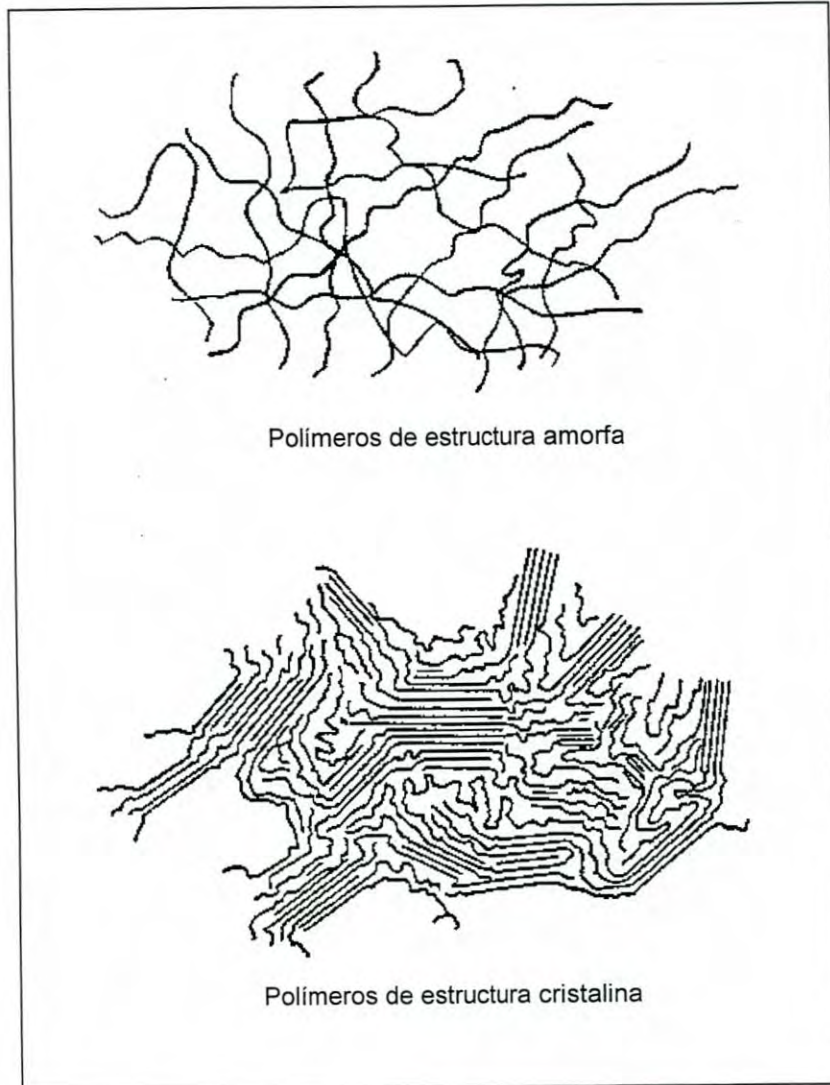
inmersas en una matriz de material amorfo menos ordenado (Figura 5) (Ureta, 1989; Morton-Jones, 2007).

Entre las clasificaciones más empleadas para los polímeros se tiene aquella que hace referencia a su origen, clasificándose como polímeros naturales y sintéticos, siendo estos últimos los de mayor uso y aplicación diaria debido a sus propiedades de procesamiento, manejo, obtención de productos ligeros, resistencia a la corrosión y al ataque químico, flexibilidad y costo accesibles (Ureta, 1989; Morton-Jones, 2007).

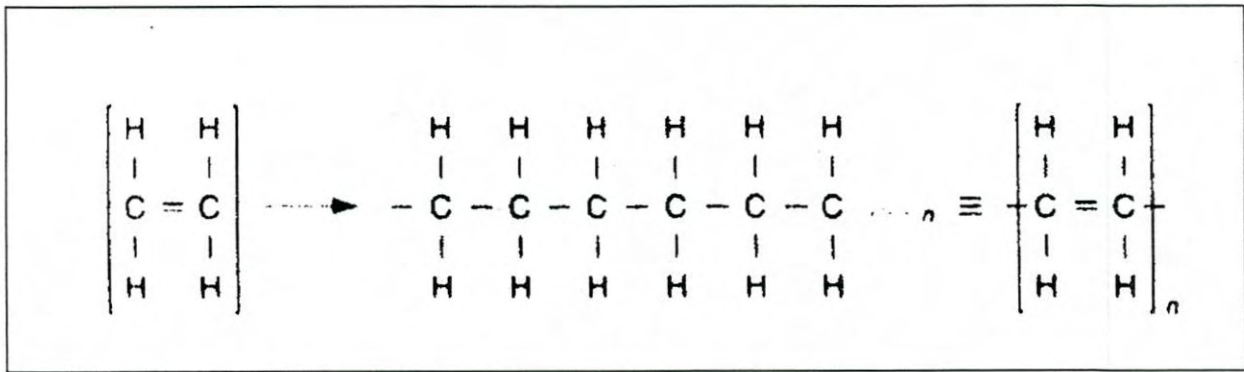
Entre los polímeros sintéticos de mayor importancia comercial por sus aplicaciones en alimentos, se tienen al PEBD, polietileno de alta densidad (PEAD), polipropileno (PP), poliestireno (PS), nylon, policloruro de vinilo (PVC), entre otros, siendo el polietileno uno de los más ampliamente usados en la industria, ya que es fácilmente procesable y de bajo costo (Villalpando-Olmos y col. 1999).

Los polietilenos están conformados por unidades monoméricas de etilenos (Figura 6), los cuales presentan cadenas de distintos grados de polimerización, así como ramificaciones que le confieren distintas características (Ureta, 1989).

La clasificación del polietileno se encuentra dada principalmente por su densidad, clasificándose como de alta ( $0.941$  a  $0.967$  g/cm<sup>3</sup>) y baja densidad ( $0.920$  a  $0.940$  g/cm<sup>3</sup>); sin embargo, también existen los polietilenos ramificados, polietilenos de muy



**Figura 5.** Representación esquemática de la estructura amorfa y cristalina de los polímeros.  
Fuente: Ureta (1978).



**Figura 6.** Estructura del polietileno.  
 Fuente: American Chemistry Council (2012).



baja densidad y los de alto peso molecular. La densidad del polietileno se relaciona con el grado de cristalinidad; al aumentar la cristalinidad se presentan características como mayor rigidez, dureza, mejores propiedades barrera, resistencia tensil, opacidad y resistencia química (Ureta, 1989).

## **Polímeros Sintéticos**

Entre los diferentes polímeros, el PEBD es el de mayor uso dado su bajo costo, su facilidad de procesamiento, así como su versatilidad y buenas propiedades (Morton-Jones, 2007; Ramírez, 2001); presenta una elevada transparencia, flexibilidad y resistencia al impacto, baja permeabilidad a gases, mientras que la permeabilidad al vapor de agua es elevada, no reacciona en presencia de sustancias químicas y es de naturaleza química no polar (Ramírez, 2001), debido a estas características, aunadas a su procesabilidad y bajo costo, es el polímero de mayor aplicación en alimentos.

## **Envasado Activo de Alimentos**

El principal objetivo del envasado de alimentos es la protección del producto de los factores ambientales, ya que estos pueden ocasionar una reducción en su calidad e inocuidad o ambas (Fernández-Rivas, 2008). Tradicionalmente se han realizado esfuerzos para minimizar las interacciones envase-alimento como la migración,

sorción y permeabilidad de los materiales de envasado (Ahvenainen y Hurme, 1997). Las interacciones envase-alimento son consideradas indeseables debido a que incluyen la transferencia al alimento de compuestos que pueden ser tóxicos, la pérdida de sabores deseables del alimento por sorción hacia el envase, ganancia o pérdida de humedad debido a la permeación, ingreso de oxígeno resultando en productos de oxidación, entre otros (Hotchkiss, 2000). Los posibles riesgos a la salud de los consumidores, debido a la migración de sustancias del material de envase a los alimentos han sido reconocidos desde hace mucho tiempo, en consecuencia, se han llegado a establecer regulaciones alimentarias como las emitidas por la Comunidad Europea y en Estados Unidos a través de la Food and Drug Administration (FDA) (Demertzis y Franz, 1998; Diario Oficial de la Unión Europea, 2004; Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002; USFDA, 2012).

Las interacciones envase-alimento también pueden ser usadas para mantener la calidad e inocuidad del alimento, lo cual constituye una de las tecnologías de envasado donde estas interacciones son usadas en una forma positiva. Este método de envasado se designa como "envase activo" (Ahvenainen y Hurme, 1997). Los conceptos de envasado tradicional (envase pasivo) están limitados en su capacidad para prolongar la vida de anaquel de los productos alimenticios. Los envases pasivos son materiales que únicamente separan al producto de su medio ambiente. El envase activo, por su parte, es un concepto innovador que puede ser definido como un tipo de envasado que cambia la condición del envase extendiendo la vida de



anaquel o mejorando las propiedades sensoriales o de sanidad del alimento mientras que mantiene su calidad (Vermeiren y col., 1999).

Los factores que pueden ser influenciados por el envase activo incluyen sabor, inocuidad, perfil nutricional, vida de anaquel, color, entre otros (Hotchkiss, 2000). Los envases activos son diseñados de manera que contengan los componentes activos, los cuales se liberan o adsorben sustancias del alimento. Este tipo de envasado se encuentra clasificado en cuatro sistemas principales: a) aquellos que adsorben sustancias indeseables en el alimento; b) sistemas que liberan sustancias beneficiosas al alimento; c) sistemas con efecto térmico, y por último c) aquellos envases que regulan la entrada o salida de sustancias deseables o indeseables en los alimentos (Fernández-Rivas, 2008). Entre estos sistemas se tienen a los eliminadores de O<sub>2</sub> y etileno, emisores y eliminadores de CO<sub>2</sub>, reguladores de humedad, envases antimicrobianos, liberadores o adsorbentes de sabores y olores, liberadores de compuestos antimicrobianos o antioxidantes (Fernández-Rivas, 2008).

En numerosos estudios se ha reportado el desarrollo de envases activos antioxidantes, reportándose su eficacia en reducir la oxidación de alimentos. López-de-Dicastillo y col. (2012) evaluaron el efecto antioxidante de películas de EVOH preparadas con compuestos naturales como el té verde, ácido ascórbico, ácido ferúlico y quercetina, en contacto de homogenizados de sardina almacenados a 4°C, observando que la sardina en contacto de las películas preparadas principalmente con té verde presentaban mayor estabilidad a la oxidación.



Castillo-Montoya (2010) evaluó películas elaboradas con GEGC en concentraciones de 1 y 4% y observó un efecto protector ante la oxidación de aceite de pescado almacenado en contacto con las películas, a 25°C. Las películas con 1% de GEGC tenían un menor grado de oxidación que las muestras control y un comportamiento muy similar a las películas con un antioxidante de referencia (BHT al 1%), sin embargo las muestras colocadas en contacto con 4% de GEGC presentaron un efecto prooxidante.

Camo y col, (2008) evaluaron la estabilidad de filetes de cordero envasados en un envase activo adicionado con extractos de romero y orégano y en atmósferas modificadas, y observaron que los filetes contenidos en el envase activo presentaron mayor estabilidad, tanto a la oxidación de lípidos como a la pérdida de color de filete, en comparación con los filetes colocados en atmósferas modificadas.

### **Agentes Compatibilizantes**

Los materiales poliméricos difieren en su composición debido a su estructura química, por lo que se caracterizan por presentar diferentes propiedades químicas, físicas y barrera; por ejemplo, el PEBD presenta una elevada barrera al vapor de agua pero alta permeabilidad al oxígeno, mientras que el EVOH se caracteriza por su baja permeabilidad al oxígeno. Su exposición a la humedad debe ser controlada, ya que el contenido de agua disminuye sus propiedades barrera al oxígeno (Villalpando-Olmos,1999). Como resulta evidente, no existe un material polimérico que

proporcione protección al alimento hacia los diferentes factores que puedan afectarlo, por lo que es práctica común integrarlos en una estructura multicapa formada por múltiples capas de diferentes materiales poliméricos, donde cada uno aporta una propiedad en particular, como baja permeabilidad a los gases, baja permeabilidad al vapor de agua, alta resistencia, etc., lográndose obtener una película con propiedades superiores a las que brinda cada material en forma individual (Rupasinghe y Yasmin, 2010).

Generalmente, los materiales empleados en envases multicapa son de diferente naturaleza química, como el polietileno y el etilen-vinil alcohol (EVOH), no polar y polar respectivamente, por lo que se requiere el uso de agentes compatibilizantes que permitan una adecuada adhesión entre las capas poliméricas de diferente polaridad. A pesar de los beneficios que se obtienen con los materiales multicapa, presentan la desventaja de que su elaboración es compleja y costosa dado que se requieren equipos especializados y numerosos, específicamente un equipo extrusor para cada material que forma parte de la película. Entre las alternativas que actualmente se están llevando a cabo para obtener películas con propiedades similares a las multicapa, es la elaboración de envases monocapa basados en la mezcla de los distintos materiales poliméricos, incorporando un agente compatibilizante para lograr una adecuada interacción entre los polímeros de diferente polaridad, que permita obtener un material con mejores propiedades que sus componentes en forma individual y que evite la separación de sus componentes al ser fases inmiscibles (Rupasinghe y col., 2010; Rupasinghe y Yasmin, 2010).

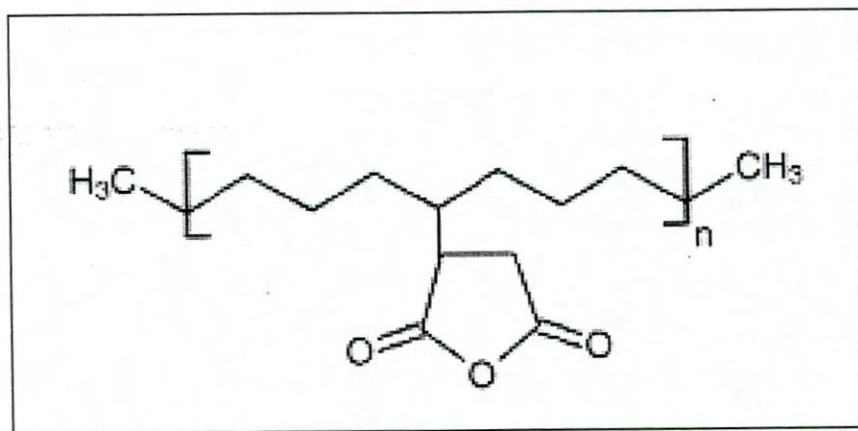


Entre los principales polímeros empleados en envases multicapa se encuentra el polietileno. A pesar de los beneficios proporcionados por este, es un polímero hidrofóbico que no puede ser utilizado con eficacia en aplicaciones donde se requiere incorporar materiales con carácter hidrofílico. Con la finalidad de resolver esta dificultad, comúnmente se modifica el polietileno mediante la inserción (injerto) de monómeros polares a la cadena de polietileno, obteniéndose copolímeros de polietileno funcionalizado como el polietileno injertado con anhídrido maléico, copolímero de estireno-etileno-butadieno-estireno modificado con anhídrido maléico.

El polietileno injertado con anhídrido maléico es uno de los copolímeros más comunes empleados en envases de alimentos. El anhídrido maléico es un compuesto cíclico formado por un anillo de cinco miembros; contiene tres átomos de oxígeno, dos de ellos unidos al anillo cíclico; es un compuesto altamente polar que al hidratarse forma el ácido maléico, con capacidad de esterificarse a la cadena hidrocarbonada de polietileno (Figura 7). La incorporación de este grupo al polietileno le confiere características polares al polietileno por la presencia de átomos de oxígeno, disminuyendo su hidrofobicidad (Ramírez, 2001; Chen y col., 2007; Gupta y col., 2010).

La adición de este tipo de copolímeros a mezclas de materiales de distintas polaridades ayuda a disminuir la tensión superficial que existe entre la matriz y el



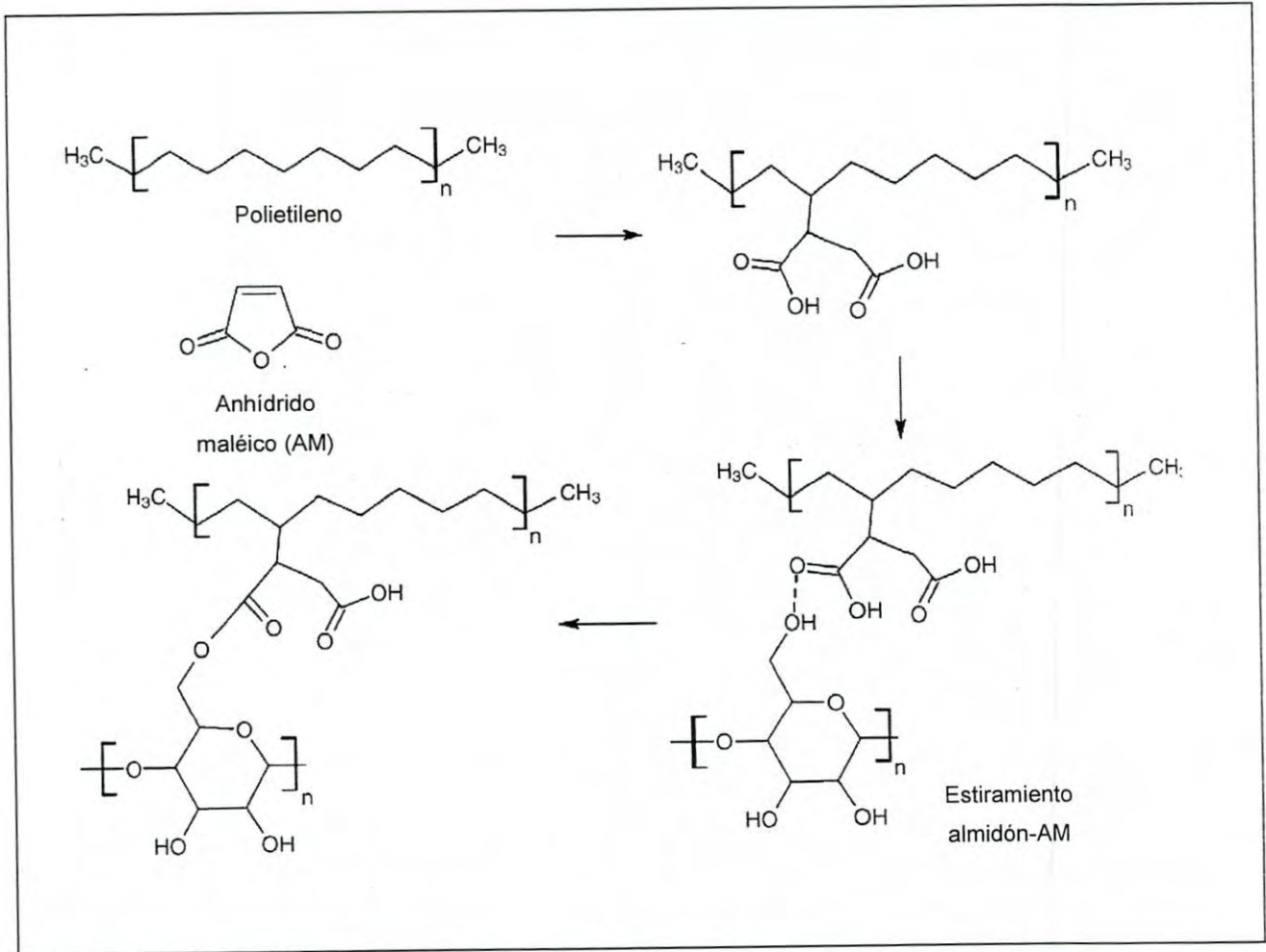


**Figura 7.** Anhídrido maléico injertado en una cadena de PEBD.  
Fuente: Ratankamnuan y Aht-Ong (2006).

compuesto adicionado cuando son de naturaleza química diferente (polar y no polar), permitiendo una adecuada interacción de las fases y favoreciendo un incremento en sus propiedades físicas, químicas o de barrera. Rohani y col. (2010) encontraron que la adición de anhídrido maléico a películas de polietileno adicionadas con la fibra vegetal kenaf modificó sus propiedades mecánicas, observándose una mayor resistencia a la tensión en las películas que contenían el compatibilizante.

De acuerdo a Rohani y col. (2010), el copolímero de PEBD-anhídrido maléico permite la interacción del polietileno con polímeros o moléculas de naturaleza polar, como es el caso del almidón, proponiendo que el posible mecanismo de interacción entre estos componentes implica la esterificación o formación de puentes de hidrógeno entre ambos compuestos (Figura 8).

