



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MÉRIDA

ITM

TESIS:

**“Preparación y evaluación de una envoltura reutilizable con
cera de abeja y celulosa”**

PARA OPTAR AL GRADO DE:

Maestra en Ciencia de los Alimentos y Biotecnología

PRESENTA:

I.B.Q. Ariadna Lara Rodríguez

ASESOR:

Dr. Enrique Sauri Duch

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

6 de marzo de 2020



X. 036/20
Mérida, Yucatán, 15/enero/2020

ASUNTO: Solicitud de autorización de impresión.

Daniel Arcángel López Sauri
Jefe de la División de Estudios
de Posgrado e Investigación
PRESENTE

En virtud de que la C. Ariadna Lara Rodríguez, ha culminado satisfactoriamente la tesis "Preparación y evaluación de una envoltura reutilizable con cera de abeja y celulosa", participando exitosamente en el Seminario de Investigación de la misma y cubierto los requisitos necesarios para optar al grado de "Maestro en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología" le solicitamos se le otorgue la autorización correspondiente para realizar la impresión de su trabajo final, el cual avala como un producto de calidad la Comisión Revisora conformada por los que a continuación firman.

| | |
|--------------------------------|-------------------------------|
| DIRECTOR | CODIRECTOR |
| Enrique Sauri Duch | Víctor Manuel Moo Huchin |
| REVISOR | REVISOR |
| Víctor Manuel Toledo López | Alejandro Ortiz Fernández |

A T E N T A M E N T E
Excelencia en Educación Tecnológica.

Elizabeth de la Cruz Ortiz Vázquez
Coordinadora de la Maestría en Ciencias
de los Alimentos y Biotecnología
C.p. Archivo
DALs/fja



01, 12602

<http://www.itmerida.mx>

SEP Instituto Tecnológico de Mérida, Km.5 Carretera Mérida-Progreso 97118

C.P. 97118 Mérida Yucatán, México, Tels. 964-50

e-mail: depi_merida@tecnm.mx





DEPENDENCIA: DIV. DE EST. DE POSG. E INV.
No. DE OFICIO: X-081/20
Mérida, Yucatán, 20/febrero/2020

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

**C. ARIADNA LARA RODRÍGUEZ
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS
Y BIOTECNOLOGÍA
PRESENTE.**

De acuerdo al fallo emitido por su director **Enrique Sauri Duch**, codirector **Víctor Manuel Moo Huchin** y la comisión revisora integrada por Víctor Manuel Toledo López y Alejandro Ortiz Fernández, considerando que cubre los requisitos establecidos en el Reglamento de Titulación de los Institutos Tecnológicos le autorizamos la impresión de su trabajo profesional con la TESIS:

"PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN DE UNA ENVOLTURA REUTILIZABLE CON CERA DE ABEJA Y CELULOSA"

ATENTAMENTE
Excelencia en Educación Tecnológica



HERMILA ANDREA ULIBARRI BENÍTEZ S.E.P. INSTITUTO TECNOLÓGICO
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE DE MERIDA
POSGRADO E INVESTIGACIÓN DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACION

C.p. Archivo
HAUB/EOV/fja



AGRADECIMEINTOS

Agradezco el crecimiento profesional que logré a lo largo de la maestría con el apoyo y atención de quienes forman parte de la administración, docencia y compañeros y compañeras.

Gracias al apoyo económico del CONACYT que me permitió concentrarme en el desarrollo de esta investigación con la inversión de mi tiempo y esfuerzo.

Agradezco todo el apoyo familiar con el que pude contar, así como la amistad de mis compañeros y compañeras para sobrellevar las complicaciones y disfrutar de aquellos momentos en que celebramos nuestros logros juntos.

De mis asesores agradezco su apoyo incondicional, la visión que me transmitieron para tener un pensamiento menos polarizado y más objetivo, cuestionándome y superándome ante los obstáculos o limitaciones.

A Nelson y Dana por su cariño.

ÍNDICE

| | Página |
|--|---------------|
| CAPÍTULO 1. | 12 |
| 1.1. INTRODUCCIÓN | 12 |
| 1.2. OBJETIVOS | 13 |
| 1.2.1. OBEJTIVO GENERAL | 13 |
| 1.3. JUSTIFICACIÓN | 14 |
| CAPÍTULO 2. | 15 |
| 2.1. MARCO TEÓRICO | 15 |
| 2.1.1. PROBLEMÁTICA | 15 |
| 2.1.2. PROPIEDADES DE ENVOLTURAS PARA ALIMENTOS | 16 |
| 2.1.3. INGREDIENTES PARA ELABORAR ENVOLTURAS A PARTIR DE RECURSOS RENOVABLES. | 17 |
| 2.1.3.1. Proteínas | 17 |
| 2.1.3.2. Carbohidratos | 17 |
| Celulosa | 18 |
| 2.1.3.3. Lípidos | 19 |
| Cera de abeja | 20 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1.4. ADITIVOS PARA MEJORAR LA ELABORACIÓN Y PROPIEDADES DE ENVOLTURAS PARA ALIMENTOS. | 21 |
| 2.1.4.1. Glicerina | 22 |
| 2.1.4.2. Alginato de Sodio | 23 |
| 2.1.4.3. D-Limoneno | 24 |
| 2.1.5. PROPIEDADES MECÁNICAS DE LAS ENVOLTURAS PARA ALIMENTOS | 25 |
| 2.1.6. DISEÑO CENTRAL COMPUESTO | 26 |
| 2.1.6.1. Superficie de Respuesta | 28 |
| 2.1.7. INVESTIGACIONES PREVIAS Y PRODUCTOS EN EL MERCADO | 29 |
| CAPÍTULO 3. | 31 |
| 3.1 MATERIALES | 31 |
| 3.2 METODOLOGÍA | 31 |
| 3.2.1. ESTRATEGIA DE TRABAJO | 31 |
| 3.2.2. PREPARACIÓN DE LAS ENVOLTURAS | 32 |
| 3.2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL | 32 |
| 3.2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 34 |
| 3.2.5. EVALUACIÓN DE PROPIEDADES MECÁNICAS | 35 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2.5.1. Pruebas Tracción y estiramiento | 35 |
| 3.2.5.2. Prueba de Adhesividad | 37 |
| 3.2.5.3. Prueba de lavados | 38 |
| 3.2.5.4. Prueba de permeabilidad al vapor de agua (PVA) | 38 |
| CAPÍTULO 4. | 42 |
| 4.1. RESULTADOS | 42 |
| 4.1.1. COMPOSICIÓN DE LA EMULSIÓN | 42 |
| 4.1.2. PROCESO DE APLICACIÓN DE LA EMULSIÓN | 42 |
| 4.1.3. ANÁLISIS DEL EFECTO DE LOS FACTORES DE LA EMULSIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS DE LA ENVOLTURA RECUBIERTA | 43 |
| 4.1.3.1. Carga a la rotura | 43 |
| 4.1.3.2. Esfuerzo a la rotura | 48 |
| 4.1.3.3. Módulo de elástico | 53 |
| 4.1.3.4. Porcentaje de elongación a la rotura | 57 |
| 4.1.3.5. Fuerza de adhesión al despegado | 62 |
| 4.1.4. MEJORAMIENTO DE LA FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN | 66 |

| | |
|---|-----------|
| 4.1.4.1. Módulo elástico de la envoltura mejorada | 67 |
| 4.1.4.2. Fuerza adhesiva de la envoltura mejorada | 68 |
| 4.1.4.3. Permeabilidad al vapor de agua. | 70 |
| CAPÍTULO 5. | 71 |
| 5.1. CONCLUSIONES | 71 |
| CAPÍTULO 6 | 73 |
| 6.1. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 73 |