En estudios realizados con películas de mezclas de PEBD adicionado con almidón, se ha observado que la resistencia del polietileno y el porcentaje de elongación del mismo se ven reducidos conforme se incrementa la concentración de almidón atribuyéndose a su inmiscibilidad; sin embargo, pruebas similares con polivinil alcohol (PVOH), mostraron un aumento del porcentaje de elongación y de la resistencia a la tensión, atribuyéndose al grupo hidroxilo presente en el PVOH, el cual interactúa con las moléculas del almidón formando puentes de hidrógeno (Rahmat y col., 2009).



**Figura 8.** Reacción de compatibilización entre anhídrido maléico (AM) y almidón.  
Fuente: Rahmat y col. (2009).



## Envases Activos con Agentes Compatibilizantes

Debido a que la oxidación de lípidos inicia en la superficie del alimento, los envases activos liberadores de antioxidantes constituyen una alternativa de protección del producto contra este proceso deteriorativo. Una dificultad técnica que se presenta al seleccionar un compuesto para su incorporación en el material de envase, es su naturaleza química, la cual determina la compatibilidad con el material polimérico y en consecuencia, la efectividad del sistema activo desarrollado. Los estudios realizados hasta el momento con envases activos compatibilizados han sido principalmente con agentes antimicrobianos. En diferentes trabajos se ha reportado una reducida capacidad de los compuestos antimicrobianos, como los extractos naturales (entre los cuales esta el ácido ascórbico), que se incorporan al material polimérico y posteriormente evalúan en alimentos o modelos alimenticios (Weng y col., 1998). Lo anterior se ha atribuido a una limitada migración del compuesto adicionado al envase debido a la incompatibilidad del agente con el material de envasado.

En diferentes desarrollos de envases activos se han incorporado compuestos compatibilizantes como el copolímero de polietileno con ácido metacrílico, copolímero de polietileno ácido acrílico y copolímero en base a poliamida, con la finalidad de incrementar la afinidad entre el material base y el componente activo, encontrándose mayor actividad antimicrobiana en las películas modificadas (Ha y col., 2001, Matche y col., 2006, Weng y col., 1998).

## **Migración**

El proceso de migración en envases es considerado como la transferencia de masa de una fuente ajena hacia el alimento. Generalmente, la migración se da en los productos alimenticios a partir de los recipientes que los contienen. Los materiales de envasado no son completamente inertes al estar en contacto con el alimento, estos son capaces de transmitir residuos de bajo peso molecular al alimento; por ejemplo, en el caso de los plásticos pueden migrar residuos monoméricos del material al alimento. La migración puede estar determinada por distintos parámetros, como lo son el tiempo de exposición, la difusión que presenten en el alimento, el equilibrio, así como las características de temperatura y manejo de los materiales (Graciano-Verdugo y col., 2010; Salafranca y col., 2009; Granda-Restrepo y col., 2009).

### **Tipos de Migración**

Usualmente se divide la migración en global y específica: La migración global (o total) es la suma de todos (usualmente desconocidos) los componentes móviles del envase transferidos al alimento, mientras que la migración específica relaciona sólo a uno o dos compuestos individuales e identificables, ya sea con interés toxicológico en particular o como compuestos usados en diseños experimentales para elucidar el grado o mecanismo de migración. La migración global es una medida de todos los compuestos transferidos en el alimento sean o no de interés toxicológico, e incluye sustancias que son fisiológicamente dañinas, como los monómeros no



polimerizados del material como el monómero de cloruro de vinilo en el cloruro de polivinilo (PVC), o el monómero de estireno en el poliestireno (PS) (Ariosti, 2002).

### **Factores que Influyen en la Migración**

Existen distintos factores que afectan la migración de los componentes del material que contiene al alimento hacia el mismo, entre ellos se tienen que considerar las características del alimento, como la concentración de solutos o la humedad, el tiempo de contacto, las temperaturas de proceso y almacenamiento, los migrantes presentes, la naturaleza del alimento y la difusión del migrante en el mismo. Para explicar este proceso se ha propuesto un mecanismo de transferencia el cual consiste en tres etapas. La primera etapa hace referencia a la difusión del migrante, la cual se lleva a cabo en la matriz del material de envase; generalmente son matrices poliméricas, jugando un papel importante el porcentaje de cristalización de los polímeros, dado que el proceso de difusión de los compuestos migrantes se da en las áreas amorfas del material de envase; la segunda etapa corresponde a la disolución del migrante en la interface entre el alimento y el envase, es el primer contacto que existe entre ambos; la tercera etapa corresponde a la dispersión del migrante en el alimento (Graciano-Verdugo, 2009, Ureta, 1989).

De acuerdo a Foldes (1993), la velocidad de difusión de moléculas pequeñas en polímeros es gobernado por la movilidad del penetrante y las cadenas poliméricas. Esto es determinado por el tamaño y forma del material difusor y por la magnitud y



distribución del volumen libre en el polímero. La teoría del volumen libre se refiere a que la movilidad de una molécula pequeña en un medio dado depende de la probabilidad de que la molécula encuentre en este un hueco de gran tamaño para su difusión. Se ha mostrado que la velocidad de penetración de moléculas pequeñas depende solamente de la cantidad de volumen libre en el polímero y es generalmente aceptado que el transporte de moléculas pequeñas en polímeros semicristalinos toma lugar solamente en la región no cristalina (Foldes, 1993).

### **Legislación y Normatividad**

El objetivo principal de las regulaciones de envasado de alimentos es prevenir las interacciones que pueden ser nocivas para los consumidores o que pueden tener efectos adversos en la calidad del alimento o del envase. Debido a lo anterior se han desarrollado distintas reglamentaciones que se encargan de estipular el nivel de uso de aditivos y tipos de materiales permitidos en contacto de alimentos para asegurar la inocuidad del alimento envasado para el consumidor. En algunos países existen regulaciones amplias y complejas, mientras que en otros lugares se siguen recomendaciones menos específicas (Wessling, 2000). La mayoría de los controles legislativos para plásticos en contacto con alimentos requieren evidencia como la migración o extractabilidad para determinar la posible contaminación de los alimentos y riesgos para el consumidor.

En la Comunidad Europea, los envases alimentarios son regulados de manera general por el Reglamento (CE) n° 1935/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo (Diario Oficial de la Unión Europea, 2004), y legislaciones como la Directiva 2002/72/CE relacionada con los materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002) las cuales establecen normativas y técnicas específicas para ensayos de migración en envases en contacto con alimentos. En Estados Unidos, las reglamentaciones para el envasado de alimentos son establecidas por la FDA en el Título 21 del Code of Federal Regulations (CFR) en las partes 174-179 (USFDA, 2012). Estas legislaciones dan las herramientas necesarias para el análisis de los materiales de envase, estableciendo las condiciones analíticas para evaluar la migración de estos compuestos hacia alimentos y de esta forma asegurar que los migrantes no superen los límites establecidos (Salafranca, 2009; USFDA, 2012; Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002). En México no existen regulaciones específicas para ensayos de migración, en la práctica se aplican las regulaciones para envases establecidas por la FDA.

### **Simulantes de Alimentos Empleados para Evaluar la Migración**

Los controles legislativos para plásticos en contacto con alimentos, incluyen la evaluación de la migración mediante ensayos que permitan determinar la cantidad de sustancia de interés que migra hacia el alimento, para demostrar el cumplimiento con las legislaciones vigentes. La experimentación con alimentos reales en contacto con



alimentos es difícil debido a varias razones, entre las principales se encuentra que los alimentos son muy complejos, por lo que el análisis de cantidades traza de sustancias en éstos es analíticamente muy complicado. Debido a esto, es práctica común usar simulantes de alimentos, en vez de alimentos reales. Estos simulantes son fluidos que ejercen una acción extractiva similar a los alimentos (Wessling, 2000).

Los líquidos propuestos por la Directiva 97/48/EEC (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 1997) para emplearse como simulantes de alimentos se presentan en la Tabla 1. Estos líquidos simulan alimentos respecto a la acidez o neutralidad, naturaleza acuosa o grasa o contenido alcohólico. Los resultados de migración obtenidos con estos simulantes de alimentos dan información para cada clase de alimentos representados por los simulantes y mediante factores de corrección se puede determinar la efectividad del material en presencia de alimentos específicos (Diario Oficial de la Unión Europea, 1997). Otro factor importante en la migración de los alimentos es la velocidad de difusión de los migrantes hacia el alimento.

*Coefficiente de difusión (D).* El proceso de migración de materiales poliméricos depende de factores como la difusión, la disolución y el equilibrio, en el cual se involucran compuestos de bajo peso molecular entre los cuales podemos encontrar sustancias migrantes deseadas como los antimicrobianos y antioxidantes o



**Tabla 1.** Líquidos propuestos como simulantes de alimentos empleados en ensayos de migración.

<b>Alimento</b>	<b>Simulante Líquido</b>
Alimentos neutros, acuosos no-alcohólicos	Agua destilada
Alimentos ácidos, acuosos, no alcohólicos pH<4.5	Ácido acético 3% p/v en agua
Alimentos alcohólicos	Etanol 10-15% v/v en agua
Alimentos grasos	Aceite de oliva, aceite de girasol o mezcla de triglicéridos sintéticos, etanol 95%

Fuente: Diario Oficial de las Comunidades Europeas (1997)

compuestos no deseados como monómeros no polimerizados del material; los cuales son transferidos de la matriz al alimento que se encuentra en contacto. El proceso de migración se caracteriza mediante la cinética de difusión del migrante en la película y se puede describir mediante los modelos basados generalmente en la segunda Ley de Fick:

$$\frac{\partial C_p}{\partial t} = D_p \frac{\partial C_p}{\partial x}$$

donde el flujo del migrante se encuentra en dirección contraria al gradiente de concentración ( $C_p$ ), a través del espesor ( $x$ ) del polímero. La constante de proporcionalidad es el coeficiente de difusión del migrante en el polímero ( $D_p$ ), la expresión es considerada válida cuando no existen variaciones en las magnitudes con respecto al tiempo ( $t$ ), y el coeficiente de difusión no dependa de la concentración, el cual mide la velocidad del proceso de difusión (Catalá y Guevara, 2002).

Dada la complejidad del proceso de migración, se realizan varias suposiciones así como simplificaciones del sistema migratorio que se trata de explicar (Crank, 1975; Hamdani y col.; 1997; Limm y Hollified, 1996). Se considera que (1) hay un solo migrante; (2) el migrante está distribuido uniformemente; (3) el alimento es un sistema líquido, homogéneo que no presenta gradientes de concentración; (4) el

coeficiente de difusión es constante durante la migración y depende solo de la temperatura (Chung y col., 2002).

Hamdani y col. (1997) desarrolló un modelo simplificado para evaluar la migración asumiendo que un envase limitado (con dimensiones finitas) está en contacto con un alimento infinito, mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{M_{F,t}}{M_{F,\infty}} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2 \pi^2} \exp \left[ -\frac{(2n+1)^2 \pi^2}{4d_p^2} Dt \right]$$

donde  $M_{F,t}$  es la cantidad del migrante en el alimento en un tiempo particular  $t$  (en segundos  $s$ ),  $M_{F,\infty}$  es la cantidad del migrante en el alimento en el equilibrio,  $d_p$  (cm) es el espesor del polímero,  $D$  ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ) es el coeficiente de difusión del migrante en el polímero y  $t$  es el tiempo.

Cabe mencionar que hasta el momento son escasos los estudios que han evaluado la incorporación de agentes compatibilizantes en envases activos antioxidantes por lo que en el presente trabajo se planteó el desarrollo de una película de PEBD adicionada con el antioxidante natural catequina y compatibilizada con el copolímero de polietileno injertado con anhídrido maléico con la finalidad de mejorar la afinidad del antioxidante con la matriz no polar del PEBD.



## HIPÓTESIS

La adición de catequina a películas de PEBD presenta un efecto antioxidante al migrar hacia aceite de pescado el cual se incrementa por la incorporación de un agente compatibilizante a la película.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Evaluar la migración de la catequina incorporada en películas compatibilizadas de polietileno de baja densidad (PEBD) y su efecto antioxidante en aceite de pescado.

### Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto de la compatibilización de las películas de PEBD y la concentración de catequina sobre las propiedades morfológicas, térmicas y mecánicas de las películas desarrolladas.
2. Determinar el efecto de la compatibilización y concentración de catequina en su migración hacia aceite de pescado y un simulante de alimento graso durante su almacenamiento.
3. Determinar el efecto antioxidante de la migración de catequina de las películas de PEBD compatibilizadas, hacia aceite de pescado durante su almacenamiento a 40°C.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materiales**

Para la elaboración de las películas se utilizó catequina grado alimento (Teavigo<sup>®</sup>, 94% galato de epigallocatequina (GEGC), DSM Nutritional Products, Suiza), butil hidroxitolueno (BHT) (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA), resina de polietileno de baja densidad (PEBD) (grado PX 20020X, PEMEX Petroquímicos, Coatzacoalcos, Ver., México) y como agente compatibilizante el copolímero de PEBD injertado con anhídrido maléico (LDPEgMA) (ADMER<sup>®</sup> grado NF498A, Mitsui Chemical America, Inc., New York, NY, USA). En el ensayo de migración se empleó etanol al 95% (v/v). mientras que en el de oxidación se utilizó aceite de pescado refinado libre de antioxidantes (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA).

### **Formulación y Obtención de Pellets**

La elaboración de las películas se realizó en dos etapas: la primera de estas correspondió a la obtención de pellets de cada una de las formulaciones, con la finalidad de obtener mezclas más homogéneas (Tabla 2). Los pellets fueron elaborados en un extrusor doble husillo Werner Z5K-57, a una temperatura de 160°C en el rotor y 180°C en el cabezal y a una velocidad de procesamiento de 120 rpm. De



**Tabla 2.** Formulación de las películas de PEBD a elaborar indicando su contenido de catequina (CQ) y compatibilizante (COMP).

CQ (%)	Compatibilizante (%)	
	0	5
0	control <sup>1</sup>	control-comp
1	CQ1	CQ1-comp
3	CQ3	CQ3-comp

<sup>1</sup>Las películas se elaboraron con PEBD como materia base por lo que la película control contenía solamente este material polimérico.

control: PEBD

control-comp: PEBD/Compatibilizante 5%

CQ1: PEBD/Catequina 1%

CQ3: PEBD/Catequina 3%

CQ1-comp: PEBD/Compatibilizante 5%/Catequina 1%

CQ3-comp: PEBD/Compatibilizante 5%/Catequina 3%

igual manera se preparó una premezcla con 1% (p/p) de BHT como antioxidante sintético de referencia. Los pellets fueron elaborados en el Departamento de Transformación de Plásticos, del Centro de Investigación en Química Aplicada, (CIQA), de Saltillo, Coahuila.

## **Elaboración de las Películas**

La elaboración de las películas se llevó a cabo mediante un proceso de extrusión; para ello se utilizó un extrusor para pequeños volúmenes de mezclas a nivel laboratorio (LME Laboratory Mixing Extruder, Atlas Polymer Evaluation Products, NJ, USA) del Departamento de Investigación de Polímeros y Materiales, de la Universidad de Sonora, con temperaturas de procesamiento de 160°C en el rotor y 180°C en el cabezal a una velocidad de 120 rpm. De igual manera se preparó una película libre de antioxidantes como película control. Las películas se seleccionaron con un espesor de  $53 \pm 0.014 \mu\text{m}$ , que se determinó utilizando un micrómetro digital Fowler (Fowler Company, Newton, MA, USA).

## **Caracterización de las Películas Desarrolladas**

### **Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)**

Se obtuvieron las características morfológicas de las películas determinando su microestructura superficial, la cual se relaciona con la distribución en superficie de los

diferentes componentes utilizados en las películas elaboradas. Las muestras fueron cortadas en piezas de 5x5 mm aproximadamente y cubiertas con una delgada capa de oro. El análisis se llevó a cabo por microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), usando un equipo JOEL JSM-5410 LV (Scanning microscope, Japón), con una magnificación de 500X (Mumatz y col. 2010).

### **Espectroscopía Infrarroja de Transformadas de Fourier (FT-IR)**

El análisis infrarrojo permite analizar la estructura y grupos funcionales de las mezclas empleadas en la elaboración de las películas, así como los cambios espectroscópicos debidos a posibles interacciones entre cada uno de los componentes. Para ello, las muestras se analizaron mediante espectroscopía infrarroja empleando un espectrofotómetro FT-IR (Infrarrojo de Transformada de Fourier, Nicolet Magna 4R 560, USA), a un intervalo espectral de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  (Villalpando-Olmos, 1999).

### **Propiedades Ópticas**

#### **Color**

La medición de color de las películas se realizó mediante el sistema CIE  $L^*a^*b^*$ , se utilizó un colorímetro HunterLab MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory, Reston, VA, USA), y se registraron los valores de  $L^*a^*b^*$  con cinco lecturas en cada



películas. Se obtuvieron las diferencias de color de las películas plásticas  $\Delta L$ ,  $\Delta a^*$  y  $\Delta b^*$  utilizando la película libre de antioxidante como referencia, siguiendo la técnica descrita por Wessling y col. (2000) donde  $\Delta L = L_{\text{muestra}} - L_{\text{referencia}}$ ,  $\Delta a^* = a^*_{\text{muestra}} - a^*_{\text{referencia}}$  y  $\Delta b^* = b^*_{\text{muestra}} - b^*_{\text{referencia}}$ . Asimismo, se calculó el cambio total de color ( $\Delta E$ ) a partir de la siguiente relación:  $\Delta E = ((\Delta L)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{0.5}$ .

### **Transmisión de Luz**

La transmisión de luz de las películas plásticas determinó empleando un espectrofotómetro de doble haz (UV-Vis Cary 100, Varian Inc., Palo Alto, CA, USA), determinándose el porcentaje de transmisión de luz en un rango de 200 a 850 nm, de acuerdo al método descrito por Wessling y col., (2000). Se tomaron tres lecturas para el análisis en cada película.

### **Propiedades Mecánicas**

Se determinó la resistencia a la tensión y el porcentaje de elongación de las películas elaboradas, utilizando una máquina United SSTM-5KN (United Testing Systems, Huntington Beach, CA, USA), de acuerdo a la norma ASTM D1708-96 (ASTM, 1992), a una carga de 5000 N y una velocidad de prueba de 0.25 mm/min. Las probetas (n=10) fueron cortadas con un dado de acero con dimensiones especificadas en la norma (35 mm de longitud total, con 5 mm de ancho en el centro de la probeta y 18 mm de ancho en los costados).

## **Propiedades Térmicas**

Se determinó la temperatura de fusión y el porcentaje de cristalinidad de las películas elaboradas, empleando trozos de  $3\pm 0.3$  mg de peso. Se utilizó un calorímetro diferencial de barrido (Perkin Elmer 8000) a un rango de temperatura de 10 a 175°C y una velocidad de barrido de 5°C/min, usando aire como referencia. Una vez obtenidos los termogramas se determinó la temperatura de fusión ( $T_m$ ) de las películas y el grado de cristalinidad expresado como porcentaje, calculado a partir del calor de fusión ( $\Delta H_m$ ) de la muestra, respecto al calor de fusión teórico para polietileno cristalino (290 J/g) (Wright y Lesser, 2001). El análisis se realizó por duplicado.

## **Cuantificación de Catequina**

Se realizó la cuantificación de catequina en las películas elaboradas, tanto en las películas sin compatibilizar como las compatibilizadas, de esta forma se determinó el porcentaje de degradación de la catequina por efecto de las temperaturas de extrusión, así como la concentración del compuesto antioxidante disponible para migrar hacia el alimento. El análisis se realizó por un método espectrofotométrico, para lo cual se colocaron 10 cm<sup>2</sup> de película en recipientes de vidrio protegidos de la luz y se agregaron 60 mL de etanol absoluto para su extracción durante 24 h, y posteriormente se leyó la absorbancia a 280 nm, la cual corresponde a la máxima longitud de onda para el GEGC (Lee y Lee, 2008, Castillo-Montoya, 2010). Este



proceso se repitió hasta cuatro veces para garantizar la extracción total del antioxidante. El contenido de GEGC se obtuvo a partir de una curva estándar a base de GEGC (Castillo-Montoya, 2010). Debido a que no es posible adicionar GEGC al polímero y extruirlo sin pérdida del antioxidante, el porcentaje de recuperación del GEGC se determinó agregando una concentración conocida de GEGC a piezas de la película control y siguiendo el procedimiento de extracción mencionado anteriormente. Todos los datos analíticos obtenidos fueron corregidos con el porcentaje de recuperación.

### **Evaluación de la Migración de Catequina**

Se evaluó la migración del GEGC contenido en las películas, empleando etanol al 95% (v/v), como simulante de alimento graso. La determinación se realizó mediante la inmersión de  $0.054 \pm 0.005$  g de película en 16 mL (11.91 g) de simulante a  $40^{\circ}\text{C}$  por 14 días, de acuerdo a lo propuesto para ensayos de migración (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002). Los muestreos se realizaron en las primeras 4 horas de contacto (1, 2, 3 y 4), a las 24 horas y posteriormente a la primera y segunda semana de almacenamiento para permitir que el sistema llegara al equilibrio. Los resultados se expresaron como  $\mu\text{g/g}$  respecto al tiempo de almacenamiento. La disminución de GEGC en las películas, expresado como  $\mu\text{g}$  de GEGC/g de PEBD, se calculó con base a la concentración de GEGC en determinado tiempo ( $\text{GEGC}_t$ ) con respecto a la concentración de GEGC en el plástico al inicio del



experimento (GEGC<sub>i</sub>). Este valor se calculó por medio de la fórmula modificada de Graciano-Verdugo (2005):

$$\text{GEGC} = \frac{\text{GEGC}_t (\mu\text{g/g de PEBD})}{\text{GEGC}_i (\mu\text{g/g de PEBD})}$$

El incremento de catequina en el simulante, expresado como  $\mu\text{g/g}$  de etanol, se estimó considerando la concentración de GEGC en determinado tiempo (GEGC<sub>t</sub>) con respecto al 100% de migración de GEGC a 11.91 g etanol (GEGC<sub>m</sub>) empleando la siguiente fórmula:

$$\text{GEGC} = \frac{\text{GEGC}_t (\mu\text{g/g de PEBD})}{\text{GEGC}_m (\mu\text{g/g de PEBD})}$$

La cuantificación de catequina en las películas y simulante se realizó por análisis espectrofotométrico de acuerdo a la técnica anteriormente descrita.

### **Determinación del Coeficiente de Difusión (D)**

Se determinó el coeficiente de difusión (D) para la catequina presente en las películas en los diferentes tratamientos almacenados a 40°C. El D se obtuvo a partir de los datos obtenidos en la cinética de migración, del espesor de la película (L<sub>p</sub>) y de la pendiente (S<sub>F∞</sub>) obtenida a partir de la curva cinética de M<sub>F,t</sub>/M<sub>F,∞</sub> respecto a la

raíz cuadrada del tiempo de contacto (Hamdani y col., 1997), aplicando la siguiente ecuación:

$$D = (\pi/4)(S_{F,\infty} L_p)^2$$

## **Evaluación del Efecto Antioxidante de las Películas Desarrolladas**

Se evaluó el efecto antioxidante de las películas desarrolladas sobre aceite de pescado durante su almacenamiento a 40°C, simulando un proceso de oxidación acelerada. Se llevó a cabo la inmersión de 10.56 cm<sup>2</sup> de película en 84 g de aceite y se realizaron muestreos a los 1, 2, 3, 4, 7, 10 y 14 días de almacenamiento. Se determinó el grado de oxidación del aceite mediante las técnicas de índice de peróxido (IP) así como de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

### **Índice de Peróxidos (IP)**

Esta determinación se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Kirk y col., (2000). Para ello se pesó 1 g de aceite de pescado y 1 g de yoduro de potasio (KI) en un tubo de ensaye, al cual se le agregaron 20 mL de ácido acético:cloroformo (3:2). El tubo se colocó 30 s en agua en ebullición y transcurrido el tiempo se transfirió la solución a un matraz conteniendo 20 mL de solución de KI al 5%, posteriormente se lavó el tubo de ensaye con 25 mL de agua destilada y finalmente se tituló con

tiosulfato de sodio 0.002M, utilizando almidón como indicador. El valor de peróxido se reportó como miliequivalentes de peróxido por kilogramo de muestra (mEq/Kg).

### **Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)**

El análisis se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Zuta y col., (2007), modificada por Castillo-Montoya (2010), la cual consistió en la extracción de malonaldehído mediante homogenización de la muestra de aceite de sardina (0.5-1.0 g) con 25 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 5% (p/v) en agua destilada, se mezcló en un vortex por 30 s y posteriormente se centrifugó a 3000 rpm/5 min a 25°C. Enseguida se filtró (Whatman no. 1) y se tomaron alícuotas de 2 mL para mezclarse con 3 mL de TBA 0.02 M. Los tubos se colocaron en baño maría a ebullición por 20 min, transcurrido este tiempo, se detuvo la reacción colocando los tubos en un baño de agua-hielo antes de su lectura a 532 nm. Los valores de TBARS fueron calculados a partir de una curva estándar de MA en base a 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP).

### **Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos en la caracterización de las películas fueron analizados mediante un diseño completo al azar con arreglo factorial 3x2, considerando como factores la concentración de catequina (0, 1, 3%) y la concentración de compatibilizante (0, 5%). Por otra parte, los valores obtenidos en la migración del



GEGC fueron evaluados mediante un diseño de bloques completo al azar con arreglo factorial  $3 \times 2$ , considerando como bloque el tiempo de almacenamiento y como factores la concentración de catequina (0, 1, 3%) y la concentración de compatibilizante (0, 5%). Respecto a los datos obtenidos en el estudio de la estabilidad a la oxidación del aceite, se empleó un diseño completo al azar con arreglo factorial  $3 \times 2 \times 7$  considerando como factores la concentración de catequina (0, 1, 3%), concentración de compatibilizante (0, 5%) y el tiempo de almacenamiento (1, 2, 3, 4, 7, 10 y 14 días). En cuanto a la cinética de migración se aplicó estadística descriptiva y análisis de regresión lineal simple. Las ecuaciones de predicción fueron utilizadas para calcular el D.

En todos los casos, el análisis de varianza se realizó por modelos lineales generales a un nivel de significancia de 0.05 en el error. Las comparaciones de medias se realizaron por la prueba de rangos múltiples de Tukey y el análisis de los datos se llevó a cabo utilizando el software NCSS v6.0 (Hintze, 2001).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

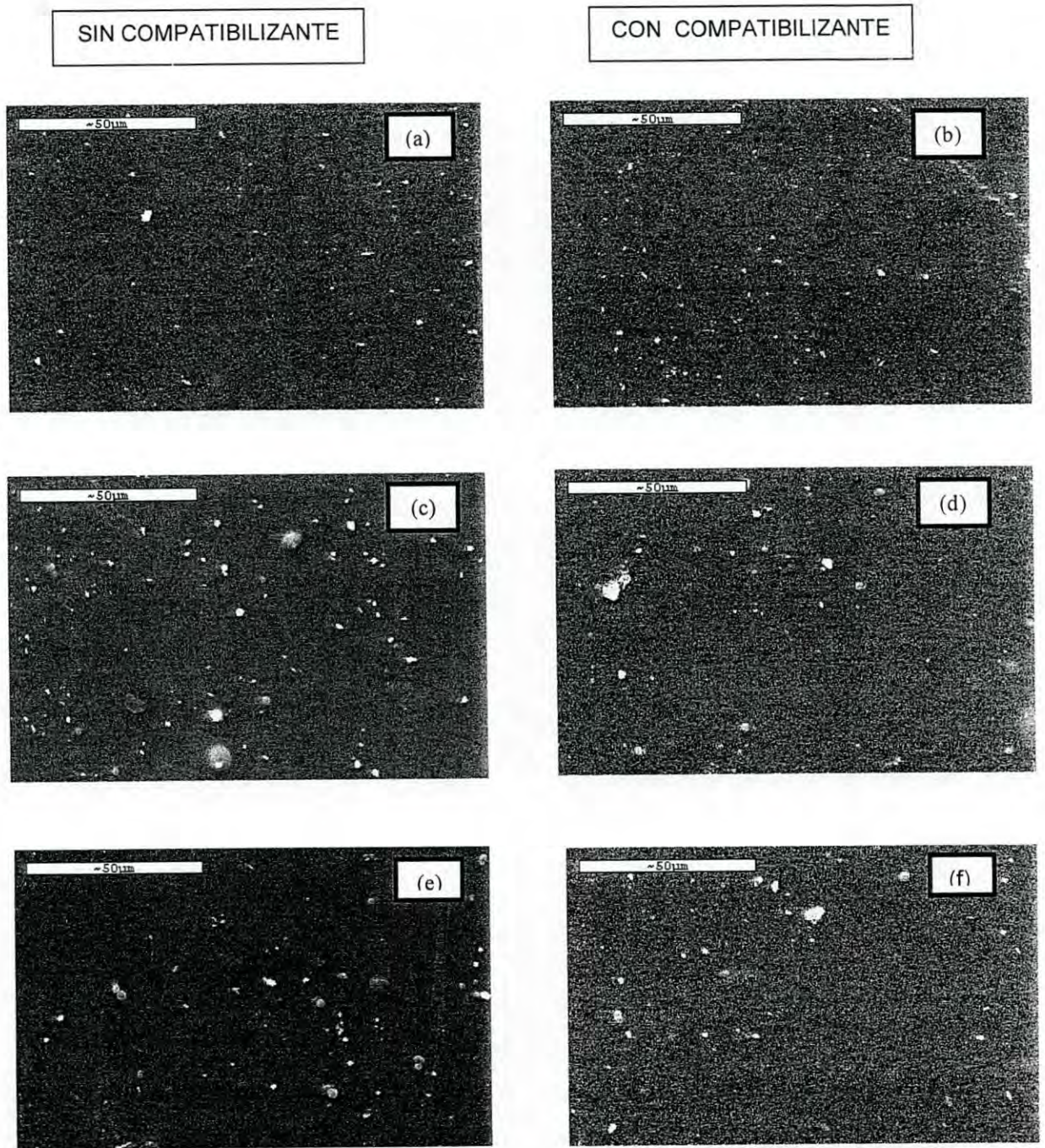
### **Microscopía Electrónica de Barrido**

En la Figura 9 se muestran las micrografías de las películas elaboradas. Como se puede observar, las películas mostraron una superficie homogénea. La película control (Figura 9a), así como aquellas conteniendo el copolímero de PEBD con anhídrido maléico (Figura 9b, 9d, 9f) presentaron una morfología similar, observándose una rugosidad uniformemente distribuida en la superficie, lo cual concuerda con la morfología superficial de películas de PEBD reportada por Mumatz y col. (2010). Lo anterior puede relacionarse con un mayor grado de interacción del anhídrido maléico y el GEGC con el polímero. En el caso de las películas con GEGC sin compatibilizante (Figura 9c, 9e), se observó una superficie más lisa respecto a la película control (PEBD), lo cual sugiere una menor interacción entre el GEGC y el PEBD.

### **Espectroscopía de Infrarrojo**

El análisis de espectroscopía de infrarrojo permite determinar la composición de las películas, así como las interacciones desarrolladas entre sus componentes. El





**Figura 9.** Morfología superficial de las películas analizadas por SEM (750X). (a) PEBD, (b) PEBD con 5% de compatibilizante (control-comp), (c) PEBD con 1% de GEGC (CQ1), (d) PEBD con 5% de compatibilizante y 1% de GEGC (CQ1-comp), (e) PEBD con 3% de GEGC (CQ3), (f) PEBD con 5% de compatibilizante y 3% de GEGC (CQ3-comp).



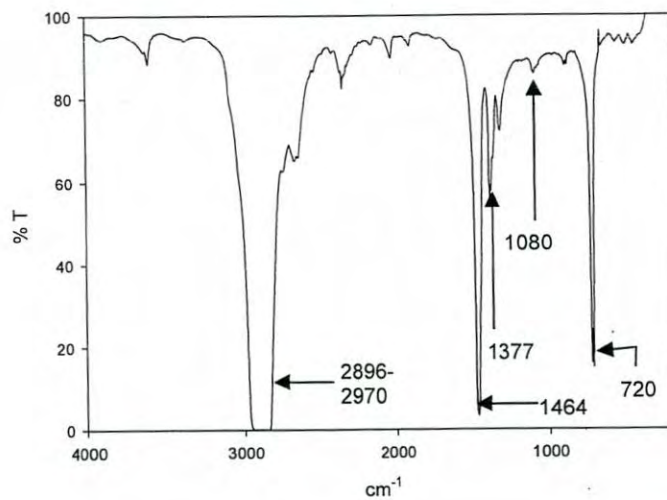
espectro de la película control de PEBD (Figura 10a) mostró las bandas características del grupo  $\text{CH}_2$  a  $2896$  y  $2970 \text{ cm}^{-1}$  correspondientes al estiramiento simétrico y asimétrico, respectivamente. Los picos a  $1377$  y  $1464 \text{ cm}^{-1}$  se atribuyeron a la vibración de flexión del C-H ( $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$ ), el pico a  $1080 \text{ cm}^{-1}$  se atribuyó al estiramiento vibracional de C-C, mientras que la banda a  $720$  fue relacionada con la deformación asimétrica de flexión del grupo  $\text{CH}_2$  (Mičušík y col., 2006).

Como se muestra en la Figura 10b el espectro del compatibilizante (copolímero de PEBD-anhídrido maléico) presentó los picos característicos del anhídrido maléico, con bandas a  $1791$ ,  $1741$ ,  $1711$  y  $1691 \text{ cm}^{-1}$  correspondientes al estiramiento del grupo C=O, mientras que el pico a  $1184 \text{ cm}^{-1}$  se relacionó con la vibración de estiramiento del grupo C-O del anhídrido cíclico (Villalpando-Olmos, 1999, Porto y col., 2004).

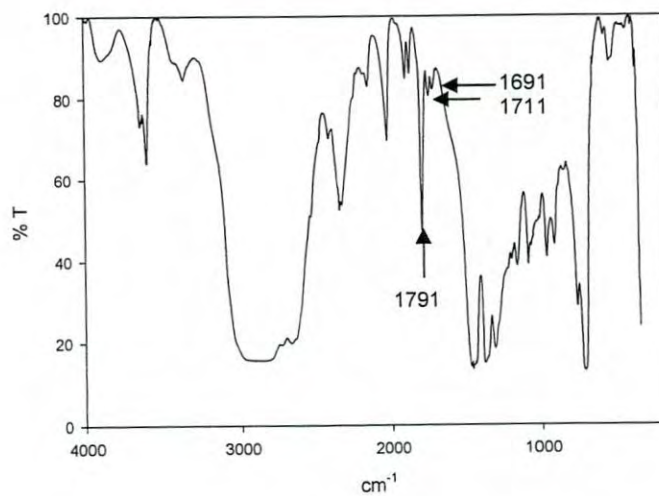
Como se puede observar en la Figura 11, el espectro de la película de PEBD con compatibilizante no se presentaron los picos característicos del anhídrido maléico, solo se observan las señales relacionadas con el PEBD, mostrándose solo un incremento en la intensidad y/o ancho de las bandas. Este comportamiento se puede atribuir a la baja concentración de anhídrido maléico incorporado al PEBD (5%).

Resultados similares fueron reportados por Ratanakamnuan y Aht-Ong (2006), quienes encontraron que aún después de adicionar 10% (peso) de agente compatibilizante (copolímero de PEBD-anhídrido maléico) a PEBD, así como

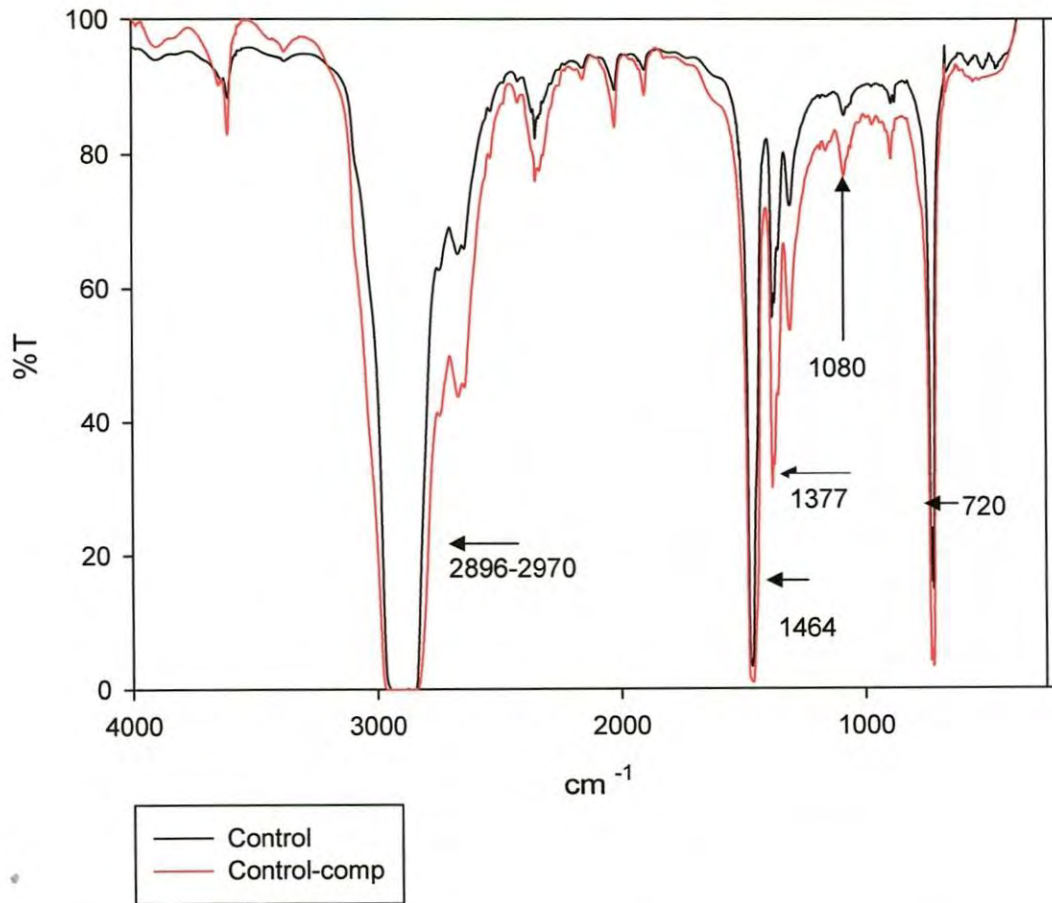
a)



b)



**Figura 10.** Espectros FT-IR obtenidos para el a) PEBD (control) y b) agente compatibilizante (PEBD injertado con anhídrido maléico).



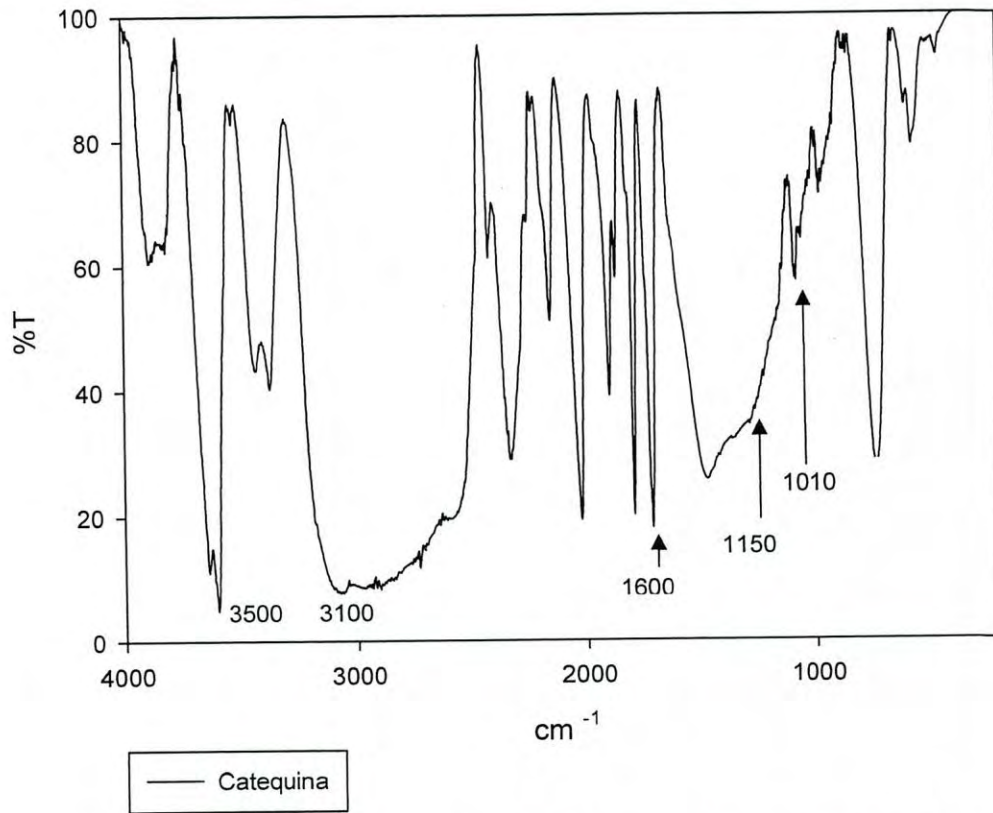
**Figura 11.** Espectros FT-IR obtenidos para PEBD (control) y PEBD con 5% del agente compatibilizante (control-comp).