ÍNDICE DE TABLAS, GRÁFICAS, DIAGRAMAS Y FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Tabla 1. Autores que han estudiado el efecto de la cera de abeja en la formulación de recubrimientos alimenticios. | 29 |
| Figura 1. Envolturas a partir de cera de abeja, aceite de jojoba y algodón, en el mercado actualmente, marca BEE'S WRAP. | 30 |
| Diagrama 1. Estrategia de trabajo para elaborar y evaluar una envoltura reutilizable con cera de abeja y celulosa. | 31 |
| Tabla 2. Composición de los ingredientes variables de la formulación de la emulsión. Valores experimentales para los parámetros del diseño central compuesto, porcentajes con respecto al peso de cera de abeja. | 33 |
| Tabla 3. Corridas experimentales del diseño experimental. | 34 |
| Figura 2. Probeta tipo IV. Los números en la imagen representan los milímetros en los que se especifican las dimensiones de las probetas. T es el grosor de la probeta por la sigla en inglés, en promedio tuvo un valor de 0.44 mm (texto centrado) | 35 |
| Figura 3. Prueba de tensión en texturómetro Instron modelo 4442 de acuerdo con la norma ASTM D-638 | 36 |
| Figura 4. Prueba de adhesividad en texturómetro Instron modelo 4442 de acuerdo con la norma ASTM D-3330 | 37 |
| Figura 5. Película recubierta. La imagen a) muestra una envoltura recubierta, la b) muestra dicha película como envoltura en un pan. | 43 |
| Tabla 4. Resultados de las mediciones para carga a la rotura por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar. | 44 |
| Tabla 5. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para carga a la rotura como variable de respuesta. | 44 |

| | |
|---|----|
| Gráfica 1. Diagrama de Pareto estandarizado correspondiente a la variable de respuesta de carga a la rotura. El valor de α en la estandarización es igual a 5%. | 46 |
| Figura 6. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre la carga a la rotura en el material resultante. (a) Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% (b) Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y (c) Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%. | 47 |
| Tabla 6. Resultados de las mediciones para esfuerzo a la rotura por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar. | 49 |
| Tabla 7. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para esfuerzo a la rotura como variable de respuesta. | 50 |
| Gráfica 2. Diagrama de Pareto correspondiente a la variable de respuesta de esfuerzo a la rotura. El valor de α en la estandarización es igual a 5%. | 51 |
| Figura 7. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre el esfuerzo a la rotura en el material resultante. (a) Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% (b) Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y (c) Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%. | 52 |
| Tabla 8. Resultados de las mediciones para módulo de Young por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar. | 53 |
| Tabla 9. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para módulo de Young como variable de respuesta. | 54 |
| Gráfica 3. Diagrama de Pareto correspondiente a la variable de respuesta de módulo de Young. El valor de α en la estandarización es igual a 5%. | 55 |
| Figura 8. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre el módulo de Young en el material resultante. (a) Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% (b) Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y (c) Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%. | 56 |

| | |
|---|-----------|
| Tabla 10. Resultados de las mediciones para porcentaje de elongación a la rotura por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar. | 58 |
| Tabla 11. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para porcentaje de elongación a la rotura como variable de respuesta. | 59 |
| Gráfica 4. Diagrama de Pareto correspondiente a la variable de respuesta de porcentaje de elongación a la rotura. El valor de α en la estandarización es igual a 5%. | 60 |
| Figura 9. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre el porcentaje de elongación a la rotura en el material resultante. (a) Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% (b) Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y (c) Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%. | 61 |
| Tabla 12. Resultados de las mediciones para fuerza de adhesión al pelado por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar. | 62 |
| Tabla 13. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para fuerza de adhesión como variable de respuesta. | 63 |
| Gráfica 5. Diagrama de Pareto correspondiente a la variable de respuesta de fuerza de adhesión al pelado. El valor de α en la estandarización es igual a 5%. | 64 |
| Figura 10. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre la fuerza de adhesión al pelado en el material resultante. (a) Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% (b) Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y (c) Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%. | 65 |
| Gráfica 6. Tendencia del comportamiento de la envoltura mejorada bajo el ensayo de tracción. | 67 |
| Gráfica 7. Fuerza adhesiva al pelado en la envoltura mejorada y en la envoltura comercial conforme al tiempo de lavado | 69 |
| Gráfica 8. Pérdida de sólidos conforme al tiempo de lavado en la envoltura óptima (T óptimo), la envoltura comercial (Comercial) y el papel sin recubrir (Papel). | 69 |

Gráfica 9. Pérdida de humedad de la envoltura comercial (BEESWRAP-BW), envoltura mejorada (EM) y del papel sin recubrir (PAPEL) con respecto al tiempo para cálculo de permeabilidad al vapor de agua, comparando las 3 permeabilidades en a) y comparando las permeabilidades de las envolturas recubiertas en b).

70

CAPÍTULO 1.

1.1. INTRODUCCIÓN

Las envolturas y los materiales de envasado retardan el deterioro de los alimentos, disminuyendo la interacción entre el alimento y el medio que le rodea, reduciendo la pérdida o ganancia de humedad o aromas, oxidaciones y/o contaminaciones microbianas (Aguilar-Méndez, 2005). La celulosa (polímero natural más abundante) forma fibras y microfibrillas cristalinas fuertemente ligadas por su composición de β -D-glucopiranososa, posee baja densidad, alta resistencia mecánica, bajo costo, durabilidad, no toxicidad, renovabilidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, etc. Su aplicación para formar películas para envolturas de alimentos tiene como desventaja una baja barrera al vapor de agua (Ferreira et al., 2016), con la finalidad de aportar hidrofobicidad a la celulosa se mezcla con cera de abeja (Aguilar-Méndez, 2005; Embuscado y Huber, 2009; Navarro-Tarazaga et al., 2011; Spence et al., 2011) la cual está compuesta por ésteres de alcoholes, ácidos grasos, lactonas, flavonoides, etc. (Vit, 2005; Aguilar-Méndez, 2005) a través de un recubrimiento que se logra aplicando una emulsión compuesta de lípido-hidrocoloide y aditivos (plastificantes o emulsionantes) (Guilbert et al., 1995; Navarro-Tarazaga et al. 2008; Galgano, 2015; Ferreira et al. 2016; Gunaydin et al., 2017) sobre un soporte de celulosa. Formular una emulsión cuyos componentes mejoren las propiedades mecánicas y físicas de una envoltura para alimentos a partir de celulosa y cera de abeja podría significar una alternativa rentable y ambientalmente más responsable para conservar alimentos, con el fin de satisfacer las preferencias del consumidor y reducir el impacto ambiental.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBEJTIVO GENERAL

Formular, preparar y evaluar una envoltura reutilizable a partir de celulosa y cera de abeja.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Formular una emulsión a base de cera de abeja, cuya consistencia permita una aplicación y retención homogénea sobre un soporte de celulosa tipo papel.
- b) Desarrollar un proceso por medio del cual se obtenga una envoltura constituida por un papel de celulosa recubierto de manera homogénea por la emulsión para obtener una envoltura inicial deformable y adhesiva.
- c) Evaluar el efecto de la composición de la emulsión sobre las propiedades mecánicas de la envoltura recubierta, mediante un diseño central compuesto.
- d) Mejorar la formulación de la composición de la emulsión para obtener una envoltura cuyas propiedades sean las más deseables utilizando un modelo matemático obtenido del diseño central compuesto.
- e) Caracterizar la envoltura mejorada, en comparación a una envoltura comercial y determinar su grado de permeabilidad, módulo elástico y el efecto de lavado sobre las características de la envoltura usando como criterio la capacidad adhesiva del material con respecto al tiempo de lavado.

1.3. JUSTIFICACIÓN

La necesidad de crear materiales alternativos al uso de plástico es cada día más urgente, dadas las características de estos plásticos, su reemplazo ha sido difícil, siendo ideales en su aplicación como envolturas de alimentos, pero altamente acumulativos por su casi nula degradación dañando el medio ambiente. El uso de un material degradable como la celulosa para la elaboración de envolturas de alimentos, tiene sus ventajas como: baja densidad, alta resistencia mecánica, bajo costo, durabilidad, no toxicidad, renovabilidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, etc., sin embargo, tiene algunos inconvenientes como lo es su baja barrera al vapor de agua y su baja estabilidad dimensional en presencia de humedad; la adición de cera de abeja a la celulosa a través de un recubrimiento, mejoraría las propiedades mecánicas de la envoltura resultante, pudiendo incluso ser reutilizada, generando menos desechos luego de cumplir su función de envase primario. Esta envoltura, autoadherible, deformable y reutilizable, podría ser útil para conservar alimentos que puedan ser contenidos en dicha envoltura, lo que disminuiría la necesidad de utilizar materiales plásticos derivados del petróleo.

CAPÍTULO 2.

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. PROBLEMÁTICA

El consumidor exige alimentos de mejor calidad y de mayor vida de anaquel. El material de envasado puede evitar el deterioro de los alimentos, disminuyendo la interacción entre el alimento y el medio que le rodea, lo que representa una reducción en la pérdida o ganancia de humedad o aromas, oxidaciones y/o contaminaciones microbianas (López-García y Jiménez-Martínez, 2015; Santiago-Santiago, 2015). Además, existe una creciente exigencia por parte del consumidor de materiales biodegradables, reciclables o reutilizables, de forma que se minimice el impacto ambiental generado durante los procesos de producción y eliminación de los envases (Oropeza-González *et al.*, 2016; Tharanathan, 2003). Estudios sobre películas elaboradas a partir de proteínas, lípidos y polisacáridos han sido realizados con el propósito de determinar su efectividad como barreras a la transferencia de masa y gases. En vista de que las películas de un solo componente presentan desventajas, ya sea en propiedades mecánicas o de barrera de gases, se ha intentado mejorar las propiedades funcionales de esos recubrimientos mediante el uso de mezclas entre dos o más componentes. (Aguilar-Méndez, 2005; Guilbert *et al.*, 1995; Imre y Pukánszky, 2015; Lin y Zhao, 2007; Navarro-Tarazaga *et al.*, 2011; Romero-Bastida, 2001; Ukai, Tsutsumi y Marakami, 1976).

2.1.2. PROPIEDADES DE ENVOLTURAS PARA ALIMENTOS

La calidad de los productos alimenticios depende de sus propiedades organolépticas, nutricionales y microbiológicas, todas las cuales están sujetas a cambios dinámicos durante el almacenamiento y la distribución. Dichos cambios se deben principalmente a las interacciones entre los alimentos y su entorno o a la migración entre diferentes componentes dentro de un alimento compuesto (Embuscado y Huber, 2009)

Los envases se clasifican en primarios, en contacto directo con el producto, secundarios cuando el contenedor unitario lleva uno o más envases primarios y tiene información para identificar el producto, o en terciarios que se utilizan para distribuir, unificar y proteger los productos. Esta es una clasificación por función, otra clasificación es por su aplicación, en rígidos, semi-rígidos y flexibles, en donde se encuentran las envolturas plásticas, de papel, aluminio, laminaciones u otros materiales flexibles como extrusiones (López-García y Jiménez-Martínez, 2015).

Dentro de sus principales funciones y aplicaciones de las envolturas de alimentos se encuentran, disminuir la permeabilidad, retardar el intercambio de solutos, aceite y grasas; mejorar la integridad estructural, retener compuestos volátiles de sabor y ser vehículo de aditivos alimentarios (Tharanathan, 2003; Lin y Zhao, 2007; López-García y Jiménez-Martínez, 2015; Santiago-Santiago, 2015).

Existen muchas tecnologías que pueden usarse para hacer películas, la elección de un proceso específico depende de su naturaleza. Los polisacáridos y las proteínas deben modificarse mediante procesos como la polimerización, la gelificación, la coagulación y la covalorización. Los recubrimientos a base de lípidos se obtienen con mayor frecuencia por

fusión y cristalización o por evaporación del solvente. Las películas se pueden obtener mediante extrusión, coextrusión, esparcido, fundición, recubrimiento por laminación, recubrimiento por tambor, recubrimiento por sartén o técnicas de laminación (Embuscado y Huber, 2009).

2.1.3. INGREDIENTES PARA ELABORAR ENVOLTURAS A PARTIR DE RECURSOS RENOVABLES.

2.1.3.1. Proteínas

Las películas o recubrimientos elaborados con matriz estructural de proteínas son buenas formadoras de películas, se adhieren a las superficies hidrofílicas, presentan gran permeabilidad al vapor de agua (2 o 4 veces más que los empaques de plásticos comerciales) y consisten de redes macromoleculares continuas más o menos ordenadas. Las interacciones entre proteínas necesitan ser numerosas y uniformes. La probabilidad de formación de enlaces intermoleculares depende de la forma de la proteína y de las condiciones del proceso. Proteínas con altos pesos moleculares (glutenina) y proteínas fibrosas (colágeno) generalmente forman películas con buenas propiedades mecánicas. Mientras que las proteínas globulares y pseudoglobulares (gliadina, caseína y glicinina) usualmente necesitan desdoblarse antes de formar la red (Aguilar-Méndez, 2005; Santiago-Santiago, 2015).

2.1.3.2. Carbohidratos

Los polisacáridos son las macromoléculas más abundantes en la biosfera. Estos carbohidratos complejos constituidos por enlaces glicosídicos son a menudo uno de los principales elementos estructurales de plantas (por ejemplo, celulosa) y exoesqueletos

animales (por ejemplo, quitina) o tienen un papel importante en el almacenamiento de energía de la planta (por ejemplo, almidón) (Ferreira *et al.*, 2016).

Poseen propiedades filmogénicas. Producen películas con buenas propiedades mecánicas y son barreras eficientes contra compuestos de baja polaridad. Naturaleza hidrófila con baja resistencia a la pérdida de agua. Ejemplos de estos son: almidón, celulosa, pululano, quitosano, alginato, pectina, carragenina, goma gelán, etc. Se caracterizan por ser polímeros de cadena larga, solubles en agua y por producir un fuerte aumento en la viscosidad al dispersarse en agua (Aguilar-Méndez, 2005, Ferreira *et al.*, 2016).

- **Celulosa**

La celulosa es el polímero natural más abundante que se encuentra en la tierra, constituye las paredes celulares de todas las plantas; se compone de un monómero único: β -D-glucopiranososa. Debido a su estructura regular y variedad de grupos hidroxilo, tiende a formar fibras y microfibrillas cristalinas fuertemente ligadas a hidrógeno (Aguilar-Méndez, 2005).