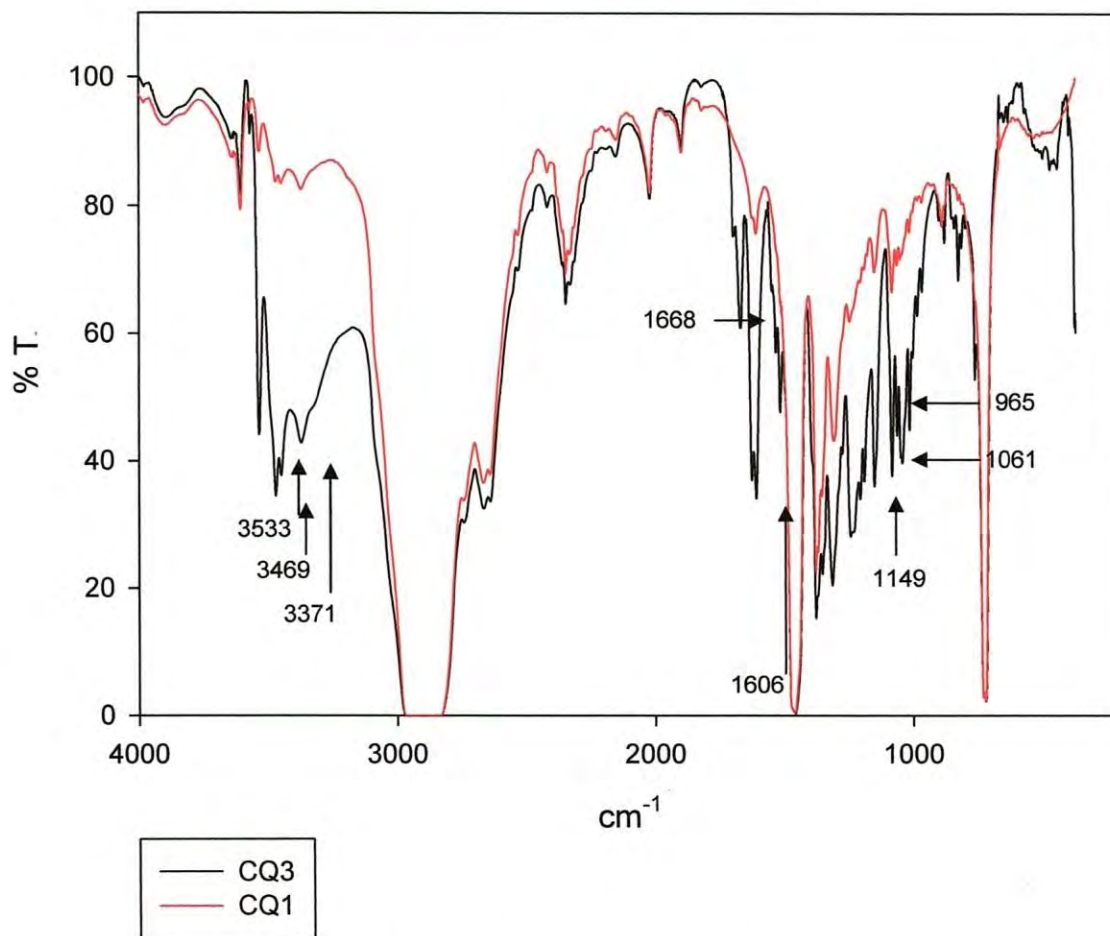
mezclas de PEBD y almidón de plátano, no se presentaron diferencias entre los espectros, atribuyéndolo a la baja concentración de grupos anhídrido presente en la mezcla, la cual no excedía de 0.01 a 0.02%. Esta cantidad se obtuvo, en el caso de las mezclas, partir del porcentaje de almidón empleado (20% peso) y la consideración de que el copolímero de PEBD con anhídrido maléico contiene entre 0.5 a 1% (peso) de grupos anhídrido. Ratanakamnuan y Aht-Ong (2006) mencionan que esta baja concentración limita la formación de puentes de hidrógeno entre el grupo anhídrido del compatibilizante y grupo hidroxilo del almidón, sin embargo, al igual que en el presente estudio, se reporta que hubo efecto sobre las propiedades mecánicas observándose un incremento en la tensión, así como una disminución en la elasticidad.

Respecto al espectro del GEGC, en la Figura 12 se muestran las bandas características, observando una amplia banda en el rango de 3100 a 3500  $\text{cm}^{-1}$  atribuida al grupo O-H; una banda alrededor de 1600  $\text{cm}^{-1}$  que se relaciona con el grupo C=C y los picos característicos del grupo C-O que se observaron en el rango de 1010 a 1150  $\text{cm}^{-1}$  (Maoela y col., 2009).

En cuanto a los espectros de PEBD adicionado con catequina al 1 y 3%, libres de compatibilizante (Figura 13), se observó la aparición de las bandas características del PEBD y adicionalmente aparecieron picos en 3371, 3469 y 3533  $\text{cm}^{-1}$  relacionados con el grupo -OH debido a la presencia de GEGC. Cabe hacer notar



**Figura 12.** Espectro FT-IR obtenido para catequina (GEGC).

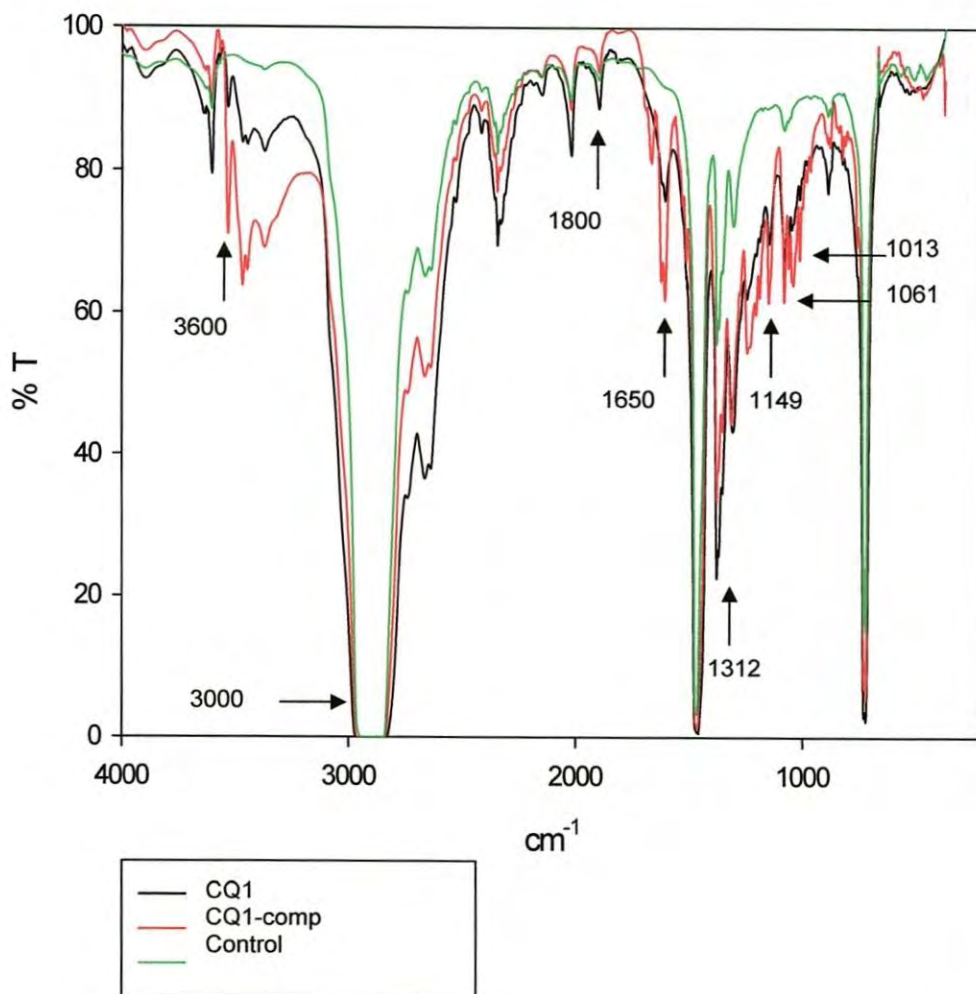


**Figura 13.** Espectro FT-IR obtenido para las películas con 1 y 3% de catequina sin compatibilizante. PEBD con 1% de GEGC (CQ1), PEBD con 3% de GEGC (CQ3).

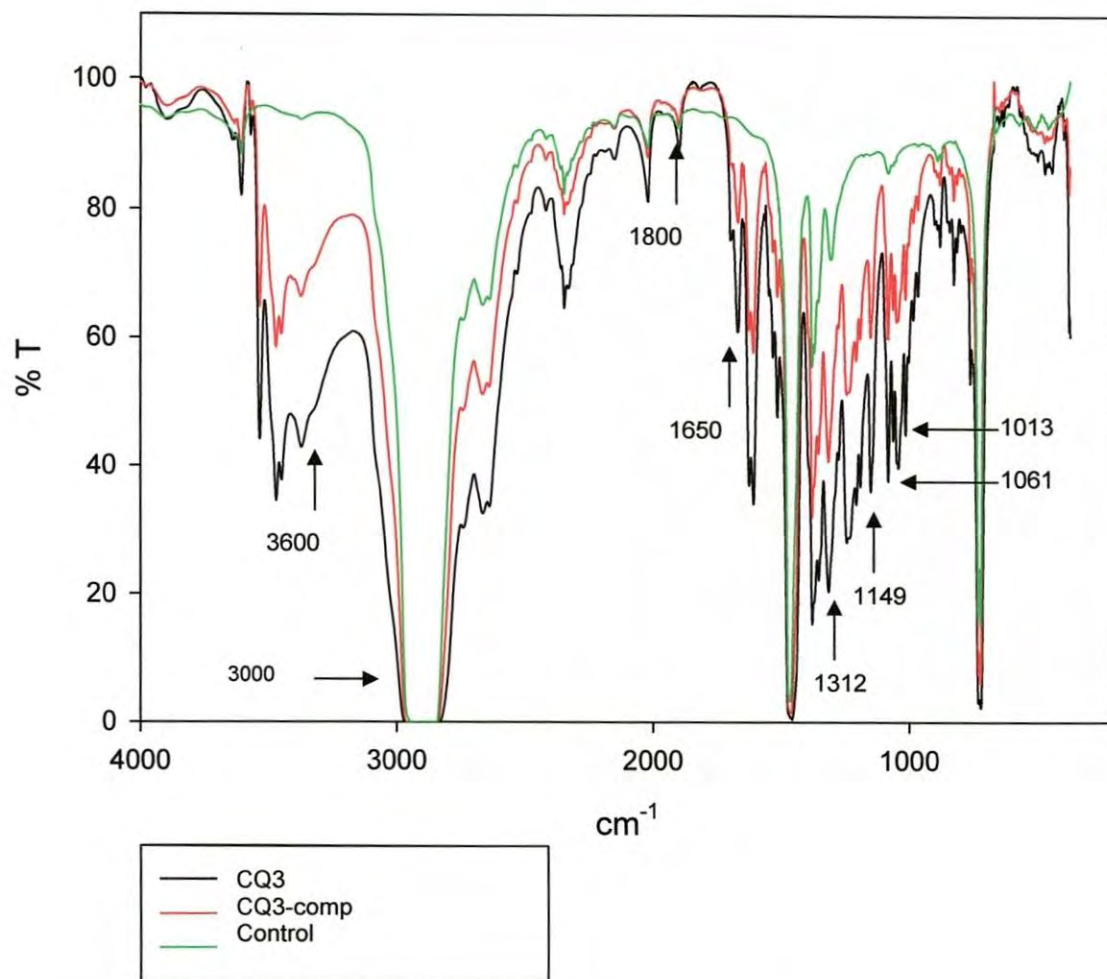


que las dos últimas bandas estuvieron ausentes en el PEBD, lo cual se puede atribuir probablemente a la presencia de vibraciones que enmascaran las señales dadas por el grupo -OH. Asimismo, apareció un pico en  $1606\text{ cm}^{-1}$  atribuido al grupo C=C y en  $1149\text{ cm}^{-1}$  relacionado con el grupo C-O del GEGC. En relación a las diferencias en los espectros debidas a la concentración de GEGC, en la película con 3% de este antioxidante se observó, además de las señales mencionadas anteriormente, nuevas bandas entre  $1606$  y  $1668\text{ cm}^{-1}$  relacionadas con el grupo C=C así como en el rango de  $965$  a  $1061\text{ cm}^{-1}$ ; la presencia de estas bandas son atribuidas a una mayor presencia del GEGC lo cual incrementa la señal. En general, se observó un incremento en la intensidad y ancho de las bandas, lo cual fue especialmente notorio en las señales relacionadas con la presencia del grupo -OH en  $3371$ ,  $3469$  y  $3533\text{ cm}^{-1}$ .

Comparando los espectros de las películas adicionadas con GEGC, sin y con compatibilizante (Figuras 14 y 15), se puede observar que en el caso de la película compatibilizada y con 1% de GEGC se presentó un mayor número de bandas y con mayor intensidad en el rango de  $1013$  a  $1061\text{ cm}^{-1}$  y de  $1149$  a  $1312\text{ cm}^{-1}$ . De particular interés para evaluar el efecto de la compatibilización, es la presencia de bandas en las regiones de  $1650$ - $1800$  y de  $3000$ - $3600\text{ cm}^{-1}$ , relacionadas con la formación de puentes de hidrógeno. Li y col. (2003) mencionan que existen dos principales rangos del espectro infrarrojo que son sensibles a la formación de puentes de hidrógeno, uno se presenta en la región de  $1650$ - $1800\text{ cm}^{-1}$  debido a la



**Figura 14.** Espectro FT-IR de las películas elaboradas con 1% de catequina. PEBD, PEBD con 1% de GEGC (CQ1), PEBD con 5% de compatibilizante y 1% de GEGC (CQ1-comp).



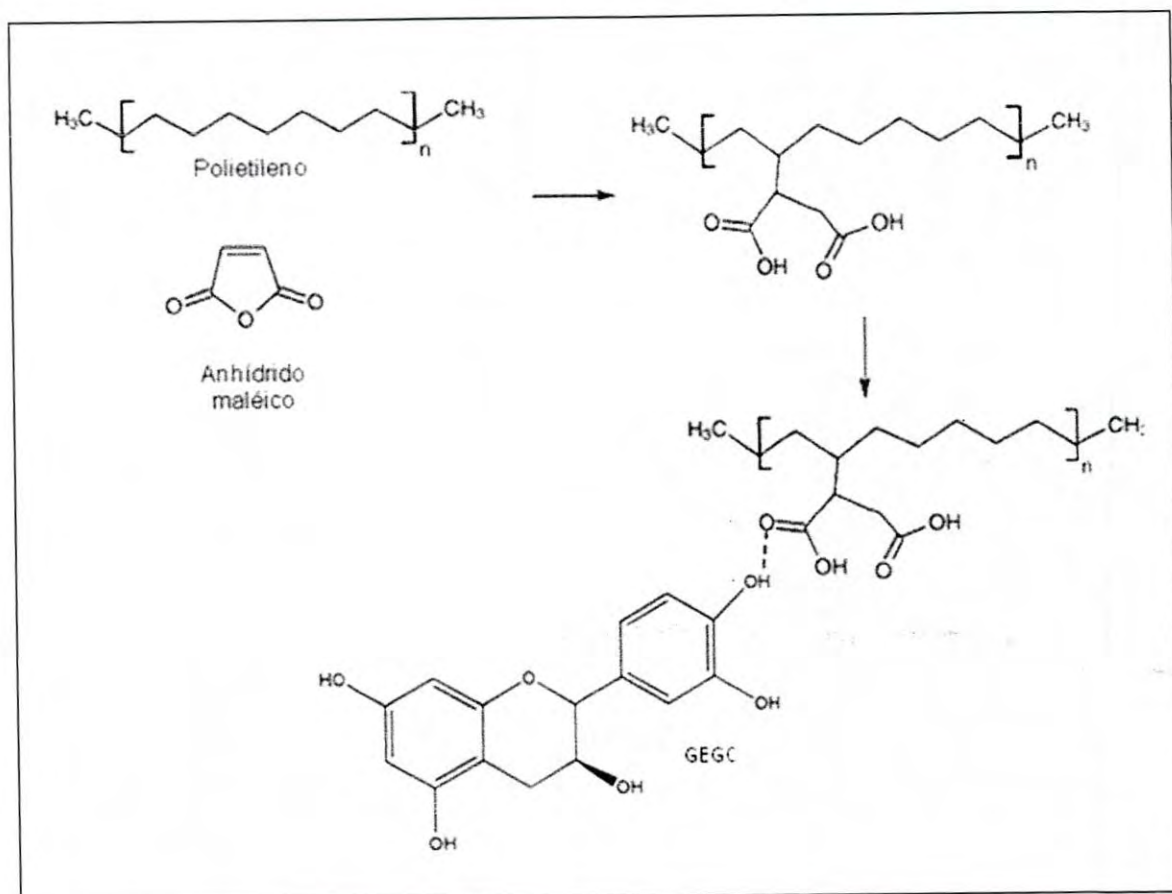
**Figura 15.** Espectro FT-IR de las películas elaboradas con 3% de catequina. PEBD (control), PEBD con 3% de GEGC (CQ3), PEBD con 5% de compatibilizante y 3% de GEGC (CQ3-comp).



vibración del grupo carbonilo y la otra es en la región de  $3000-3600\text{ cm}^{-1}$ , debido a la vibración del grupo hidroxilo.

En la Figura 14, se puede observar que las bandas encontradas en el rango de  $3371$  a  $3533\text{ cm}^{-1}$  incrementan intensidad y ancho, esto se presenta una vez incorporado el agente compatibilizante, lo cual se puede relacionar con la formación de puentes de hidrógeno entre el grupo OH del GEGC y el grupo anhídrido del compatibilizante, de acuerdo a la reacción propuesta por Rahmat y col. (2009) (Figura 16), modificada para mostrar la posible interacción entre el compatibilizante y el GEGC.

La interacción anteriormente señalada indica una mayor miscibilidad entre los componentes de la mezcla como parte del efecto compatibilizante esperado y concuerda con el comportamiento observado en las propiedades mecánicas de las películas, como se discutirá posteriormente. Cabe hacer notar que en el espectro del compatibilizante y de la película de PEBD, las bandas a  $3371$  y  $3469\text{ cm}^{-1}$  están ausentes, por lo que las variaciones de estas señales, encontradas en las películas compatibilizadas conteniendo 1% de GEGC, respecto a las películas con la misma concentración de GEGC y sin compatibilizar, no se relacionan con la incorporación del agente compatibilizante ni con el PEBD, en consecuencia, se pueden atribuir a la formación de puentes de hidrógeno.



**Figura 16.** Esquematización de la reacción que se puede llevar a cabo entre el PEBD-compatibilizante-catequina. Modificada de Rahmat y col. (2009).

Respecto a los espectros de las películas con 3% de GEGC sin y con compatibilizante (Figura 15), comparando ambos espectros se puede observar el mismo tipo de señales en el rango espectral del infrarrojo; sin embargo, la intensidad y ancho de estas disminuye al agregar el agente compatibilizante. En relación a la región entre  $3371$  a  $3533\text{ cm}^{-1}$  también se observó una disminución en la intensidad y ancho de las señales, lo cual se puede atribuir a una baja formación de puentes de hidrógeno, debido a la menor cantidad de grupos anhídrido disponibles en la mezcla para interactuar con el GEGC, presente en una mayor concentración. Estos resultados concuerdan con lo obtenido en propiedades mecánicas, como se discutirá posteriormente.

### **Propiedades Mecánicas**

En las Tablas 3 y 4 se muestran la resistencia a la tensión y elongación de las películas elaboradas respectivamente. Como se puede observar en la Tabla 3, la película de PEBD elaborada con 1% de catequina y compatibilizante (CQ1-comp) presentó mayor resistencia a la tensión que el resto de las películas ( $p < 0.05$ ) con un valor de  $18.28\text{ MPa}$  observándose un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) de los factores así como de la interacción de los mismo. Comparando el tratamiento control y la película de concentración similar (1%) y libre de compatibilizante, estas películas presentaron valores de resistencia a la tensión de  $12.87$  y  $13.04\text{ MPa}$ , respectivamente. En un estudio similar, Castillo-Montoya (2010) evaluó películas de PEBD adicionadas con GEGC encontrando que la resistencia a la tensión de las películas fue



**Tabla 3.** Resistencia a tensión (MPa) de las películas de PEBD desarrolladas.

Catequina (%)	Compatibilizante (%)	
	0	5
0	12.87 <sup>bc</sup>	13.33 <sup>bc</sup>
1	13.04 <sup>bc</sup>	18.28 <sup>a</sup>
3	13.55 <sup>b</sup>	11.88 <sup>c</sup>

<sup>abc</sup> Medias con diferente literal dentro de columna y fila, indican diferencias (p<0.05).