Su gran interés está relacionado con propiedades específicas tales como baja densidad, alta resistencia mecánica, bajo costo, durabilidad, no toxicidad, renovabilidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, buen rendimiento de formación de películas, estabilidad química y facilidad de fabricación de derivados químicos. La fuente de materia prima más utilizada para la producción de productos a base de celulosa son las fibras de madera y algodón y en pequeñas cantidades los tallos de bagazo de caña de azúcar. Son difíciles de usar para aplicaciones industriales debido a su naturaleza

hidrófila, insolubilidad en agua y cristalinidad (Aguilar-Méndez, 2005; Spence et al., 2011; López-García y Jiménez-Martínez, 2015; Ferreira *et al.*, 2016).

2.1.3.3. Lípidos

Las películas elaboradas a partir de lípidos tienen una baja permeabilidad a la humedad, pero sus propiedades mecánicas son limitadas. Estos materiales se suelen utilizar con la finalidad de aportar hidrofobicidad a una determinada superficie y hacerla una barrera efectiva frente a la humedad. La polaridad relativamente baja de los componentes lipídicos y su capacidad para formar una red densa y ordenada tras su enfriamiento apropiado, explican las excelentes propiedades como barrera contra la humedad de las películas y recubrimientos de grasas y derivados. Si estos ingredientes son combinados, pueden interactuar física o químicamente para producir películas o cubiertas compuestas con mejores propiedades requiriendo la presencia de una matriz que actúe como soporte (Aguilar-Méndez, 2005; Romero-Bastida, Zamudio-Flores y Bello-Pérez, 2011; Ukai *et al.*, 1976).

Los compuestos lipídicos incluyen lípidos neutros de glicéridos que son ésteres de glicerol y ácidos grasos y las ceras que son ésteres de alcoholes monohidroxilados de cadena larga y ácidos grasos, mientras que las resinas son un grupo de sustancias ácidas que generalmente son secretadas por células vegetales especiales en conductos o canales de resina en respuesta a lesiones o infecciones en muchos árboles y arbustos (Lin y Zhao, 2007).

Los materiales de barrera formadores de película hidrófobos más comúnmente utilizados incluyen, en orden decreciente de eficiencia de barrera son ceras, lacas,

ácidos grasos y alcoholes, glicéridos acetilados y por último compuestos a base de cacao y sus derivados. La disminución de la eficiencia puede explicarse por la composición química de las moléculas, como la presencia de componentes polares, la longitud de la cadena de hidrocarburos y el número de insaturación o acetilación. Para los componentes que tienen una naturaleza química común, una longitud de cadena creciente modifica las propiedades de barrera porque la polaridad molecular disminuye, y esto no favorece la solubilidad en agua de la película (Embuscado y Huber, 2009).

- **Cera de abeja**

Las abejas tienen cuatro pares de glándulas ceríparas, ubicadas en los esternitos de los segmentos abdominales. Cada glándula tiene una monocapa de células epiteliales secretoras muy activas durante las dos primeras semanas en la vida de una abeja adulta, la cual puede producir una cantidad de cera equivalente a la mitad del peso de su cuerpo. Una escama de cera recién secretada es moldeable y será transformada por las abejas hasta convertirla en un panal. Para producir 1 kg de cera, las abejas consumen 8 kg de miel; el punto de fusión de la cera de abejas no es constante ya que la composición varía ligeramente con su origen variando en el rango de 61-65°C; está compuesta por ésteres de alcoholes C24 – C33 y ácidos grasos C18 – C36, contiene además lactonas, flavonoides, alcoholes y ácidos libres. Es liposoluble y se disuelve con los solventes orgánicos (solventes orgánicos como éter, bencina, benzol, cloroformo y aceite de trementina y, después del calentamiento, en alcohol y aceites grasos) (Tulloch, 1980; Vit, 2005).

2.1.4. ADITIVOS PARA MEJORAR LA ELABORACIÓN Y PROPIEDADES DE ENVOLTURAS PARA ALIMENTOS.

Las propiedades funcionales, sensoriales y mecánicas de una película para alimentos pueden modificarse por la adición de varias sustancias en pequeñas cantidades, a las cuales se les denomina aditivos (plastificantes, antimicrobianos, colorantes) (Embuscado y Huber, 2009).

Los plastificantes (glicerol, sorbitol, propilenglicol) disminuyen las atracciones intermoleculares entre las cadenas poliméricas adyacentes aumentando la flexibilidad de la película, deben ser compatibles con el polímero, permanentes en el sistema y eficientes en conseguir las propiedades deseables de la película (Aguilar-Méndez, 2005; Donhowe y Fennema, 1993; Gurgel-Adeodato-Vieira, 2011). Reducen la tensión de deformación, dureza, densidad, viscosidad y carga electrostática de un polímero, aumentan la resistencia a la fractura y la constante dieléctrica, otras propiedades también se ven afectadas, como el grado de cristalinidad, la claridad óptica, la conductividad eléctrica, el comportamiento del fuego y la resistencia a la degradación biológica (Gurgel-Adeodato-Vieira *et al.*, 2011).

La incorporación de estos aditivos también modifica las propiedades de barrera de estas películas. La adición de una sustancia hidrofóbica (aceites, ceras) como aditivo, ayuda a aumentar la resistencia al vapor de agua de las películas (Romero-Bastida *et al.*, 2001). Se han utilizado emulsionantes y agentes texturizantes para estabilizar los sistemas dispersos; se han usado sustancias ácidas y alcalinas para mejorar la solubilización de proteínas; y agentes de bronceado como sulfitos, aldehídos y ácido ascórbico se han utilizado para aumentar la reticulación o el injerto de biopolímeros, como las proteínas. Además, algunos antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico), agentes antimicrobianos o enzimas (por

ejemplo, transglutaminasa) pueden promover enlaces intra o intermoleculares, mientras que algunas sales se usan para inducir la gelificación de polímeros (por ejemplo, alginatos o pectinatos) (Embuscado y Huber, 2009).

Con la introducción de materiales hidrofóbicos y plastificantes, se ha tratado de mejorar las propiedades mecánicas de películas a base de polisacáridos. Las estrategias pueden incluir el uso de aditivos (como lípidos), mezclas con diferentes polímeros, diseño de membranas multicapa, uso de nanopartículas y modificación química de polisacáridos (Aguilar-Méndez, 2005; Ferreira *et al.*, 2016).

2.1.4.1. Glicerina

Físicamente, la glicerina es un líquido higroscópico, soluble en agua, claro, casi incoloro, inodoro, viscoso, con un alto punto de ebullición (290°C) y un punto de fusión de 17.8°C. Químicamente, la glicerina es un alcohol trihídrico, capaz de reaccionar como un alcohol, pero estable en la mayoría de las condiciones. La combinación inusual de propiedades de la glicerina ha resultado en su uso en una gran variedad de productos y procesos. Algunos de estos usos dependen de sus propiedades físicas, mientras que otros dependen de sus propiedades químicas o la combinación de varias de sus propiedades (Lide, 1994; Miner y Dalton, 1953).