**Tabla 4.** Elongación (%) de las películas de PEBD desarrolladas.

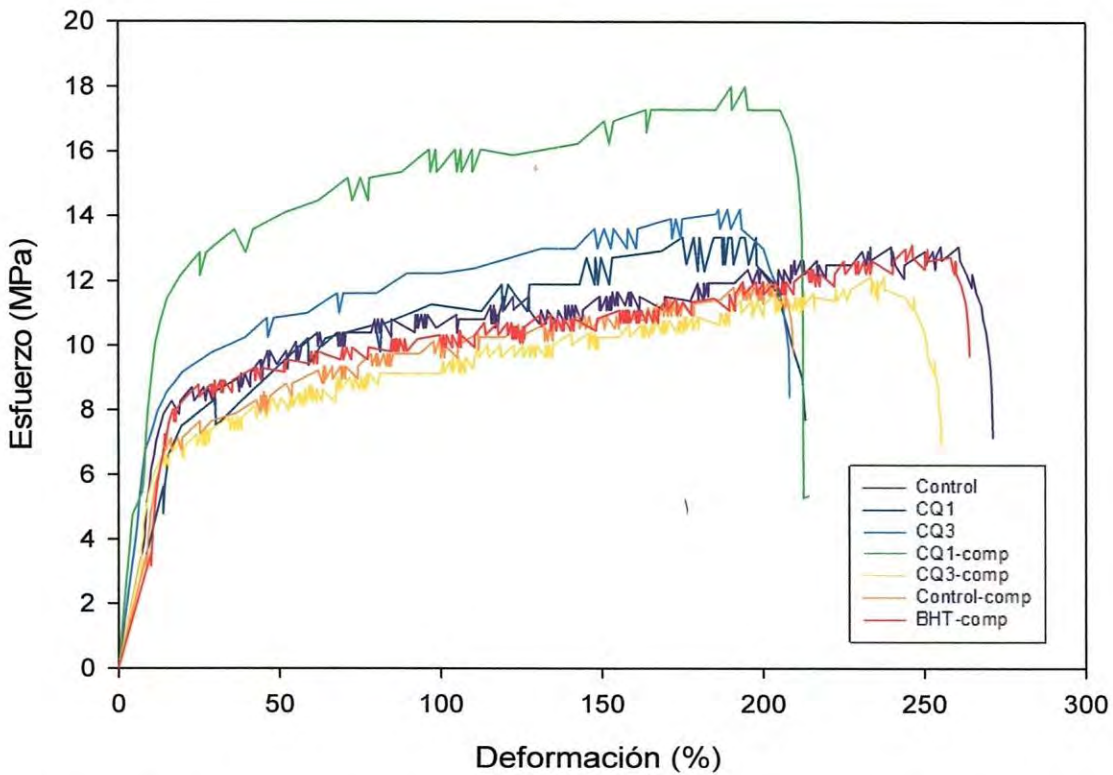
Catequina (%)	Compatibilizante (%)	
	0	5
0	252.10 <sup>a</sup>	210.79 <sup>b</sup>
1	205.40 <sup>b</sup>	210.05 <sup>b</sup>
3	241.73 <sup>b</sup>	258.02 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> Medias con diferente literal dentro de columna y fila, indican diferencias ( $p < 0.05$ ).

significativamente menor que la película control. En el presente estudio, el comportamiento de las películas adicionadas con únicamente este antioxidante y en el caso del tratamiento CQ3-comp, la resistencia a la tensión fue similar a la obtenida en la película control; sin embargo, la adición del compatibilizante en combinación con una concentración de 1% de GEGC logró mejorar esta propiedad mecánica (Figura 17). El aumento en la tensión de la película CQ1-comp se puede atribuir al efecto esperado del compatibilizante, respecto a maximizar las propiedades mecánicas de materiales compuestos por fases inmiscibles: el GEGC altamente polar por la presencia de grupos hidroxilo, mientras que el PEBD es básicamente no polar.

El comportamiento anteriormente señalado concuerda con lo reportado previamente al emplear PEBD injertado con anhídrido maléico con la finalidad de compatibilizar fases inmiscibles (Huang y col., 2004). En el caso del presente estudio, el anhídrido maléico cumple la función de reducir la tensión interfacial y promover la adhesión entre la fase de GEGC y la fase de PEBD injertado con anhídrido maléico/PEBD, posiblemente a través de puentes de hidrógeno (entre grupos hidroxilo del GEGC y grupos polares del agente compatibilizante), lo cual concuerda con lo observado en espectroscopía de infrarrojo. Resultados similares fueron reportados por Razak y col. (2009), quienes observaron un aumento en la tensión de películas elaboradas de PEBD adicionadas con anhídrido maléico para mejorar la compatibilidad con almidón, el aumento obtenido fue en relación con la concentración del compatibilizante adicionado.





**Figura 17.** Curva de esfuerzo-deformación de las películas elaboradas Control:PEBD; Control-comp: PEBD con 5% de compatibilizante, CQ1: PEBD con 1% de GEGC, CQ3:PEBD con 3% de GEGC; CQ1-comp: PEBD con 1% de GEGC y 5% de compatibilizante; CQ3-comp: PEBD con 3% de GEGC 5% de compatibilizante.

En cuanto a la película compatibilizada adicionada con la mayor concentración de GEGC, la resistencia a la tensión fue de solo 11.88 MPa, sin embargo fue similar a las películas de PEBD control (sin y con compatibilizante) así como a la película con 1% de GEGC sin compatibilizante ( $p > 0.05$ ) (Tabla 3). Respecto a la película de PEBD con concentración similar de GEGC (3%) libre de compatibilizante atribuido probablemente al efecto plastificante de los materiales; esta presentó una mayor resistencia a la tensión ( $p < 0.05$ ) que su similar compatibilizada, sin embargo al presentar valores similares a la película control ( $p < 0.05$ ) no se considera que existiera un detrimento de sus propiedades mecánicas. Adicionalmente, como se muestra en la Tabla 4, son películas con elongación similar al control, lo cual refuerza el señalamiento anterior.

Las películas que presentaron mayor elongación (Tabla 4) fueron el tratamiento control (libre de compatibilizante) y las películas de PEBD con 3% de GEGC (sin y con compatibilizante) ( $p < 0.05$ ). Se observó un efecto significativo de la adición de catequina así como de la interacción de los factores ( $p < 0.05$ ), con valores que fluctuaron entre 241.73 y 258.02%, a diferencia de las películas de PEBD compatibilizada y con 1% de GEGC (sin y con compatibilizante) las cuales presentaron menores valores ( $p < 0.05$ ), que variaron entre 205.40 y 210.79 %.

Se puede observar en la Tabla 4 que las películas conteniendo GEGC se ven afectadas por la concentración de antioxidante ya que el porcentaje de elongación se incrementa al aumentar su concentración. Este comportamiento concuerda con lo

reportado previamente respecto al efecto plastificante de los aditivos por Graciano-Verdugo (2005), al adicionar  $\alpha$ -Tocoferol en películas de PEBD, al igual que lo reportado por Razak y col., (2009), donde se señala que algunos aditivos ejercen un efecto plastificante, incrementando con ello el porcentaje de elongación de las películas; sin embargo, Castillo-Montoya (2010) no encontró un efecto significativo en la incorporación de aditivos a las películas en cuanto al efecto en el porcentaje de elongación de las mismas.

Los valores obtenidos para el antioxidante de referencia (BHT), para la formulación conteniendo solamente BHT fueron de 13.8 MPa en la tensión, valores similares a los obtenidos para los diferentes tratamientos sin compatibilizar; así mismo se obtuvo el valor de 209.51% de elongación, el cual representa un valor inferior al resto de los tratamientos; lo cual representa una menor capacidad de elongación de las películas elaboradas con BHT.

### **Propiedades Térmicas**

Las propiedades térmicas de las películas de PEBD y sus mezclas se obtuvieron mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés) y a partir de los termogramas obtenidos se obtuvo la temperatura de fusión ( $T_m$ ), considerando las temperaturas máximas de los picos endotérmicos, así como los valores de  $\Delta H$ , mediante los cuales se calcularon los porcentajes de cristalinidad de las películas elaboradas. La  $T_m$  de las diferentes películas varió entre 108.3 a 109.7°C,



ubicándose dentro del rango que suele reportarse para PEBD (100-127°C) (Ramírez, 2001; Abdel-Bary, 2003).

Comparando los valores de  $T_m$  se encontró que al incorporar el agente compatibilizante se presentó una ligera disminución, no mayor a 1 °C (Tabla 5). A pesar de lo anterior, los diferentes tratamientos presentaron una  $T_m$  similar al control ( $p>0.05$ ) excepto las películas con la concentración de 3% (sin y con compatibilizante) ( $p<0.05$ ), la incorporación de una mayor concentración de GEGC modifica la energía de activación de las películas afectando su temperatura de fusión. Un efecto similar fue reportado por Ratanakamnuan y Aht-Ong (2005) al evaluar la compatibilización entre PEBD y almidón de plátano, utilizando anhídrido maléico. Castillo-Montoya (2010) no encontró diferencias al incorporar diferentes concentraciones de catequina en películas elaboradas con 1 y 4% de GEGC, ya que los valores obtenidos para las películas elaboradas se encontró en el rango de entre 104.72 y 104.78°C. De igual forma López de Dicastillo y col. (2012) en un estudio realizado con películas de EVOH adicionando distintos antioxidantes, reportaron que la adición de catequina no afectó la  $T_m$  de las películas elaboradas.

Respecto al efecto de la incorporación del GEGC, al comparar la  $T_m$  entre las películas compatibilizadas, se observaron diferencias significativas con respecto a la adición del compatibilizante así como a la interacción de los factores ( $p<0.05$ ); sin embargo no se encontraron diferencias ( $p>0.05$ ) con respecto al control

**Tabla 5.** Temperatura de fusión (°C) de las películas elaboradas.

Catequina (%)	Compatibilizante (%)	
	0	5
0	109.0 <sup>bc</sup>	108.8 <sup>cd</sup>
1	109.6 <sup>ab</sup>	108.5 <sup>cd</sup>
3	109.7 <sup>a</sup>	108.3 <sup>d</sup>

<sup>abcd</sup> Medias con diferente literal dentro de columna y fila, indican diferencias ( $p < 0.05$ ).

(compatibilizado) al adicionar el antioxidante, en cualquiera de las dos concentraciones empleadas. Por otra parte, en las películas libres de compatibilizante se observó una mayor  $T_m$  al adicionar 3% de GEGC con respecto al control ( $p < 0.05$ ), aunque no se encontraron diferencias entre los niveles de GEGC adicionados ( $p > 0.05$ ). Este comportamiento es similar al reportado por Castillo-Montoya (2010) al incorporar GEGC en películas de PEBD, quien no encontró diferencias en los valores de  $T_m$  en las formulaciones con 1 y 4% de GEGC, al igual que lo encontrado por López de Dicastillo y col. (2012), quienes no observaron diferencias en la  $T_m$  de películas de EVOH adicionadas con extracto de té verde.

Respecto a la  $T_m$  de la película con antioxidante de referencia (BHT), se encontró un valor de  $105.59 \pm 0.57$  °C mientras que la película compatibilizada (BHT-comp) presentó una  $T_m$  de  $105.36 \pm 0.11$  °C. Como se puede observar, las películas elaboradas con BHT mostraron valores menores que la película elaboradas con GEGC al igual que la película control-compatibilizada.

En el caso del porcentaje de cristalinidad (%C), no se encontraron diferencias (Tabla 6) por la incorporación de GEGC, así como por la interacción de los factores ( $p > 0.05$ ), lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Graciano-Verdugo (2005) y Castillo-Montoya (2010) al elaborar películas incorporadas con  $\alpha$ -tocoferol y GEGC respectivamente, quienes no encontraron diferencias significativas por efecto de la concentración del antioxidante, sin embargo difieren de los obtenidos por Wessling (2000) quien encontró una ligera disminución en el %C de las películas con



**Tabla 6.** Porcentaje de cristalinidad de las películas de PEBD y sus mezclas.

Catequina (%)	Compatibilizante (%)	
	0	5
0	21.81 <sup>a</sup>	19.71 <sup>b</sup>
1	22.20 <sup>a</sup>	19.24 <sup>b</sup>
3	21.08 <sup>a</sup>	19.10 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Medias con diferente literal dentro de filas indican diferencias ( $p < 0.05$ ).

$\alpha$ -tocoferol (26-28% de cristalinidad) con respecto a la película control (29% de cristalinidad).

Respecto al efecto del agente compatibilizante en el %C de las películas elaboradas, se encontró que la interacción catequina-compatibilizante fue significativo ( $p < 0.05$ ) ya que la disminución de los valores estuvo en un rango de 21.08-22.2°C a un rango de 19.10-19.71°C para las películas libres de agente compatibilizante y compatibilizadas, respectivamente. Este comportamiento ha sido reportado anteriormente en mezclas de polietileno lineal de baja densidad con un agente compatibilizante similar al empleado en el presente estudio, en el cual la disminución del %C se atribuyó a una dificultad en el ordenamiento de las cadenas del polímero inducida por la presencia del compatibilizante en la mezcla (Ramírez-Vargas y col, 2006). Esta dificultad de ordenamiento fue relacionado con la presencia de grupos polares en el agente compatibilizante (anhídrido maléico, con la presencia de C=O) que interrumpen el arreglo cristalino del polímero base e incrementan la fase amorfa en la mezcla, la cual se da en medida de la concentración del anhídrido maléico (Chen y col. 2007).

## Propiedades Ópticas

### Análisis de Color

Mediante la inspección visual se encontró que la adición del flavonoide GEGC modificó el color de las películas de PEBD, observándose una tonalidad rosa. Las películas fueron sometidas a una evaluación objetiva mediante el sistema CIE  $L^*a^*b^*$ . Los valores obtenidos para la película control son similares a los reportados por Castillo (2010), con valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de  $91.78 \pm 0.59$ ,  $-0.82 \pm 0.03$  y  $0.45 \pm 0.04$ , respectivamente; esto se relaciona con ausencia de color y transparencia del material (Arrieta y col., 2011), con ligeras tonalidades tendiendo a verde-amarillo. Como se puede observar en la Tabla 7, los valores de  $L^*$  que indican la luminosidad del material obtenido disminuyó al aumentar la concentración de GEGC ( $p < 0.05$ ). Se encontró efecto de la incorporación del compatibilizante ( $p < 0.05$ ), observándose una disminución en los valores de  $L^*$  en las películas al agregar este componente, con excepción en la película CQ3-comp cuya luminosidad fue mayor que la película CQ3.

Por otra parte, los valores de  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos para las películas control, control-comp y CQ1 indican una leve desviación hacia los colores verde-amarillo, mientras que las películas CQ1-comp, CQ3 y CQ presentan valores de  $a^*$  y  $b^*$  que las ubican con ligeras tonalidades rojo-amarillo, lo cual concuerda con la tonalidad rosa apreciada mediante inspección visual. Se encontraron diferencias significativas en ambos parámetros ( $a^*$  y  $b^*$ ).



**Tabla 7.** Evaluación de color (CIE L\*a\*b\*) de las películas desarrolladas.

GEGC (%)	Compatibilizante (%)					
	L*		a*		b*	
	0	5	0	5	0	5
0	91.94 <sup>a</sup>	91.48 <sup>b</sup>	-1.13 <sup>e</sup>	-1.05 <sup>e</sup>	0.45 <sup>f</sup>	0.70 <sup>e</sup>
1	90.58 <sup>c</sup>	90.09	-0.26 <sup>d</sup>	0.37 <sup>c</sup>	1.17 <sup>d</sup>	1.54 <sup>c</sup>
3	89.34 <sup>c</sup>	89.88 <sup>e</sup>	0.81 <sup>a</sup>	0.55 <sup>b</sup>	2.35 <sup>a</sup>	1.89 <sup>b</sup>

L\*: Luminosidad

a\*: matiz rojo-verde

b\*: matiz amarillo-azul

<sup>abcde</sup> En cada variable respuesta, medias con diferente literal dentro de columna y fila indican diferencias (p<0.05)

Respecto al parámetro  $b^*$ , se encontró un efecto significativo de la incorporación de GEGC y del agente compatibilizante ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes películas, registrándose un incremento en el tono amarillo al incrementar la concentración de GEGC y al adicionar el agente compatibilizante. En general, los antioxidantes fenólicos como el GEGC ocasionan una pérdida del color original (tendencia al amarillo) de las poliolefinas durante el procesamiento, lo cual se atribuye a productos de transformación ocasionados por la oxidación de antioxidantes fenólicos durante el proceso de extrusión (Al-Malaika y col., 1999).

Los resultados obtenidos concuerdan con lo obtenido por Wessling y col. (2000) al estudiar la influencia de la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en las propiedades de PEBD, reportando valores similares de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para la película control (PEBD); así mismo son similares a los reportados por Castillo-Montoya (2010) para películas elaboradas con 4% de GEGC. Los resultados obtenidos en el presente estudio, respecto al valor  $b^*$  (matiz amarillo) de la película con 1% de GEGC, difieren de los obtenidos por Castillo (2010) ya que este valor fue mayor (1.17) al reportado por este autor (0.16), lo cual se puede atribuir al procesamiento de las películas, que involucró dos procesos de extrusión y por ende la aplicación de dos tratamientos térmicos que pudieron ocasionar un mayor grado de degradación del GEGC y el desarrollo del matiz amarillo.

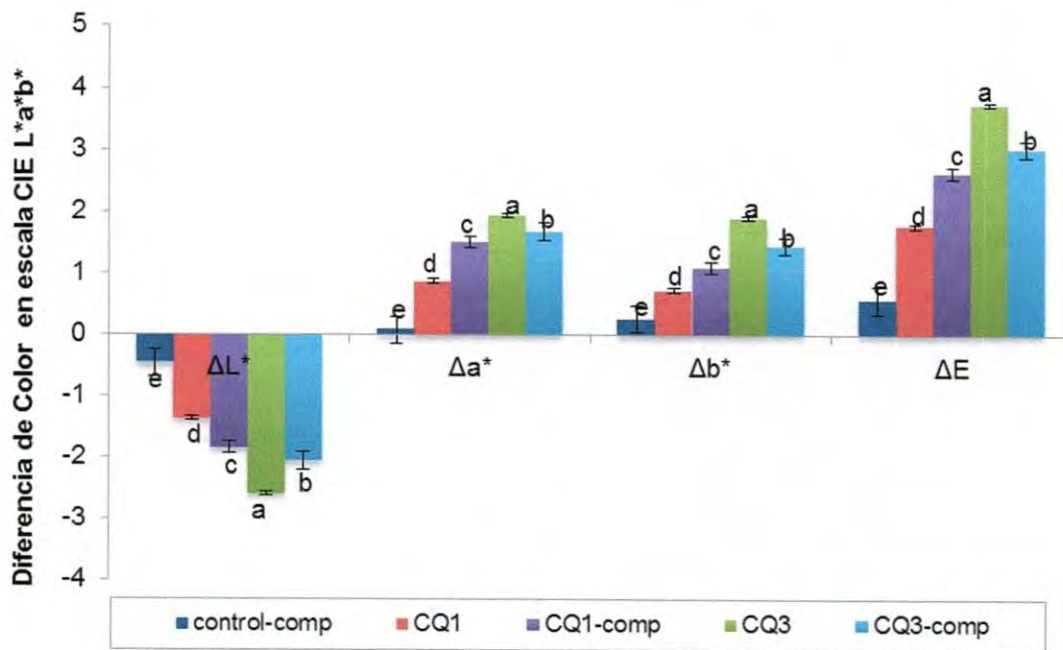
Es importante hacer notar que los valores absolutos obtenidos de  $a^*$  y  $b^*$  en todas las formulaciones son muy cercanos a cero, lo cual se puede relacionar con la

transparencia del materia. Esto concuerda con lo obtenido en la evaluación de la transmisión de luz, que se discutirá en el apartado correspondiente. Arrieta y col. (2011), al desarrollar películas activas a partir de proteínas lácteas y carvacrol como antimicrobiano, encontraron valores absolutos de  $a^*$  y  $b^*$  muy cercanos a cero ( $a^*$  entre -0.1 y -0.37 y  $b^*$  entre -0.69 a -1.3), relacionándolo con la elevada transparencia de los materiales desarrollados, similar a lo obtenido en el presente estudio.

Respecto a la evaluación de color en la película conteniendo el antioxidante de referencia (BHT), para la formulación conteniendo solamente BHT se encontraron valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de  $91,11 \pm 0.13$ ,  $-0,65 \pm 0.03$ ,  $1,02 \pm 0.03$ , respectivamente, mientras que la película compatibilizada (BHT-comp) presentó valores de  $91,12 \pm 0.19$ ,  $-0,84 \pm 0.03$ ,  $0,95 \pm 0.08$ , respectivamente. Como se puede observar las películas mostraron ligeras tonalidades verde-amarillo, similares a la película control elaborada; sin embargo las películas elaboradas con BHT presentaron una mayor luminosidad, así como un menor matiz rojo que la película con catequina, lo cual corresponde con la apariencia más transparente e incolora observada.