El uso como plastificante de la glicerina en la formación de películas o recubrimientos puede afectar la permeabilidad al vapor de agua y gases por su naturaleza hidrofílica e higroscópica, también reduce la fragilidad y aumenta la flexibilidad de las películas disminuyendo las atracciones intermoleculares entre las cadenas poliméricas adyacentes (Romero-Bastida *et al.*, 2001; Santiago-Santiago, 2015). Otro efecto que se

observó al aplicarse como plastificante del celofán es que éste adquiere propiedades adhesivas (Glycerine Producers Association, 1963)

2.1.4.2. Alginato de Sodio

Los alginatos poseen una buena propiedad de formación de película, produciendo películas uniformes, transparentes y solubles en agua. Las películas a base de alginato son impermeables a los aceites y grasas pero, como otros polisacáridos hidrófilos, tienen una alta permeabilidad al vapor de agua. Como recubrimiento puede mejorar la adhesión de la masa a la superficie de frutas y verduras con buena barrera de oxígeno retrasando la oxidación de lípidos en varias frutas y verduras (Lin y Zhao, 2007).

El ácido algínico se encuentra en la pared celular de las algas marinas pardas (hasta 40% de su peso seco) como componentes estructurales que brindan rigidez, elasticidad, flexibilidad y capacidad de enlazar agua. La conversión del ácido algínico en alginato de sodio permite su solubilidad en agua, lo que ayuda a su extracción. El alginato de sodio ($\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$) se compone de los ácidos 1,4- β -D-manurónico (M) y α -1-gulurónico (G) (Avendaño-Romero, López-Malo y Palou, 2013).

Los alginatos bacterianos se utilizan para la protección del medio ambiente y la síntesis de biopelículas para adherirse a las superficies. La mayor ventaja es su comportamiento líquido-gel en soluciones acuosas. La masa gelificada es un copolímero compuesto de dos tipos de unidades monoméricas (Loureiro-Dos-Santos, 2017).

La viscosidad de las soluciones de alginatos depende de la longitud de las moléculas, cuanto mayor sea la longitud de las cadenas, más alta será la viscosidad. Al disolverse

en agua, las moléculas se hidratan y aumenta su viscosidad. Existen diversas aplicaciones, como la fabricación de alimentos, productos farmacéuticos y en textiles y cosméticos, particularmente como emulsionante, y también se utiliza en odontología para hacer moldes (Avendaño-Romero *et al.*, 2013., Loureiro-Dos-Santos, 2017).

2.1.4.3.D-Limoneno.

El limoneno es un monoterpeno con un líquido claro e incoloro a temperatura ambiente, un químico natural que es el principal componente en el aceite de las naranjas. El limoneno se usa ampliamente como sabor y fragancia, y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) lo reconoce como seguro en los alimentos (21 CFR 182. 60 en el Código de Regulaciones Federales, U. S. A.). El limoneno es un solvente botánico (derivado de plantas) de baja toxicidad (National Center for Biotechnology Information, 2004).

El limoneno se utiliza como sustituto de los hidrocarburos clorados, los clorofluorocarbonos y otros disolventes. Se utiliza para desengrasar metales (30% de limoneno) antes de la pintura industrial, para la limpieza en la industria electrónica (50–100% de limoneno), para la limpieza en la industria de la impresión (30–100% de limoneno) y en pintura como disolvente. El limoneno no tiene grupos funcionales para la hidrólisis, y se sabe que su anillo de ciclohexeno y su grupo etileno son resistentes a la hidrólisis. Por lo tanto, no se espera la hidrólisis del limoneno, ni en ambientes terrestres ni acuáticos en condiciones naturales. La vida media hidrolítica del d-limoneno se ha estimado en > 1000 días (Filipsson, Bard y Karlsson, 1998).

Algunas de las propiedades físicas de D-Limoneno por mencionar son, punto de ebullición de 178°C, punto de fusión de -74°C y viscosidad de 0.9 cP. También se pueden mencionar ventajas de seguridad como su baja toxicidad, que es menor que la del tolueno y el cloruro de metileno, su presión de vapor relativamente baja <1.5 mmHg, se desconocen efectos a largo plazo sobre la salud humana, está clasificado como no-cancerígeno y no-mutagénico. En reacciones y procesos el D-limoneno no es cáustico y es relativamente inerte, tiene precios competitivos con solventes convencionales, su alto punto de ebullición puede ser ventajoso para algunos procesos, además es fácilmente biodegradable (Kerton y Marriott, 2013).

2.1.5. PROPIEDADES MECÁNICAS DE LAS ENVOLTURAS PARA ALIMENTOS

La conservación de alimentos ayuda a los alimentos a mantener sus propiedades / cualidades originales hasta el punto de consumo. Se logra protegiendo el artículo alimenticio contra las condiciones de su entorno y controlando la migración y la transferencia de masa, incluida la pérdida de agua, sujetas a cambios durante el almacenamiento y la distribución, solo el envasado de alimentos permite controlar la transferencia de masa entre un material alimenticio y su entorno (Embuscado y Huber, 2009).

Las películas deben ser generalmente resistentes a la rotura y la abrasión (para fortalecer la estructura del relleno de alimentos y facilitar el manejo) y una plasticidad suficientemente flexible para adaptarse a la posible deformación del relleno sin romperse. Las propiedades mecánicas de los materiales amorfos se modifican gravemente cuando la temperatura de estos compuestos se aumenta por encima de la temperatura de transición vítrea (T_g), debajo

de su Tg, el material es rígido, y por encima se vuelve viscoelástico o incluso líquido, siendo un parámetro físico-químico crucial para comprender y predecir el comportamiento de las películas (Guilbert *et al.*, 1995).

Las películas de múltiples componentes aprovechan las propiedades funcionales de cada componente de la película para proporcionar propiedades de barrera y mecánicas. La transferencia de humedad dentro y a lo largo de un producto alimenticio depende de la diferencia de actividad del agua, el coeficiente de solubilidad, que representa la afinidad del producto por el agua y el coeficiente de difusividad, que se ocupa de la movilidad del agua en el sistema. La permeabilidad generalmente se expresa como el producto de la solubilidad por la difusividad (Embuscado y Huber, 2009).

La cohesión es el resultado de la propiedad del polímero para formar fuertes y/o numerosos enlaces moleculares entre cadenas poliméricas, dificultando así su separación. Las pruebas de esfuerzo y deformación, son utilizadas para determinar las propiedades mecánicas de los materiales. Los parámetros comunes y principales que se caracterizan son: la tensión a la fractura, el porcentaje de elongación y el módulo de elasticidad o Módulo de Young. (Santiago-Santiago, 2015). En la medida que se tenga información sobre el efecto de la composición de dicha envolturas, se podrá mejorar se aplicación y escalamiento.

2.1.6. DISEÑO CENTRAL COMPUESTO

Los diseños de experimentos se aplican al estudio de procesos industriales analizando el comportamiento de un proceso bajo condiciones normales de operación, considerando aquellos factores controlables que afectan su desempeño, lo que permite estimar de manera veraz y confiable las posibles mejoras aplicables. Para dicho análisis operativo existen

distintas metodologías de aplicación que involucran elementos de distinta naturaleza y que van desde la simple intuición y experiencia que se tenga sobre el proceso, hasta la utilización de sofisticados sistemas de análisis de datos para la construcción de las conclusiones finales. Los diseños estándares de superficie de respuesta conocidos tales como el Diseños Central Compuesto (DCC) y los Diseños Box-Behnken con sus variantes, son de uso generalizado debido a que son diseños bastante generales y flexibles. (Hernández-Cruz, 2007).