Con el objetivo de obtener las diferencias de color de las películas conteniendo GEGC respecto a la película de referencia (PEBD), se calcularon las diferencias de color respecto a la película control (libre de compatibilizante) (Figura 18). El cambio en la luminosidad ( $\Delta L^*$ ), presentó valores negativos, lo cual se relaciona con una disminución en la luminosidad con respecto al control. El  $\Delta L^*$  presentó diferencias





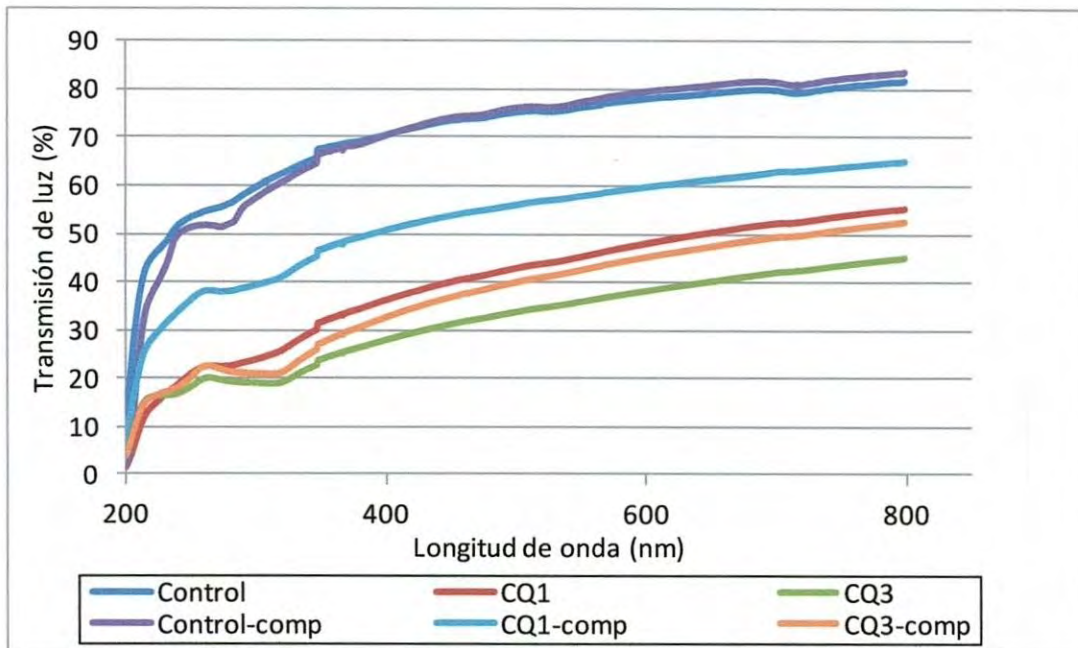
**Figura 18.** Cambios en la luminosidad ( $\Delta L^*$ ), matiz rojo-verde ( $\Delta a^*$ ), matiz amarillo-azul ( $\Delta b^*$ ) y color total ( $\Delta E$ ) de las películas plásticas desarrolladas conteniendo GEGC (respecto a la película control). Los valores son medias de 5 réplicas  $\pm$ EE. Para cada parámetro, diferente literal indica diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Control:PEBD; Control-comp: PEBD con 5% de compatibilizante, CQ1: PEBD con 1% de GEGC, CQ3:PEBD con 3% de GEGC; CQ1-comp: PEBD con 1% de GEGC y 5% de compatibilizante; CQ3-comp: PEBD con 3% de GEGC 5% de compatibilizante.

debido tanto a la incorporación de GEGC como al agente compatibilizante, así como para la interacción de los factores ( $p < 0.05$ ), encontrándose que la película de CQ3 presentó la mayor diferencia con respecto al control ( $p < 0.05$ ). Un comportamiento similar se encontró en el resto de los parámetros evaluados ( $\Delta a^*$ ,  $\Delta b^*$  y  $\Delta E$ ), observándose un incremento en los valores obtenidos respecto al control ( $p < 0.05$ ).

Los cambios en los diferentes parámetros de color evaluados en la película con mayor concentración de antioxidante resultan en un material que pudiera considerarse visualmente menos atractivo por la coloración rosa observada. No obstante, el uso de este tipo de películas es viable en aplicaciones donde el color del envase no interfiera en la percepción del color del producto, por ejemplo en el empaquetado de alimentos coloridos donde el color de la película se pierde o en materiales con estructuras más complejas como los laminados o coextruídos. Dado que el PEBD se usa frecuentemente en las capas internas de estos materiales, es posible adicionar altas concentraciones de GEGC en la elaboración de estas películas, ya que el color de las mismas en capas internas no es un factor que impacte visualmente al producto (Wessling, 2000; Graciano-Verdugo, 2005).

### **Transmisión de luz**

En la Figura 19 se muestran las características de transmisión de luz para las películas elaboradas a base de PEBD. Las películas de PEBD y PEBD-



**Figura 19.** Características de transmisión de luz para las películas elaboradas a base de PEBD. Control:PEBD; Control-comp: PEBD con 5% de compatibilizante, CQ1: PEBD con 1% de GEGC, CQ3:PEBD con 3% de GEGC; CQ1-comp: PEBD con 1% de GEGC y 5% de compatibilizante; CQ3-comp: PEBD con 3% de GEGC 5% de compatibilizante.



compatibilizante presentaron mayor transmisión de luz. Al agregar el GEGC y el agente compatibilizante la transmisión de luz disminuyó, encontrándose mayor afectación por la incorporación del antioxidante. Las películas que presentaron una menor transmisión de luz, fueron las que contenían mayor concentración de GEGC, lo cual fue similar a lo reportado por Castillo-Montoya (2010) en películas de PEBD adicionadas con 4% de GEGC. La disminución de la transmisión de luz concuerda con la apariencia observada. A pesar de que la disminución de la transmisión de la luz en el envase puede resultar indeseable en ciertas aplicaciones, este comportamiento puede tener un efecto positivo al proteger al alimento envasado de los efectos de la luz.

### **Contenido de GEGC en las Películas Elaboradas**

El porcentaje de antioxidante después de la extrusión en las películas CQ1, CQ1-comp, CQ3, CQ3-comp fue de  $0,57\pm 0,03$ ,  $0,79\pm 0,02$ ,  $2,49\pm 0,15$  y  $2,44\pm 0,12\%$  de GEGC respectivamente (Tabla 8). El mayor nivel de degradación del GEGC (43.3%) por efecto del proceso de extrusión se encontró en la película CQ1 elaborada con la menor concentración de GEGC y libre de compatibilizante. Durante el proceso de extrusión, el polímero puede llegar a oxidarse por las altas temperaturas de procesamiento empleadas por lo que parte del GEGC adicionado puede ser utilizado por el polímero para evitar su degradación (Al-Malaika y col., 1994), así mismo el GEGC puede degradarse por la temperatura como anteriormente se mencionó. La degradación encontrada para el GEGC concuerda con trabajos similares al emplear

**Tabla 8.** Contenido de GEGC en las películas elaboradas.

	Concentración de GEGC			
		(%)		$\mu\text{g/g}$ de PEBD
	Antes de la extrusión	Después de la extrusión	Degradación (%)	Después de la extrusión
CQ1	1.0	$0,57\pm 0.03$	$43,3\pm 0.06$	$5671,6\pm 371,3$
CQ1-comp	1.0	$0,79\pm 0.02$	$21,1\pm 0.05$	$7893,7\pm 247,0$
CQ3	3.0	$2,49\pm 0.15$	$16,8\pm 0.15$	$24949,5\pm 1543,2$
CQ3-comp	3.0	$2,44\pm 0.12$	$18,5\pm 0.12$	$24441,3\pm 1176,9$

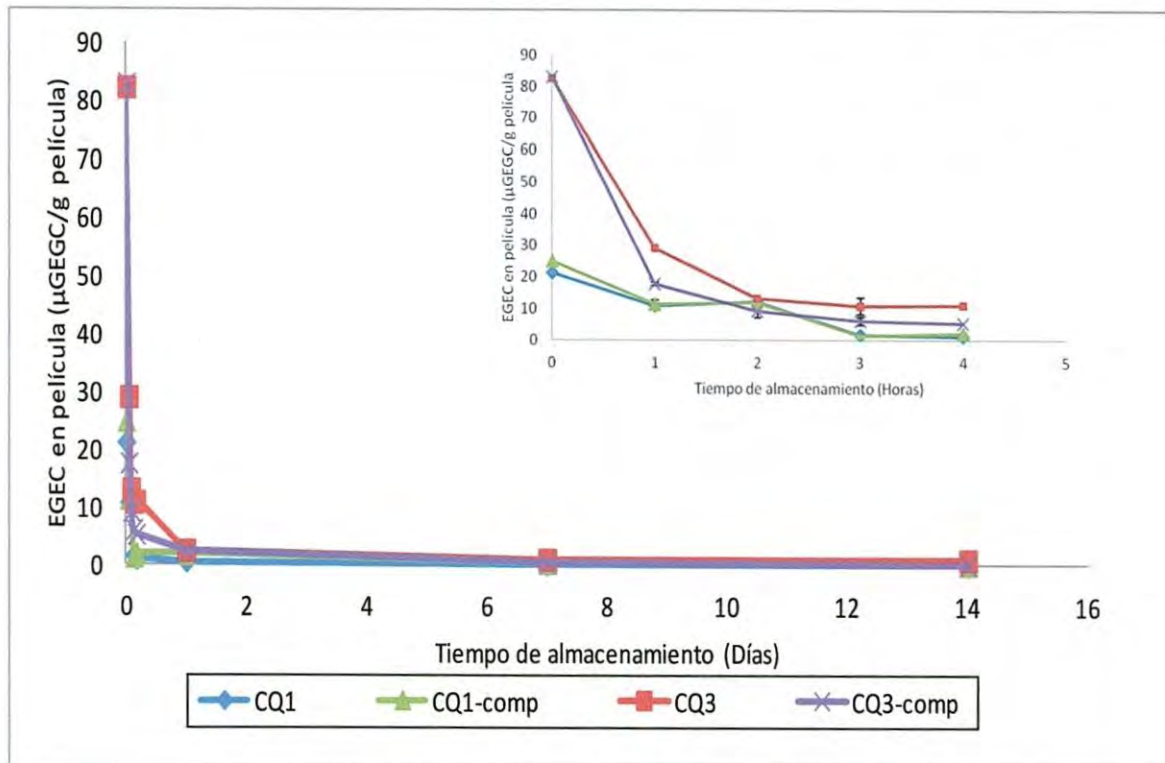
Los valores son la media y desviación estándar de tres repeticiones.

antioxidantes naturales en películas, incluso se han reportado mayores porcentajes de degradación. Wessling (2000) encontró mayores porcentajes de degradación del antioxidante  $\alpha$ -tocoferol al incorporarlo en películas de PEBD obtenidas por extrusión, reportándose una degradación entre 50 y 70% en películas elaboradas con un contenido inicial de 0.1 y 1% de  $\alpha$ -tocoferol. Los altos porcentajes de pérdida en el anterior estudio pueden relacionarse con las altas temperaturas de procesamiento utilizadas (entre 200 y 300 °C), mientras que en el presente estudio fueron de 165 °C, la cual no impidió la degradación del GEGC.

### **Migración de GEGC en Películas Desarrolladas**

La Figura 20 muestra la migración del GEGC hacia etanol, presentándose la disminución de su contenido en la película durante su almacenamiento a 40°C. La concentración inicial de GEGC en las películas CQ1, CQ1-comp, CQ3 y CQ3-comp fue de 26.8, 30.4, 121.6 y 112.3  $\mu\text{g}$  GEGC/g de PEBD. Como se puede observar en la Figura 20 la concentración del antioxidante en las películas con 1% de GEGC disminuyó durante las dos primeras horas de almacenamiento a 15.8 y 15.2  $\mu\text{g}$  GEGC/g de PEBD para los tratamientos CQ1 y CQ1-comp respectivamente, lo cual representa un 84.5% del total de GEGC que se tenía al inicio. En el caso de las películas con 3% de GEGC, CQ3 y CQ3-comp, para el mismo tiempo de almacenamiento, su concentración disminuyó a 17.3  $\mu\text{g}$  GEGC/g de PEBD (82.7% del contenido inicial de GEGC) y 8.5  $\mu\text{g}$  GEGC/g de PEBD (91.5% del contenido





**Figura 20.** Cambios en la concentración de GEGC en películas de PEBD adicionadas con agente compatibilizante y sin compatibilizar, en contacto de etanol por 14 días a 40°C. PEBD con 1% de GEGC (CQ1), PEBD con 5% de compatibilizante y 1% de GEGC (CQ1-comp), (PEBD con 3% de GEGC (CQ3), PEBD con 5% de compatibilizante y 3% de GEGC (CQ3-comp). Concentración inicial de GEGC en las películas CQ1, CQ1-comp, CQ3 y CQ3-comp fue de 26.8, 30.4, 121.6 y 112.3 µg GEGC/g de PEBD respectivamente. No se encontró diferencia significativa ( $p > 0.05$ )

inicial de GEGC), observándose en este último una mayor migración, posiblemente por efecto del agente compatibilizante aunado a la mayor concentración de GEGC, que propiciaron una mayor transferencia del antioxidante al simulante de alimentos.

Después de 24 horas de almacenamiento, la concentración de GEGC en las películas disminuyó en un rango de 1.0 a 3.5 de  $\mu\text{g/g}$  de PEBD, indicando un porcentaje de migración mayor al 95% respecto al contenido inicial de GEGC en las películas y permaneció prácticamente constante hasta el final del almacenamiento, sin observarse diferencias en su comportamiento migratorio por la presencia de agente compatibilizante. Al final del almacenamiento se tenía una concentración del GEGC de solo 0.3, 0.5, 1.5 y 0.4  $\mu\text{g/g}$  de PEBD en las películas CQ1, CQ1-comp, CQ3 y CQ3-comp, respectivamente, lo cual indica un porcentaje de migración mayor al 98.6% en los diferentes tratamientos.

Este comportamiento sugiere que la liberación del GEGC inicia desde las primeras horas de contacto con el simulante de alimentos grasos, lo cual concuerda con estudios previos (Soto-Cantú y col., 2008; Graciano-Verdugo y col., 2010). Graciano-Verdugo y col., (2010) reportaron el almacenamiento de aceite de maíz en contacto de películas conteniendo  $\alpha$ -tocoferol a 30°C, encontrando que durante las dos primeras horas se liberó aproximadamente un 60% de antioxidante y al final del almacenamiento (12 semanas) alcanzó un 99.8%, migrando prácticamente en su totalidad. Las diferencias observadas respecto al presente estudio, pueden atribuirse a la temperatura de almacenamiento empleada, ya que al aumentar la temperatura



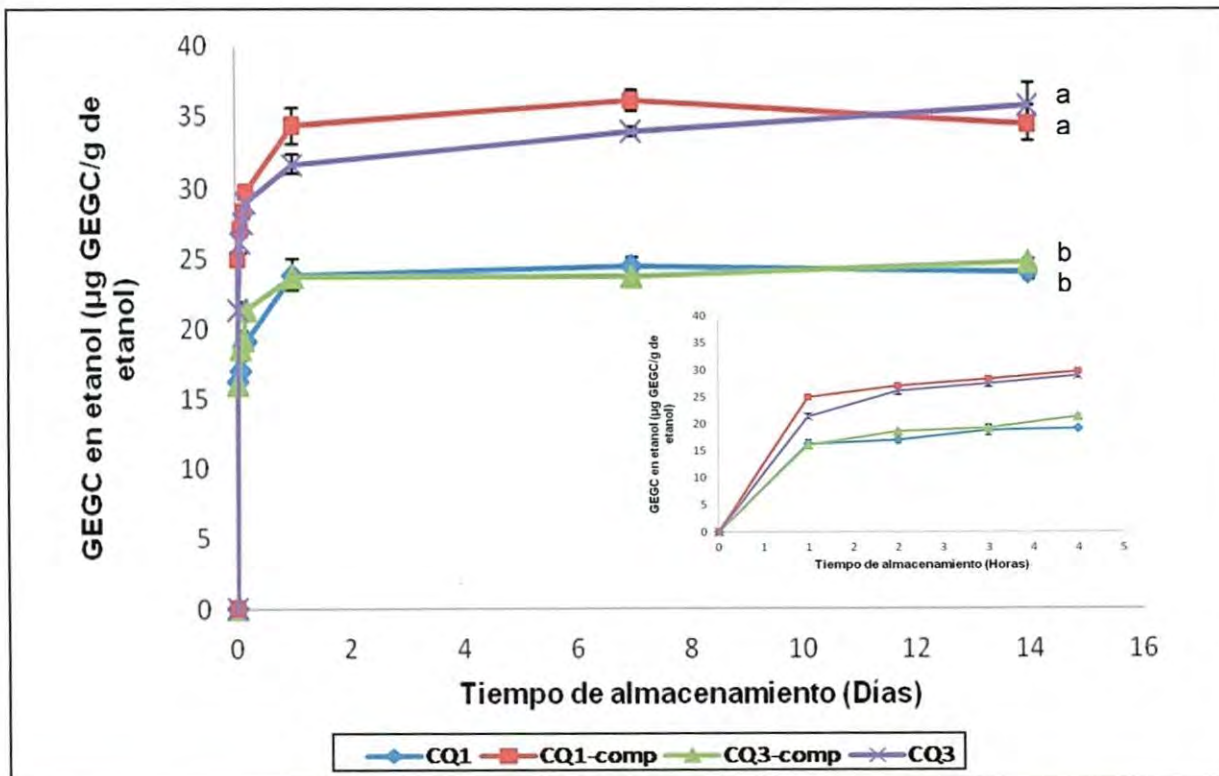
se incrementa la velocidad de migración. No se observaron diferencias en la migración del GEGC por la incorporación del agente compatibilizante ni por la concentración de GEGC y por la interacción de los factores ( $p > 0.05$ ).

En la Figura 21 se muestra el incremento de GEGC en el etanol (simulante de alimentos grasos) en contacto con las diferentes películas desarrolladas. Como se puede observar, el máximo incremento fue de 36.1  $\mu\text{g}$  GEGC/g de etanol en contacto de la película CQ3, valor similar al observado en la película CQ3-comp (33.9  $\mu\text{g}$ /g de etanol), correspondiendo a un porcentaje de solo un 30% respecto al contenido inicial en la película. El máximo contenido de GEGC en el etanol en contacto con las películas fue de 23.7 y 25.1  $\mu\text{g}$  GEGC/g de etanol para las películas CQ1-com y CQ1, respectivamente, correspondiendo a un 78.0 y 93.9% de GEGC respecto al contenido inicial en la película.

No se encontró efecto significativo de la migración del GEGC por la incorporación del agente compatibilizante ni por la interacción de los factores ( $p > 0.05$ ), solamente por la concentración de catequina ( $p < 0.05$ ), encontrándose mayor cantidad de GEGC en el etanol en contacto con las películas CQ3 y CQ-comp debido al mayor contenido de antioxidante en estas películas.

Al observar la relación entre la disminución de GEGC en las películas así como su incremento en el simulante, se puede observar que el contenido del antioxidante en el etanol fue menor a lo esperado, en especial en las películas con la mayor





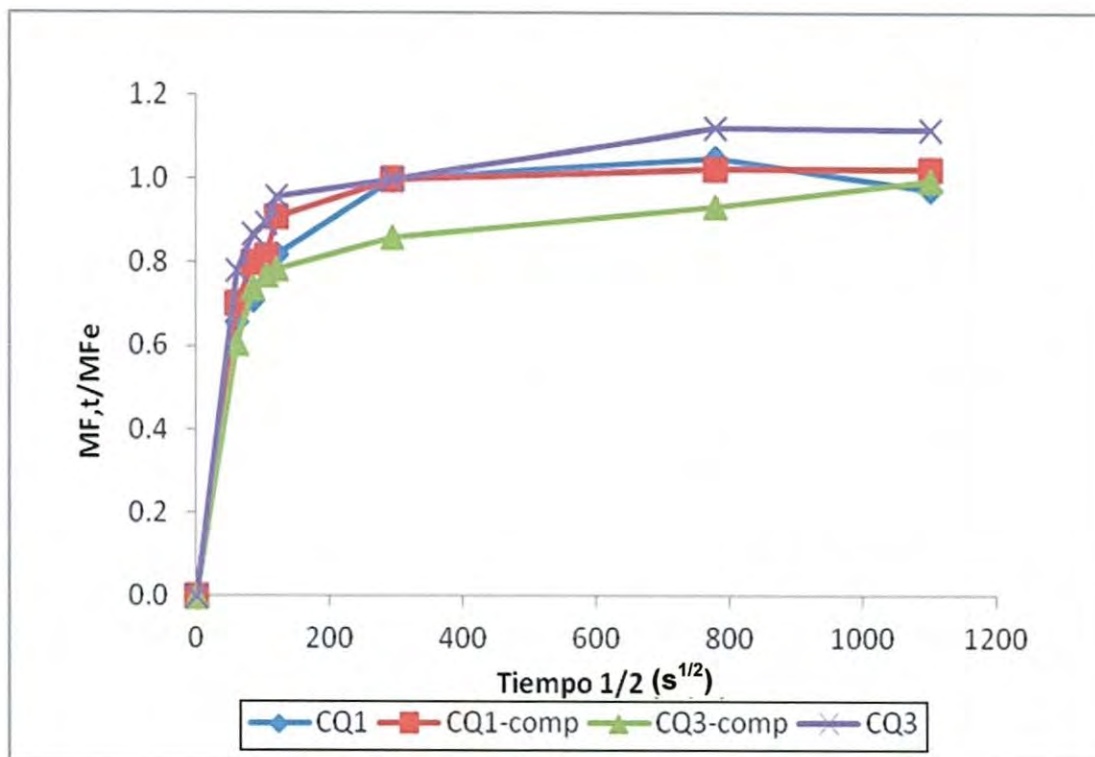
**Figura 21.** Cambios en la concentración de GEGC en etanol por el contacto con películas de PEBD desarrolladas, durante su almacenamiento a 40°C por 14 días. PEBD con 1% de GEGC (CQ1), PEBD con 5% de compatibilizante y 1% de GEGC (CQ1-comp), (PEBD con 3% de GEGC (CQ3), PEBD con 5% de compatibilizante y 3% de GEGC (CQ3-comp). Concentración inicial de GEGC en las películas CQ1, CQ1-comp, CQ3 y CQ3-comp fue de 26.8, 30.4, 121.6 y 112.3 µg GEGC/g de PEBD respectivamente. Diferente literal indica diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

concentración de antioxidante. Estas diferencias pudieran atribuirse a la degradación del GEGC al liberarse al etanol. Este comportamiento ha sido reportado previamente en envases activos con ácido ascórbico liberado de películas de EVOH hacia simulantes acuosos, atribuyéndose a una degradación del antioxidante dificultando su acumulación en el simulante (López de Dicastillo et. al., 2012).

### **Determinación del Coeficiente de Difusión (D)**

A pesar de que anteriormente se ha descrito el perfil migratorio del GEGC hacia el etanol en contacto de las diferentes películas, para caracterizar adecuadamente el proceso de transferencia del migrante a través del material polimérico se requiere determinar el valor de D, el cual indica la velocidad a la cual difunde el migrante, y es influenciada por la compatibilidad entre el migrante y el simulante lo cual a su vez, determina el equilibrio del sistema (López de Dicastillo y col., 2012).

En la Figura 22 se muestra la cinética de migración del GEGC de las diferentes películas desarrolladas hacia etanol. A partir de esta cinética se obtuvo la pendiente de la curva de cada tratamiento para obtener su coeficiente de difusión (D). Como se puede observar, el comportamiento de los diferentes tratamientos es similar, mostrando un perfil inicialmente lineal que se convierte en meseta cuando el progreso de la migración alcanza el equilibrio. En los diferentes tratamientos, el equilibrio se presentó durante las primeras 24 horas ( $293.3 \text{ s}^{1/2}$ ) de contacto, con la excepción del etanol en presencia de la película CQ3-comp. El etanol en contacto de



**Figura 22.** Cinética de migración de GEGC en películas de PEBD desarrolladas (espesor 53  $\mu\text{m}$ ) hacia etanol, durante su almacenamiento a 40°C por 14 días. PEBD con 1% de GEGC (CQ1), PEBD con 5% de compatibilizante y 1% de GEGC (CQ1-comp), (PEBD con 3% de GEGC (CQ3), PEBD con 5% de compatibilizante y 3% de GEGC (CQ3-comp).  $M_{F,t}/M_{Fe}$  es la cantidad del GEGC en el simulante en el tiempo  $t$ , dividido por la cantidad de GEGC en el equilibrio.



la película CQ3-comp después de las 4 horas ( $120.0 \text{ s}^{1/2}$ ) de almacenamiento mostró un incremento gradual de GEGC, tendiendo a aumentar a través de su almacenamiento; aparentemente en esta película el equilibrio se presentó, hasta el final del almacenamiento, por lo que se consideró que el proceso de migración alcanzó su estabilidad a los 14 días ( $1099.8 \text{ s}^{1/2}$ ) de almacenamiento. Los valores de D del GEGC estimados para las películas CQ1, CQ1-comp, CQ3 y CQ3-comp fueron  $1.34 \times 10^{-9}$ ,  $1.24 \times 10^{-9}$ ,  $1.75 \times 10^{-9}$  y  $9.9 \times 10^{-10} \text{ cm}^2/\text{s}$ , respectivamente.

Como se puede observar, se encontró ligera influencia del contenido de GEGC así como del agente compatibilizante en el valor de D. La mayor velocidad de difusión se presentó en el GEGC contenido en la película CQ3, lo cual corresponde con el efecto plastificante que ha sido reportado previamente con aditivos empleados en polímeros en altas concentraciones y que se puede relacionar con la disminución tanto de la temperatura de fusión como del porcentaje de cristalinidad de las películas, lo cual facilita la difusión del antioxidante en las zonas amorfas de la matriz polimérica. Este efecto se relaciona con una modificación potencial del movimiento de las cadenas poliméricas (Limm y Hollifield, 1996), y por lo tanto un incremento en la velocidad de difusión. A pesar de que la película CQ3-comp tenía una concentración similar (3%), su D fue el menor entre las diferentes películas y con un valor aproximadamente a la mitad de su similar. Esto se podría atribuir a una mayor interacción entre el GEGC y la matriz polimérica relacionado con la presencia del agente compatibilizante que permitió su liberación gradual a través del almacenamiento.

Respecto a estudios similares de envases activos con antioxidantes, Heirlings y col. (2004) reportaron un valor de D igual a  $2.64E-11 \text{ cm}^2/\text{s}^1$  para  $\alpha$ -tocoferol en películas en contacto con etanol al 95%, a una temperatura de 7°C. López de Dicastillo y col. (2010) reportaron el D para catequina y quercetina contenidas en películas de EVOH, polímero de naturaleza polar, en presencia de etanol al 95% encontrando que este alcanzó valores de  $7E-15 \text{ m}^2/\text{s}$  ( $7 \times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ ), los cuales indican una velocidad de migración menor que la encontrada para GEGC.

En el caso de las posibles aplicaciones de los materiales de envasado activo, es deseable que el antioxidante sea liberado en forma gradual al contactar el alimento y que este se siga liberando hacia el alimento durante su almacenamiento, para obtener una mayor vida útil del producto. Con este fin, cierto grado de interacción entre el antioxidante y la matriz polimérica es deseable para que su incorporación en el alimento se presente, no solo durante las primeras horas de contacto, sino que le brinde protección al producto por un periodo de tiempo mayor. En este sentido, el uso de agentes compatibilizantes en el presente estudio pudiera brindar una alternativa a la liberación controlada de la catequina, aunque se requiere evaluar otros niveles de incorporación de estos agentes para eficientar su empleo de acuerdo al producto que se desee proteger.



## Estabilidad a la Oxidación del Aceite de Pescado

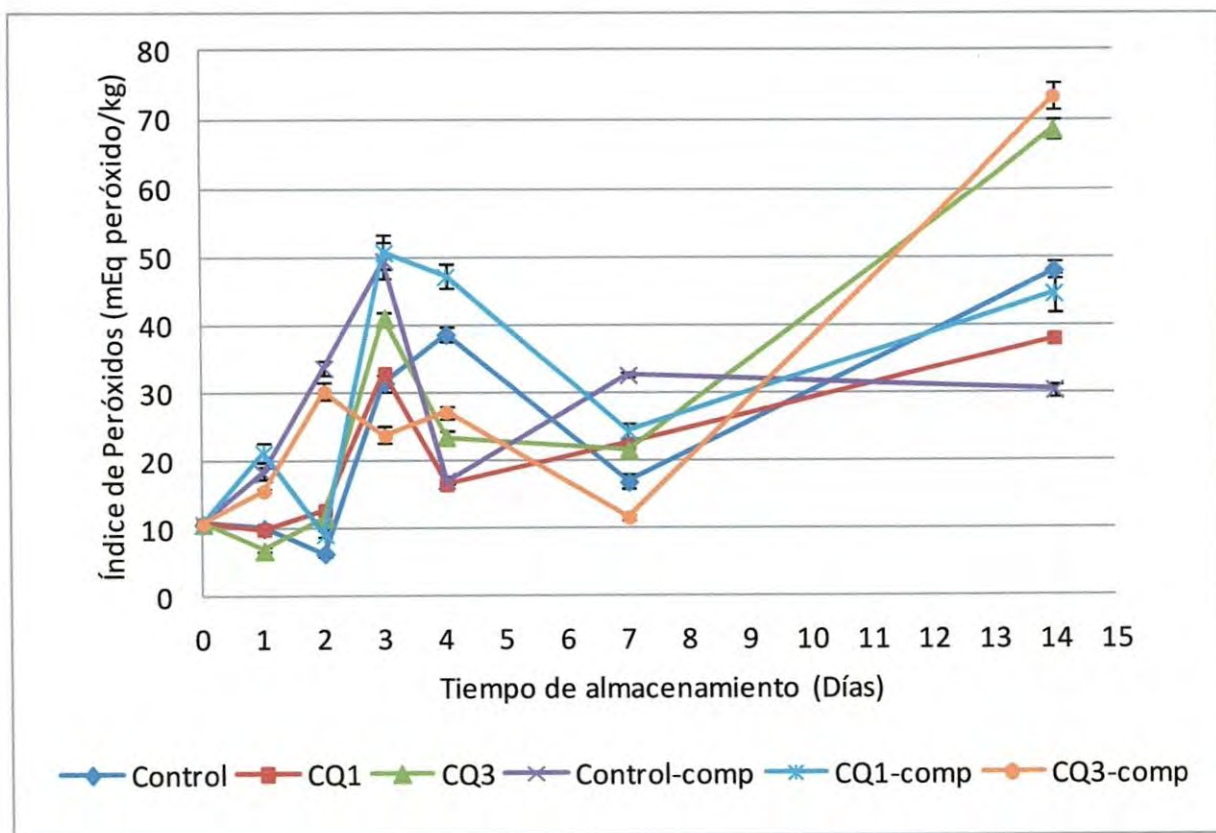
Se evaluó la estabilidad a la oxidación de aceite de pescado en contacto con las películas desarrolladas durante su almacenamiento a 40 °C por 14 días, mediante la evaluación del IP así como de TBARS.

### Índice de Peróxidos (IP)

En la Figura 23 se muestra el comportamiento del IP del aceite de pescado durante su almacenamiento. El valor inicial fue de 10.87 mEq peróxido/kg de aceite, el cual se encuentra en los límites establecidos para una calidad aceptable del aceite descrito por el Codex alimentarius (FAO, 2010). En general se puede observar que el aceite en contacto con las diferentes películas tendió a incrementar su IP a través del almacenamiento, presentándose picos máximos en el aceite en contacto con los diferentes tratamientos. Posteriormente se presentó un comportamiento fluctuante, que se puede atribuir al mecanismo de autooxidación característico de los lípidos, los peróxidos son metabolitos transitorios que en estados más avanzados de la oxidación dan paso a nuevos productos, haciendo imposible su detección.

Como se puede observar en la Figura 23, la película control, CQ1 y CQ3 lograron mantener estable el aceite dentro de los dos primeros días de almacenamiento. En el caso de la película control con compatibilizante (Control-comp), se observó un rápido incremento en el IP desde el primer día de almacenamiento obteniéndose un valor





**Figura 23.** Índice de peróxidos del aceite de pescado en contacto de las películas desarrolladas durante su almacenamiento a 40°C por 14 días. Los valores son medias de 3 réplicas  $\pm$  EE. PEBD con 5% de compatibilizante (control-comp); PEBD con 1% de GEGC (CQ1); PEBD con 5% de compatibilizante y 1% de GEGC (CQ1-comp); PEBD con 3% de GEGC (CQ3); PEBD con 5% de compatibilizante y 3% de GEGC (CQ3-comp); PEBD (control).

máximo al tercer día con un valor de 35 mEq peróxido/kg tendiendo a presentar un comportamiento fluctuante hasta el final del almacenamiento. Se pudo observar que la película CQ3-comp presentó un marcado incremento de IP al final del almacenamiento con un valor de IP de 70 mEq peróxido/kg.

En un estudio similar reportado por López-de-Dicastillo y col., (2012), se evaluaron filetes de sardina en contacto de películas conteniendo diferentes antioxidantes (ácido ferúlico, quercetina, té verde, y ácido ascórbico) almacenados a 4°C y se reportó un menor contenido de IP en los filetes de sardina envasados en las películas con antioxidantes, con valores de IP que variaron entre 5 y 25 mEq de peróxido/kg, observándose mayor estabilidad a la oxidación en el producto envasado en las películas con té verde.

De acuerdo al análisis estadístico se encontró efecto de los diferentes factores evaluados (tiempo de almacenamiento, concentración de catequina y de compatibilizante), así como por la interacción de los factores ( $p < 0.05$ ). En particular, el aceite en contacto de la película con 3% de GEGC y agente compatibilizante (CQ3-comp) presentó menores valores de IP que el resto de los tratamientos al tercer día de almacenamiento ( $p < 0.05$ ), con un IP 24 mEq de peróxido/kg aceite, mientras que el resto de los tratamientos varió entre 30 y 50 mEq peróxido/kg aceite.

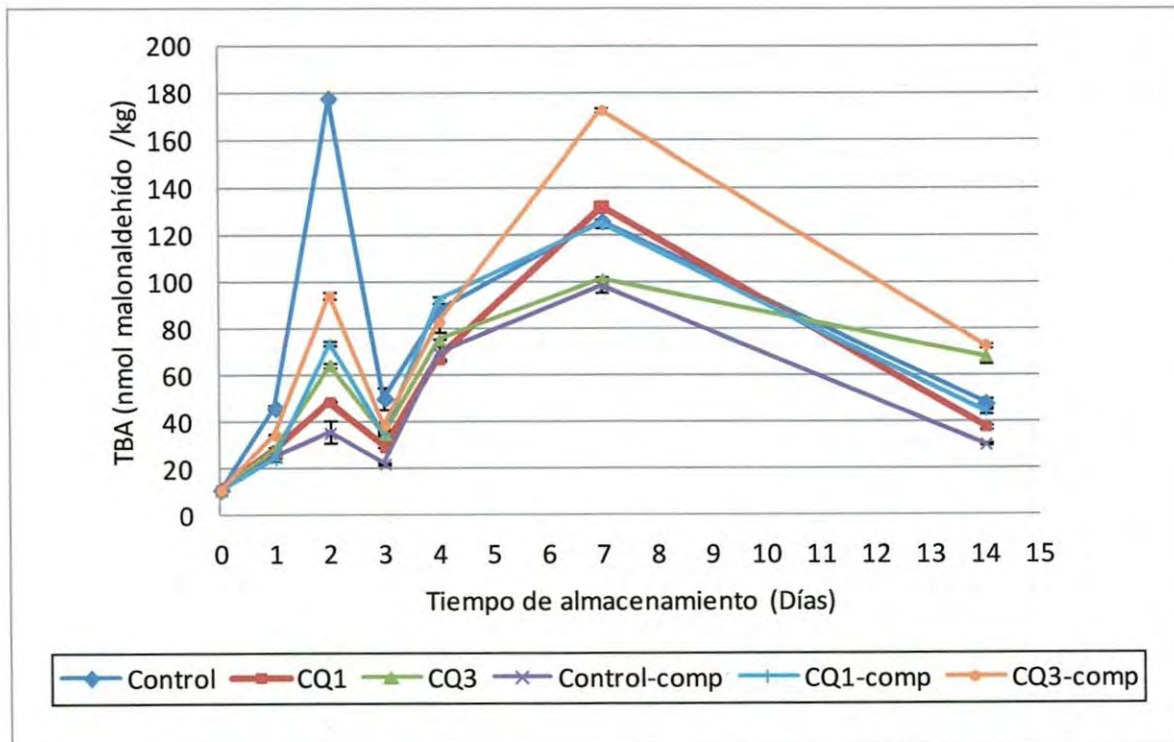


## Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

En la Figura 24 se muestra el comportamiento de los valores de TBARS para el aceite de pescado, almacenado en contacto con las diferentes películas a una temperatura de 40°C por un periodo de 14 días. El contenido de TBARS en el aceite al inicio del almacenamiento fue de 10.46 nmol MA/g de aceite, valor similar al reportado por Castillo-Montoya (2010) al evaluar aceite de pescado con un contenido inicial de TBARS de 10.94 nmol MA/g de aceite; y son superiores a los reportados por López de Dicastillo y col. (2012) en aceite de pescado (6 nmol MA/g de aceite).

El análisis estadístico de los datos mostró efecto del tiempo, concentración de catequina y del compatibilizante, así como por la interacción de los factores ( $p < 0.05$ ). Como se puede observar en la Figura 24, el mayor grado de oxidación del aceite de pescado se presentó en el aceite en contacto de la película control (sin compatibilizar), seguido de la película CQ3-comp, lo cual fue especialmente notorio al segundo día de almacenamiento donde se presentaron picos máximos de TBA en el aceite ( $p < 0.05$ ). Lo anterior pudiera relacionarse con un efecto prooxidante de la mayor concentración de GEGC, aunado a la presencia de anhídrido maléico (AM). Este efecto prooxidante de compuestos naturales ha sido previamente reportado en estudios similares al emplear elevadas concentraciones de antioxidantes. Castillo-Montoya (2010) evaluó el grado de oxidación de aceite de pescado en contacto de películas con 4% de GEGC, encontrando mayor grado de oxidación en comparación





**Figura 24.** Grado de oxidación, evaluado mediante sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, del aceite de pescado en contacto de las películas desarrolladas durante su almacenamiento a 40°C por 14 días. Los valores son medias de 3 réplicas  $\pm$  EE. PEBD con 5% de compatibilizante (control-comp); PEBD con 1% de GEGC (CQ1); PEBD con 5% de compatibilizante y 1% de GEGC (CQ1-comp); PEBD con 3% de GEGC (CQ3); PEBD con 5% de compatibilizante y 3% de GEGC (CQ3-comp); PEBD (control).

con los tratamientos de referencia y 1% de GEGC; sin embargo fue igual a los valores del tratamiento control que sólo contenía PEBD.

El grado de oxidación del aceite de pescado en contacto de la película control compatibilizada y la película conteniendo la menor concentración de GEGC libre de compatibilizante (CQ1) fue similar entre sí ( $p > 0.05$ ) hasta el cuarto día de almacenamiento, donde el valor alcanzado fue de 90.45 y 71.70 mg MA/kg de aceite, respectivamente. De acuerdo a Köse y Erdem (2001), valores de TBARS superiores a 3-4 mg MA/kg de producto (42-56 nmol MA/g de producto) indican pérdida de calidad en el aliment. Con base a este índice, el aceite en contacto con los anteriores tratamientos sobrepasó estos valores hasta al cuarto día indicando un aceite de baja calidad. Como se puede observar en la Figura 21 el aceite en contacto de estas películas logró mantener los niveles de TBARS con valores inferiores a 42 nmol MA/g aceite hasta el tercer día de almacenamiento, los cuales fueron menores ( $p < 0.05$ ) que el resto de los tratamientos. El aceite en contacto con el resto de las películas, presentó valores mayores al límite de calidad desde el segundo día de almacenamiento.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio indican que la migración de GEGC en películas de PEBD compatibilizadas, hacia un simulante de alimentos graso, se ve influenciado por la presencia de un agente compatibilizante en combinación con una concentración de GEGC al 3%. Lo anterior fue evidenciado a través de su cinética de migración donde se observó un incremento gradual de GEGC en el simulante a través del almacenamiento, que derivó en un coeficiente de difusión menor que el resto de los tratamientos. En relación a las propiedades de las películas obtenidas, se encontró que las diferentes películas mostraron una superficie homogénea y mediante el análisis de FT-IR se evidenció la interacción por puentes de hidrógeno entre los componentes de las películas que contenían 1% de GEGC y el agente compatibilizante, lo cual se relacionó con el incremento en la resistencia a la tensión de estas películas. A pesar de que mediante el análisis de FT-IR de la película con 3% de GEGC y agente compatibilizante no se encontró evidencia de la interacción entre estos componentes, se observó influencia de la compatibilización ya que el porcentaje de elongación fue mayor en este tratamiento respecto al resto.

La adición del agente compatibilizante disminuyó ligeramente la temperatura de fusión y porcentaje de cristalinidad de las películas, lo cual en la práctica pudiera no ser significativo. El color y transmisión de luz de las películas se vio afectada



principalmente por la incorporación del GEGC ya que las películas desarrolladas presentaron una tonalidad rosa debido al color del GEGC y menor transmisión de luz que las películas con agente compatibilizante, aunque esta última característica pudiera proporcionar mayor protección a alimentos susceptibles a la oxidación lipídica.