La metodología de superficie de respuesta como estrategia experimental y de modelado, facilita la determinación de las condiciones óptimas de operación para un proceso. Comprende un subgrupo de diseños experimentales que hacen uso del primer, segundo o mayor orden polinómico para modelar la relación entre las variables independientes y la variable de respuesta, y por lo tanto se considera una herramienta adecuada cuando el objetivo es optimizar un proceso que es afectado por diversos factores (Ortiz-Fernández *et al.*, 2016).

El DCC o Diseño Central Compuesto, consiste de un diseño factorial completo (o una fracción del) 2^k , donde el nivel de los factores está codificado a los valores usuales -1, +1 estándares. Esto es llamado la porción factorial del diseño, también se conforma de un número n_C de puntos centrales ($n_C \geq 1$) y de dos puntos axiales en el eje de cada variable de diseño a una distancia de α desde el centro de diseño. Esta porción es llamada la porción axial el diseño y dependiendo de la elección de α en los puntos axiales, el diseño central compuesto puede tener diferentes propiedades como ortogonalidad, rotabilidad y uniformidad. Se considerará solamente una propiedad deseable en estos diseños consistente en que la varianza de los valores estimados sea constante en puntos equidistantes del centro

del diseño. Esta propiedad llamada rotabilidad se logra estableciendo $\alpha = (2k)^{1/4}$. Así el valor de α para un diseño con dos factores es $\alpha = 1.414$ y para tres factores $\alpha = 1.682$ (Hernández-Cruz, 2007; Jiménez-Careaga, 2015).

Los niveles codificados de los factores de un diseño factorial $2k$ se obtienen mediante la siguiente fórmula: $x_i = 2(A_i - \bar{A})/R_i$, donde A_i es el i -ésimo nivel del factor A , \bar{A} es el nivel promedio del factor A y R_i es el rango entre el valor más alto y el más bajo de del factor A . Con este procedimiento, se asigna valores ± 1 a las variables asociadas al arreglo factorial $2k$. Las coordenadas de los puntos axiales de los ejes del factor codificado son $(\pm\alpha, 0, 0, \dots, 0)$, $(0, \pm\alpha, 0, \dots, 0)$, \dots , $(0, 0, 0, \dots, \pm\alpha)$, y los puntos centrales son de la forma $(0, 0, 0, \dots, 0)$ (Jiménez-Careaga, 2015).

2.1.6.1. Superficie de Respuesta

Desde el punto de vista matemático, el diseño de experimentos óptimos se remite a la determinación de los valores que mejor ajusten el fenómeno visto como un problema extremo, es decir, con valores óptimos en la frontera. El enfoque usual es especificar un modelo, determinar la región de interés, seleccionar el número de corridas que deberán hacerse, especificar el criterio de optimización y después elegir los puntos del diseño de un conjunto de puntos candidatos que el experimentador consideraría usa (Hernández-Cruz, 2007).

Para identificar los factores que tienen mayor influencia en la respuesta y examinar la bondad de ajuste del modelo se utiliza el análisis de varianza. Mediante el método de máxima pendiente se determina la dirección en la cual se encuentra la región óptima (Jiménez-Careaga, 2015).

2.1.7. INVESTIGACIONES PREVIAS Y PRODUCTOS EN EL MERCADO

A este trabajo anteceden investigaciones en las que se han mezclas de cera de abeja y celulosa modificada para formular recubrimientos que mejoran la conservación de frutas en particular, los cuales han resultado en mejoras en la barrera al vapor de agua y que se presentan en la **tabla 1**; se han analizado los efectos de diferentes plastificantes y su efecto en las propiedades mecánicas de los recubrimientos resultantes, pero no se tiene información sobre el uso de un soporte de celulosa recubierto con cera de abeja que sirva de envoltura primaria (contacto directo con el alimento), flexible y autoaherible para la conservación de alimentos.

Tabla 1. Autores que han estudiado el efecto de la cera de abeja en la formulación de recubrimientos alimenticios.

| Autor, año | Efecto de la cera de abeja en recubrimientos |
|-------------------------------|--|
| Navarro-Tarazaga et al., 2011 | La adición de cera de abeja a la matriz de película HPMC redujo la resistencia mecánica de la película y la barrera de oxígeno, y mejoró la barrera de humedad de la película |
| Spence et al., 2011 | El recubrimiento con cera de abejas, parafina y almidón cocido resultó en películas de celulosa microfibrilada con tasas de transmisión de vapor de agua más bajas que el polietileno de baja densidad. |
| Gunaydin et al., 2017 | Todos los recubrimientos redujeron el peso de la ciruela y la pérdida de firmeza y la fruta recubierta mostró una mayor acidez y contenido de sólidos solubles. Además, los trastornos fisiológicos como el pardeamiento de la carne y el sangrado se redujeron en las muestras recubiertas en comparación con los controles sin recubrimiento |
| Han et al. 2006 | La adición de cera de abeja afectó las propiedades mecánicas, reduciendo significativamente la permeabilidad al vapor de agua, la resistencia a la tracción y el alargamiento; aumentando el módulo de elasticidad y la permeabilidad al oxígeno. |

Actualmente se comercializan envolturas con soportes de celulosa recubiertos con cera de abeja y aceite de jojoba, el cual es una cera vegetal que a temperatura ambiente es líquida. Estos productos muestran adhesividad, flexibilidad, conservan los alimentos que contienen, no pueden ser calentados a altas temperaturas y son reutilizables. Algunas marcas son: BEES'S WRAP, ABEEGO, HONEY WRAP, SUPERBEE y BeeEco. El escalamiento de

estos productos artesanales puede significar un proceso de alto costo, evaluar una formulación capaz de cumplir con las propiedades mecánicas y físicas requeridas para ser un material reutilizable, flexible y adhesivo con bajo costo es de gran importancia.



Figura 1. Envolturas a partir de cera de abeja, aceite de jojoba y algodón, en el mercado actualmente, marca BEE'S WRAP.

CAPÍTULO 3.

3.1 MATERIALES

Alginato de Sodio grado reactivo. Glicerina grado reactivo. Tween 80 grado reactivo. Cera de abeja estampada marca Mi miel®. Aceite de D-Limoneno proporcionado por la Juguera de Akil en el estado de Yucatán. Paños de Limpieza Kleenex® Duramax® (82% celulosa, 18% poliéster). Brocha de una pulgada y media y Plancha seca de 1000 watts.

3.2 METODOLOGÍA

3.2.1. ESTRATEGIA DE TRABAJO

Las diversas etapas que sirvieron de estrategia en la realización de esta investigación se presentan en el **diagrama 1**, a partir de una primera aproximación intuitiva basada en bibliografía se lograron establecer los porcentajes de los componentes y el proceso de aplicación de una emulsión que sirvió para recubrir el soporte de celulosa utilizado por sus cualidades reutilizables.



Diagrama 1. Estrategia de trabajo para elaborar y evaluar una envoltura reutilizable con cera de abeja y celulosa.