En cuanto al efecto antioxidante de las películas desarrolladas, considerando la evaluación de los productos finales de la oxidación mediante TBARS, el aceite de pescado en contacto de la película conteniendo GEGC al 1% y libre de agente compatibilizante fue estable hasta el tercer día de almacenamiento mientras que el aceite almacenado en contacto de la película control solo mantuvo una calidad aceptable por un día.

Los resultados encontrados indican que las películas con GEGC en combinación con un agente compatibilizante pudieran ser útiles en aplicaciones donde sea deseable una liberación gradual del antioxidante hacia el alimento durante su almacenamiento, aunque se requiere continuar con este tipo de estudios para establecer las cantidades de antioxidante apropiadas para diferentes alimentos y condiciones de almacenamiento.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar el efecto de la concentración del agente compatibilizante en la velocidad de migración del compuesto activo contenido en la película, así como la incorporación de otros agentes compatibilizantes.

Se recomienda evaluar el efecto antioxidante de las películas desarrolladas en contacto directo con alimentos de diferente contenido lipídico. Asimismo, evaluar el efecto antioxidante de las películas a distintas temperaturas, como las empleadas en la conservación en refrigeración.

Se recomienda evaluar la actividad antioxidante de las películas para relacionarlo con el efecto antioxidante que presentan sobre alimentos, particularmente el efecto observado en la película control con compatibilizante.



## REFERENCIAS

- Abdel-Bary, E. M. (2003). Handbook of Plastic Films. Shrewsbury, UK: Rapra Technology Limited.
- Ahvenainen, R. and Hurme, E. 1997. Active and smart packaging for meeting consumer demands for quality and safety. Food Additives and Contaminants, 14:6-7.
- Akoh, C.C. and Mind, D.B. 2008. Food lipids: Chemistry, nutrition and biotechnology (3<sup>rd</sup> ed.). New York, NY, USA: CRC PressTaylor and Francis Group.
- Al-Malaika S, Issenhuth S. 1999, The antioxidant role of  $\alpha$ -tocopherol in polymers III. nature of transformation products during polyolefins extrusion. Polymer Degradation Stability 65:143-151.
- American Chemistry Council. 2012. Fuente en línea. <http://plastics.americanchemistry.com/Education-Resources/Hands-on-Plastics/Introduction-to-Plastics-Science-Teaching-Resources/History-of-Polymers-Plastics-for-Teachershtml>. Marzo 2011.
- Ariosti A. 2002. Aptitud sanitaria de envases y materiales plásticos en contacto con alimentos. En: Migración de componentes y residuos de envases en contacto con alimentos. Catalá R., Gavara, R., editores. Valencia: Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC. P. 85.
- Arrieta, M.P.; Peltzer, M.A.; Garrigós, M. del C. y Jiménez, A. 2011. Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with carvacrol. Journal of Food Engineering.
- Arrua, D.; Strumia, M.C. and Nazareno, M.A. 2010. Immobilization of caffeic acid on a polypropylene film: synthesis and antioxidant properties. Journal Agricultural Food Chemistry 58: 9228-9234.
- ASTM. 1992. ASTM D 1708-96: Standard test method for tensile properties of plastics by use of microtensile specimens. En Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia, PA, USA: American Society for Testing and Materials.
- Banayeb, K., Rubio, C., Batlle, R. and Nerin, C. 2007. Detect determination of carnosic acid in a new active packing based on natural extract of rosemary. Analytical and Bioanalytical Chemistry 389:1989-1996.
- Bimakr, M., Rahman, R.A., Taip, F.S., Chuan, L.T., Ganjiloo, A., Md-Salleh, L., Selamat, J. and Hamid, A. 2008. Supercritical carbon dioxide (SC-CO<sub>2</sub>) extraction of catechin, epicatechin, rutin and luteolin from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. World Applied Sciences Journal 5(4):410-417.



- Camo, J., Beltrán, J.A. and Roncalés, P. 2008. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science* 80:1086–1091
- Catalá, R., Guavara, R. 2002. Fundamentos y mecanismos de la migración. En: *Migración de componentes y residuos de envases en contacto con alimentos*. Catalá R., Gavara, R., editores. Valencia: instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC. p. 145.
- Castillo-Montoya, J. 2010. Incorporación de un flavonoide a polietileno de baja densidad y evaluación de su efecto antioxidante en aceite de pescado. Tesis de licenciatura. Universidad de Sonora, Departamento de Ciencias Químico Biológicas.
- Chen, Z., Fang, P., Wang, H. and Wang, S. 2007. Effect of the Graft Yield of Maleic Anhydride on the Rheological Behaviors, Mechanical Properties, Thermal Properties, and Free Volumes of Maleic Anhydride Grafted High-Density Polyethylene. *Journal of Applied Polymer Science* 107:985-992.
- Chi-Hsien Huang J.S.W., Chun-Chin H. and Li-Shin L. 2004. Morphological, Thermal, Barrier and Mechanical Properties of LDPE/EVOH Blends in Extruded Blown Films. *Journal of Polymer Research*, 11:75–83
- Choe, E. and Min, D.B. 2009. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *CRFSFS*, 8:345-358.
- Chung, D., Papadakis, E., Yam, K.M. 2002. Simple models for assessing migration from food-packaging films. *Food Additives and contaminants*, 19:611-617.
- Crank, J. 1975. *Mathematics of Diffusion*. 2da ed., Clarendon Press, Oxford, UK.
- Danila, A.M., Kotani, A., Hakemata, H. and Kusu, F. 2007. Determination of catechin, epicatechin, and epicatechin gallate in buckwheat *Fagopyrum esculentum* moench by micro-high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 55:1139-1143.
- Demertzis, P.G. and Franz, R. 1998. Studies on the development of a quick inertness test procedure for multi-use PET containers—sorption behaviour of bottle wall strips. *Packaging Technology and Science*, 10: 45-58.
- Diario Oficial de la Unión Europea. 2004. Reglamento (CE) n° 1935/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo: Materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos. DO no. L 338 de 13/11/2004, p. 4.
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 2002. Directiva 2002/72/CE de la Comisión: Materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios. DO no. L 220 de 15/8/2002, p. 18.



- Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 1997. Directiva 97/48/CE de la Comisión: Verificación de la migración de los componentes de los materiales y objetos de materia plástica destinados a entrar en contacto con productos alimenticios. DO no. L 222 de 12/8/97, p. 10.
- FDA, Food and Drug Administration  
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnDetailNavigation.cfm?rpt=scogsListingandid=41> Consultado 5 Diciembre 2010.
- Fennema, O.R. 2002. Química de los Alimentos. 2ª ed. Ed. ACRIBIA, S.A. España.
- Fernández-Rivas, C. 2008. Seminario: Interacciones en el sistema producto-envase-entorno. -Envases activos y aplicaciones en los productos de alimentación y bebidas-. Instituto Tecnológico de Embalaje, Transporte y Logística.
- Ferreira, I., Rocha, S. and Coelho, M. 2007. Encapsulation of antioxidants by spray-drying. *Engineering Transaction*, 11(2):713-717.
- Foldes, E. 1993. Transport of small molecules in polyolefins. II Diffusion and solubility of irganox 1076 in ethylene polymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 48:1905-1913.
- Graciano-Verdugo, A.Z. 2009. Migración de envases plásticos hacia alimentos. *Empaque. Bebidas Mexicanas* pp 43-50. Editorial Alfa editores técnicos.
- Graciano-Verdugo. 2005. Desarrollo de una película conteniendo  $\alpha$ -Tocoferol y su efecto en la estabilidad oxidativa en un simulante de alimento graso y carne de res.
- Graciano-Verdugo, A.Z., Soto-Valdez, H., Peralta, E., Cruz-Zárata, P., Islas-Rubio, A.R., Sánchez-Valdes, S., Sanchez-Escalante, A., González-Méndez, N. and González-Ríos, H. 2010. Migration  $\alpha$ -tocopherol from LDPE films to corn oil and its effect on the oxidative stability. *Food Research International* 43:1073-1078.
- Granda-Restrepo, D.M. 2009. Diseño de un envase activo con antioxidantes para la protección de leche entera deshidratada. Tesis de doctorado. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal. Hermosillo: CIAD, AC.
- Granda-Restrepo, D.M., Soto-Vadez, H., Peralta, E., Troncoso-Rojas, R., Vallejo-Córdova B., Gámez-Meza, N. and Graciano-Verdugo, A.Z. 2009. Migration of  $\alpha$ -tocopherol from an active multilayer films into whole milk powder. *Food Research International*, 42:1396-1402.

- Gupta, A.P., Kumar, V. and Sharma, M. 2010. Formulation and characterization of biodegradable packaging film derived from potato starch and LDPE grafted with maleic anhydride-LDPE composition. *Journal Polym Environ.* DOI 10.1007/s10924-010-0213-0.
- Ha, J.U., Kim, Y.M., Lee, D.S. 2001. Multilayered antimicrobial polyethylene films applied to the packaging of ground beef. *Pacaging Technology and science.* 14:55-62.
- Hamdani, M., Feigenbaum, A., Vergnaud, J.M. 1997. Prediction of worst case migration from packing to food using mathematical models. *Food Additives and Contaminants.* 14:499-506.
- Hintze, J. 2001. *NCSS and PASS.* Kaysville, UT, USA: Number Cruncher Statistical Systems.
- Heirlings L., Siró I., Devlieghere F., Van Bavel E., Cool P., De Meulenaer B., Vansant E.F., Debevere, J. 2004. Influence of polymer matrix and adsorption onto silica materials on the migration of  $\alpha$ -tocopherol into 95% ethanol from active packaging. *Food Additives and Contaminants,* 21:1125-1136.
- Hotchkiss, J.H., 2000. Current and future trends in active packaging en *Memorias II Congreso internacional de envases de alimentos RISEA-2000. Tendencias y comercializacion global en el Nuevo milenio.* Ed. Soto-Valdez H., Hermosillo, Son. México. p.39
- Huang, C.H; Wu, J.S; Huang, C.C y Lin, L.S. 2004. Morphological, Thermal, Barrier and Mechanical Properties of LDPE/EVOH Blends in Extruded Blown Films. *Journal of Polymer Research,* 11(1):75-83.
- Kirk, R.S., R. Sawyer, y H. Egan. 2000. *Composición y Análisis de los Alimentos de Pearson.* 2<sup>da</sup> Edición. C.E.C.S.A. México.
- Kondo, K., Kurihara, M., Miyata, N., Suzuki, T. and Toyoda, M. 1999. Scavenging mechanisms of (-)-epigallocatechin gallate and (-)-epicatechin gallate on peroxy radicals and formation of superoxide during the inhibitory action. *Free radical Biology and Medicine.* 27: 855-863.
- Köse, S., and Erdem, M. E. 2001. Quality changes of whiting (*Merlangius merlangus* euxinus, N. 1840) stored at ambient and refrigerated temperatures. *Turk Journal Fisheries Aquatic Science,* 1:59-65.
- Lee, K. L. and Lee, S. H. 2008. Extraction behavior of caffeine and GEGC from green and black tea. *Biotechnol Bioprocess Eng,* pp108-122. CA, USA, Elsevier Academic Press.



- Lehmann, I. and Aubourg, S.P. 2008. Effect of previous gutting on rancidity development in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) during frozen storage at -20 °C. *Journal Food Science and Technology*, 43:270-275.
- Leopoldin, M., Russo, N. and Toscano M. 2007. A comparative study of the antioxidant power of flavonoid catechin and its planar analogue. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 55:7944-7949.
- Li, J., Zhu, B., He, Y. and Inoue, Y. 2003. Thermal and Infrared Spectroscopic Studies on Hydrogen-Bonding /interaction between Poly(3-hidroxybutyrate) and Catechin. *Polymer Journal*. 33: 384-392.
- Limm W., Hollifield H.C. 1996. Modelling of additive diffusion in polyolefins. *Food Additives and Contaminants* 13:949-967.
- López de Dicastillo, C., Alonso, J.M., Catalá, R., Gavara, R., and Hernández Muñoz P. 2010. Improving the antioxidant protection of packaged food by incorporating natural flavonoids into ethylene-vinyl alcohol copolymer (EVOH) films. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 58:10958-10964.
- López De Dicastillo, C., Gómez Estaca, J., Catalá, R., Gevara, R. and Hernández-Muñoz, P. 2012. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. *Food Chemistry* 131:1376–1384.
- Maestre, R., Pazos, M., Iglesias, J., and Medina, I. 2009. Capacity of Reductants and Chelators To Prevent Lipid Oxidation Catalyzed by Fish Hemoglobin. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57:9190–9196.
- Maoela, M.S., Arotiba, A.O., Baker, P.G.L., Mabusela, W.T., Jahed, N., Songa, E.A., Iwuoha, E.I. 2009. Electroanalytical determination of catechin flavonoid in ethyl acetate extracts of medicinal plants. *International Journal of Electrochemical Science*, 4:1497-1510.
- Mathe, R.S., Kuljarni, G., Raj, B. 2006. Modification of ethylene acrylic acid films for antimicrobial activity. *Journal of Applied Polymer Science*. 100:3063-3068.
- Mičušík, M.; Omastova, M.; Nógellová, Z.; Fedoroko, P.; Olejníková, K.; Trchová, M. and Chodák, T. 2006. Effect of crosslinking on the properties of composites based on LDPE and conducting organic filler. *European Polymer Journal*, 42(10):2379-2388.
- Morton J. 2007. *Procesamiento de plásticos: inyección moldeo, hule y PVC*. Editorial Limusa, Noriega Editores.



- Mumatz, T., Khan, M.R., Hassan, M.A. 2010. Study of environmental biodegradation of LDPE films in soil using optical and scanning electron microscopy. *Micron*. 41:430-438.
- Nieto, S., Garrido, A., Sanhuesa, J., Loya, L.A., Morales, G., Leighton, F. and Valenzuela, A. 1993. Flavonoids as Stabilizers of Fish Oil: An Alternative to Synthetic Antioxidants. *JAACS*, 70(8): 773-778.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J. and Nuñez, M.J. 2005. A thermal treatment to increase the antioxidant capacity of natural phenols: catechin, resveratrol and grape extract cases. *European Food Research and Technol*, 221:284-290.
- Porto, M.F., Giroto, E.M., Kunita, M.H., Gonçalves, M. do Carmo, Muniz, M.C., Rubira, A.F., Radovanovic, E. 2004. Atomic force microscopy, scanning electric potential microscopy and contact-angle surface analysis of low-density polyethylene grafted with maleic anhydride. *Progress in Colloid and Polymer Science*. 128:86-91.
- Rahmat, A.R.; Rahmat, W.A.; Sin, T.L.; Yussuf, A.A. 2009. Approaches to improve compatibility of starch filled polymer system: A review. *Materials Science and Engineering*. 29:2370–2377.
- Ramirez, R.R. 2001. Polietileno Polipropileno. Coordinación de Capacitación. Centro de investigación en Química Aplicada. Saltillo, Coahuila.
- Ratanakamnuan, U. and Aht-Ong, D. 2006. Preparation and Characterization of Low-Density Polyethylene/Banana Starch Films Containing Compatibilizer and Photosensitizer. *Journal of Applied Polymer Science*, 100:2717-2724.
- Razak, R.A.; Liyana, S.N. and Agus, A. (2009). Thermal Properties of Kenaf Reinforced Recycled Polypropylene/Recycled Polyamide 6 Composites. UMT 11th International Annual Symposium on Sustainability Science and Management 09th – 11th July 2012, Terengganu, Malaysia.
- Rohani, A.M., Hanafi, I. and Razaina, M.T. 2010. Effects of polyethylene-g-maleic anhydride on properties of low density polyethylene/thermoplastic sago stretch reinforced kenaf fibre composites. *Iranian Polymer Journal* 19(7):501-510.
- Rupasinghe H.P.V., Erkan N. and Yasmin A. 2010. Antioxidant Protection of Eicosapentaenoic Acid and Fish Oil Oxidation by Polyphenolic-Enriched Apple Skin Extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(2):1233-1239.
- Rupasinghe H.P.V. and Yasmin A. 2010. Inhibition of Oxidation of Aqueous Emulsions of Omega-3 Fatty Acids and Fish Oil by Phloretin and Phloridzin. *Molecules* 15(1):251-257.



- Ramírez-Vargas, E.; Sandoval-Arellano, Z.; Hernández-Valdez, J.S.; Matínez-Colunga, J.G. and Sánchez-Valdés, S. 2006. Compatibility of HDPE/postconsumer HDPE blends using compatibilizing agents. *Journal of Applied Polymer Science*. 100(5):3696-3706.
- Salafranca, J., Pezo, D. and Nerín, C. 2009. Assessment of specific migration to aqueous stimulants of a new active food packaging containing essential oils by means of an automatic multiple dynamic hollow fibre liquid phase microextraction system. *Journal of Chromatography*, 1216: 3731-3739.
- Serdaroğlu, M. and Felekoğlu, E. 2003. Effect of using Rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine. *Journal of Food Quality*, 28:109-120
- Shaidi, F. and Zhong, Y. 2005. Antioxidants: regulatory status. Disponible en [http://uqu.edu.sa/files2/tiny\\_mce/plugins/filemanager/files/4281709/84607\\_12.pdf](http://uqu.edu.sa/files2/tiny_mce/plugins/filemanager/files/4281709/84607_12.pdf). Consultado Julio del 2011.
- Soto-Cantú, C.D.; Graciano-Verdugo, A.Z.; Peralta, E.; Islas-Rubio, A.R.; González-Córdova, A.; González-León, A. y Soto-Valdez, H. 2008. Release of Butylated Hydroxytoluene from an Active Film Packaging to Asadero Cheese and Its Effect on Oxidation and Odor Stability. *Journal of Dairy Science*, 91(1):11-19.
- Tang S., Sheehan D., Buckley D.J., Morrissey P.A., and Kerry J.P. 2001. Anti-oxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, 36(6):685-692.
- Tomihama, T., Nishi, Y. and Arai, K. 2007. Epigallocatechin gallate, a major tea catechin, induces biofilms formation of *Pseudomonas syringae* pv. *Theae*. *Journal General Plant Pathology*, 73:185-192.
- Torres-Arreola, W., Soto-Valdez, H., Peralta, E., Cárdenz-López, J.E. and Ezquerra-Brauer, J.M. 2007. Effect of low-density polyethylene films containing butylated hydroxytoluene on lipid oxidation and protein quality of sierra fish (*Scomberomorus sierra*) muscle during frozen storage. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 55:6140-6146.
- Ureta, E. 1989. *Polímeros: estructura, propiedades y aplicaciones*. Editorial Limusa S.A. de C.V.
- USFDA. 2012. Code of Federal Regulations. Title 21. Parts.174-179. Indirect Additives. <http://www.fda.gov/Food/FoodIngredientsPackaging/ucm082463.htm>. Junio 2012.
- Valenzuela, A. 2004. Tea consumption and health: beneficial characteristics and properties of this ancient beverage, 31:2.



- Vasantha, H.P and Afsana Y. 2010. Inhibition of oxidation of aqueous emulsions of omega-3 fatty acids and fish oil by phloretin and phloridzin. *Molecules* 15:251-257.
- Vasantha, H.P, Naciye, E. and Afsana Y. 2010. Antioxidan protection of ecosapentanoic acid and fish oil oxidation by polyphenolic-enriched apples skin extract. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 58:1233-1239.
- Vermeiren, L.; Devlieghere, F.; Van Beest, M.; de Fruijf, N. and Debevere, J. 1999. Developments in the active packaging of foods. *Trends and Food Science & Technology*. 10:77-96.
- Villalpando-Olmos, J., Sanchez-Valdes, S. and Yañez-Flores, I.G. 1999. Performance of Polyethylene/Ethylene-Vinyl Alcohol Copolymer/Polyethylene Blends. *Polymer Engineering and Science*, 39(9):1597-1603.
- Wambura, P., Yang, W. and Mwakatage, N.R. 2011. Effect of sonication and edible coating containing Rosemary and tea extracts on reduction of peanut lipid oxidative rancidity. *Food Bioprocess Technol.* 4:107-115.
- Weng, Y.M., Chen, M.J., Chen, W. 1998. Antimicrobial food packaiging materials from poly(ethylene-co-methacrylic acid) *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologies*. 32:191-195.
- Wessling, C. 2000. Antioxidant-impregnated polymers: Antioxidant ability and interactions with food. Lund University, Department of Applied Nutrition and Food Chemistry. Lund:Lund University.
- Wright, K. and Lesser, A.J. 2001. Crystallinity and mechanical behavior evolution in ethylene-propylene random copolymers. *Macromolecules*, 34:3626-3633.
- Zeeb, D.J., Nelson, B.C., Albert, K. and Dalluge, J.J. 2000. Separation and identification of twelve catechins in tea using liquid chromatography/atmospheric preassure chemical ionization-mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 72:5020-50-26.
- Zuta, P.C., Simpson, B.K., Zhao, X. and Leclerc, L. 2007. The effect of  $\alpha$ -tocopherol on the oxidation of mackerel oil. *Food Chemistry*, 100:800-807.