En las primeras dos etapas se definieron las variables fijas e independientes, así como la concentración menor y mayor a la que se estudiarían para evaluar el efecto de la composición en las características de la envoltura. Las variables fijas fueron la cera de abeja y el tween 80, la cera de abeja se tomó como referencia considerándose el 100% y el tween 80 se fijó al 6.25% (con respecto a la cantidad de cera); la formulación se fue variando con las cantidades de los otros componentes, alginato de sodio, glicerina, y limoneno. Este estudio se realizó mediante un diseño central compuesto. Con los resultados experimentales que se obtuvieron en este estudio se realizó la mejora de la formulación, (con el modelo matemático) para obtener una envoltura más elástica y con mayor capacidad adhesiva, a la cual se le determinaron algunas características físicas (permeabilidad, elasticidad, adhesividad y resistencia al lavado).

3.2.2. PREPARACIÓN DE LAS ENVOLTURAS

Las emulsiones se prepararon a 80 °C y 200 rpm. Los componentes se fueron disolviendo ordenadamente en agua destilada, éstos fueron: alginato de sodio, glicerina, tween 80, D-Limoneno y la cera de abeja. Al terminar de incorporarse por completo cada elemento se integró el siguiente componente, la emulsión adquiere un color característico de la cera de abeja. El recubrimiento de los paños se efectuó sobre parrilla de calentamiento a 80 °C manualmente en ambos lados del papel y se secaron a temperatura ambiente, posteriormente se sellaron con calor a 75 °C planchando la envoltura entre dos láminas de papel aluminio.

3.2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Después de una serie de estudios preliminares, las variables independientes fueron definidas (alginato de sodio, glicerina y D-Limoneno) y sus niveles establecidos para la

determinación de los niveles **mayor y menor** para cada variable. El efecto del alginato de sodio, glicerina y limoneno sobre las propiedades mecánicas de las envolturas recubiertas se evaluó a través de un diseño central compuesto de superficie de respuesta rotatable, el arreglo de composición central 2^3 +estrella, con 4 repeticiones del punto central;. condiciones determinadas con el programa STATGRAPHICS®, para estimar el efecto de cada componente de la emulsión sobre las propiedades mecánicas de la película recubierta. Dado que el diseño consta de 3 factores, α tiene un valor normalizado de 1.682; la **tabla 2** presenta los valores experimentales de las variables controladas del diseño experimental, “0” representa valores centrales de las variables, ± 1 los puntos factoriales, el valor más bajo ($-\alpha$) y el más alto ($+\alpha$) de cada variable; expresados en porcentajes con respecto al peso de cera de abeja de la formulación. Para preparar las distintas formulaciones se tomaron 80 g de cera como base de cada lote.

Tabla 2. Composición de los ingredientes variables de la formulación de la emulsión. Valores experimentales para los parámetros del diseño central compuesto, porcentajes con respecto al peso de cera de abeja.

| Códigos | Parámetros | $-\alpha$ | -1 | 0 | 1 | $+\alpha$ |
|---------|--------------------|-----------|------|------|------|-----------|
| A | Alginato de Na (%) | 2.04 | 3.75 | 6.25 | 8.75 | 10.45 |
| B | Glicerina (%) | 0.79 | 2.5 | 5 | 7.5 | 9.2 |
| C | D-Limoneno (%) | 4.12 | 6.25 | 9.37 | 12.5 | 14.63 |

El diseño completo consistió de 15 formulaciones distintas con 4 repeticiones del punto central, para un total de 18 experimentos (corridas). Este tipo de diseños son muy eficientes para ajustar modelos de segundo orden. Todas las películas fueron preparadas en forma aleatoria. En la **tabla 3** se presentan las corridas experimentales del diseño central compuesto, en una matriz que presenta los diferentes porcentajes en los que se utilizó cada variable independiente.

Tabla 3. Corridas experimentales del diseño experimental.

| <i>Variables independientes</i> | | | |
|---------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| <i>Tratamiento</i> | <i>ALGINATO</i> | <i>GLICERINA</i> | <i>LIMONENO</i> |
| | % | % | % |
| 1 | 3.75 | 2.5 | 6.25 |
| 2 | 8.75 | 2.5 | 6.25 |
| 3 | 3.75 | 7.5 | 6.25 |
| 4 | 8.75 | 7.5 | 6.25 |
| 5 | 3.75 | 2.5 | 12.5 |
| 6 | 8.75 | 2.5 | 12.5 |
| 7 | 3.75 | 7.5 | 12.5 |
| 8 | 8.75 | 7.5 | 12.5 |
| 9 | 2.04552 | 5.0 | 9.375 |
| 10 | 10.4545 | 5.0 | 9.375 |
| 11 | 6.25 | 0.795518 | 9.375 |
| 12 | 6.25 | 9.20448 | 9.375 |
| 13 | 6.25 | 5.0 | 4.1194 |
| 14 | 6.25 | 5.0 | 14.6306 |
| 15 | 6.25 | 5.0 | 9.375 |
| 16 | 6.25 | 5.0 | 9.375 |
| 17 | 6.25 | 5.0 | 9.375 |
| 18 | 6.25 | 5.0 | 9.375 |

3.2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En la caracterización de las películas, la metodología de superficie de respuesta fue seleccionada para obtener los modelos matemáticos que describen las interacciones entre las variables independientes (contenido de alginato de sodio, glicerina y D-limoneno en la fórmula) y las variables de respuesta (carga, esfuerzo y porcentaje de elongación a la rotura, y módulo de Young). El coeficiente polinomial de segundo orden para cada término de la ecuación fue determinado mediante el análisis de regresión múltiple. Los datos experimentales fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA)

De acuerdo con la metodología de superficie de respuesta, los datos experimentales fueron utilizados para determinar los coeficientes β_i y β_{ij} de la ecuación de expansión de la serie de Taylor (polinomial cuadrática), cuya expresión general se establece en la ecuación (1):

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{12} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \epsilon$$

Ecuación (1). Ecuación general de regresión polinomial cuadrática.

Siendo Y la función de la variable de respuesta y X_1 , X_2 y X_3 las variables independientes (contenido de alginato de sodio, glicerina y D-limoneno en la fórmula). Los coeficientes β_i y β_{ij} fueron estimados por el método de mínimos cuadrados y ε es el residuo que mide el error experimental, representado por una distribución normal, con media cero y variación igual a σ^2 . La influencia de las variables fue observada a través de los gráficos de superficie de respuesta.

3.2.5. EVALUACIÓN DE PROPIEDADES MECÁNICAS

3.2.5.1. Pruebas Tracción y estiramiento

Las propiedades mecánicas fueron realizadas de acuerdo con la norma ASTM D-638, utilizando un texturómetro (Instron modelo 4442) de pruebas universales donde se evaluó la carga a la rotura, esfuerzo a la rotura, módulo de Young y porcentaje de elongación. Para llevar a cabo la prueba de tensión, se colocaron probetas tipo-IV (**figura 2**) de la envoltura recubierta cuyo grosor (T) varió entre tratamientos; estas probetas de 115 mm de largo y 19 mm en la parte más ancha, tienen un área de 33 mm por 6 mm de ancho la cual permanece expuesta durante la prueba de tensión mientras que el resto de la probeta permanece sujeta por las mordazas especialmente adaptadas. Para cada tratamiento se llevaron a cabo 3 mediciones.

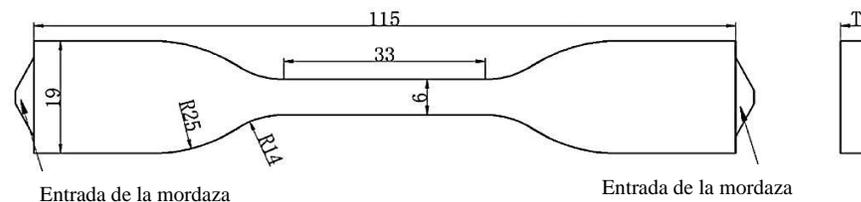


Figura 2. Probeta tipo IV. Los números en la imagen representan los milímetros en los que se especifican las dimensiones de las probetas. T es el grosor de la probeta por la sigla en inglés, en promedio tuvo un valor de 0.44 mm (texto centrado)

Las especificaciones de la prueba fueron 33 mm de distancia entre las mordazas al inicio de la prueba, velocidad de cruceta a 20 mm/min, con una celda de carga de 50 kgf. Estas especificaciones se mantuvieron en cada una de las réplicas de cada tratamiento elaborado.

La carga a la rotura fue la fuerza a la que se registró la rotura del material o probeta en este caso. El esfuerzo o tensión a la rotura considera la fuerza a la que se registró la rotura del material por unidad de área transversal de la probeta ensayada.

El porcentaje de elongación a la rotura es el porcentaje de deformación que se alcanzó a registrar al momento de la rotura de la probeta, representa el desplazamiento máximo que alcanzó el material con respecto a su posición inicial y se representa en forma de porcentaje. Por último, el módulo de Young se calculó como la pendiente del comportamiento lineal en la zona elástica de la gráfica de esfuerzo vs deformación para cada probeta ensayada, estas gráficas fueron generadas en el software computacional Origin Pro8. En la **figura 3** una fotografía del ensayo.



Figura 3. Prueba de tensión en texturómetro Instron modelo 4442 de acuerdo con la norma ASTM D-638

3.2.5.2. Prueba de Adhesividad

Las propiedades adhesivas fueron realizadas de acuerdo con la norma ASTM D-3330, utilizando un texturómetro (Instron modelo 4442, **figura 4**) de pruebas universales donde se evaluó la fuerza adhesiva al despegado. Para llevar a cabo la prueba de adhesividad, se cortaron 10 probetas por tratamiento para obtener 5 pares de probetas pegadas entre sí por cada tratamiento presionando una contra la otra con una fuerza de 0.5 ton durante un minuto, con un total de 90 ensayos cuyas dimensiones fueron de 2.5 mm de ancho por 20 cm de largo. Se consideró la adhesión al despegue como la fuerza requerida para remover las envolturas sensibles a la presión que fueron presionadas entre sí a un ángulo controlado y a una velocidad y condición estándar. Las especificaciones de la prueba fueron 14 cm de distancia entre las mordazas al inicio de la prueba, velocidad de cruceta a 20 mm/min, con una celda de carga de 50 kgf. Estas especificaciones se mantuvieron en cada una de las réplicas de cada tratamiento elaborado.



Figura 4. Prueba de adhesividad en texturómetro Instron modelo 4442 de acuerdo con la norma ASTM D-3330

3.2.5.3. Prueba de lavados

Esta prueba se llevó a cabo para estudiar el cambio en las propiedades adhesivas del material obtenido con la fórmula que se consideró óptima y así tener una idea sobre los cambios que presenta al ser lavado. Por ello se realizó a la envoltura una vez optimizada, a la muestra comercial e incluso al papel sin recubrir para determinar el porcentaje de sólidos perdidos en cada uno de los 3 materiales. De este modo se puede estimar si los materiales son reutilizables y comparar estos cambios.

Se usaron probetas que permitieran una prueba de adhesividad posterior al tiempo de lavado, los 3 diferentes tratamientos (envoltura mejorada, envoltura comercial y el papel sin recubrir) se lavaron en 3 matraces diferentes, todas las probetas se comenzaron a lavar al mismo tiempo, conforme llegaba el momento de sacar la muestra en determinado tiempo se retiraron 4 probetas del matraz, de este modo se realizó una prueba de adhesividad posterior por duplicado para cada tiempo. Las probetas fueron enjuagadas con agua esparcida con piseta al momento de muestreo y secadas sobre aluminio a temperatura ambiente.

Los tiempos de muestreo fueron al primer minuto, al segundo y al tercero, a los 5 minutos, 8 minutos y 10 minutos de lavado en agitación a 120 rpm en una solución de agua destilada y detergente líquido (Axion) a una concentración de 3 ml de detergente/litro de agua destilada.

3.2.5.4. Prueba de permeabilidad al vapor de agua (PVA)

Las propiedades de barrera de vapor de agua de la envoltura recubierta mejorada, la envoltura comercial y la envoltura sin recubrir, fueron evaluadas de acuerdo con la

norma ASTM E96/96M mediante la permeabilidad de vapor de agua. Las muestras fueron recortes en círculos de 25 mm de diámetro y se fijaron en una superficie de cinta metálica con un agujero de menor diámetro cuya área expuesta representa 475 mm². La cinta con la película montada se fijó en la tapa de un frasco con un agujero con la misma área de exposición, que contenía en su interior 50 g de NaCl y 15 ml de agua destilada, con el propósito de generar una humedad relativa de 75% y una distancia de la película a la superficie de la solución salina de 15 mm. Los frascos montados fueron colocados en un desecador que contenía sílica de gel que generaba una humedad relativa antes del inicio de la prueba de 0%. La variación del peso se midió en intervalos de 1 a 8 horas, utilizando una balanza analítica (ADAM modelo 17250) con sensibilidad de 0.0001 g, en donde se verificó la pérdida de peso de los frascos ocasionada por el gradiente de presiones existentes, que provocan que el vapor de agua se difunda a través de la envoltura (Acosta, 2011). Las muestras fueron realizadas por triplicado.

La velocidad de transmisión de vapor de agua se calculó mediante la siguiente ecuación:

Ecuación (2).

$$VTVA = \frac{\Delta w}{A}$$

Donde:

VTVA= Velocidad de transmisión de vapor de agua

Δw = Pendiente (Diferencia de peso a un tiempo definido en un área constante)

A= Área constante de exposición de la envoltura

El valor de la VTVA fue utilizado para el cálculo de la permeabilidad de vapor de agua siguiendo la ecuación (3):

$$\text{Ecuación (3).} \quad PVA = \frac{VTVA}{\Delta p} \cdot L$$

Donde:

PVA= Permeabilidad de vapor de agua

Δp = Gradiente de presión de vapor de ambos lados de la envoltura

L= Espesor de la envoltura

Debido al error generado al hacer el ensayo y las condiciones en que se realizó la medición, la permeabilidad de vapor de agua es corregida para obtener datos más reales. La velocidad de transmisión de vapor de agua corregida se calcula mediante la ecuación (4):

$$\text{Ecuación (4).} \quad VTVAc = VTVAm \frac{pw1-pw2}{pw3-pw4}$$

Donde:

VTVAc= Velocidad de transmisión de vapor de agua corregida

VTVAm= Velocidad de transmisión de vapor de agua medida

pw1= Presión parcial del vapor de agua sobre la solución saturada

pw2= Presión parcial de vapor de agua del desecador ejercida por la sílica gel

pw3= Presión parcial de vapor de agua sobre el lado interno de la envoltura

pw4= Presión parcial de vapor de agua sobre el lado externo de la película

Las diferencias de presiones se calculan siguiendo las siguientes ecuaciones:

$$\text{Ecuación (5).} \quad pw1 = p0 \cdot \frac{HR_1}{100}$$

$$\text{Ecuación (6).} \quad pw2 = p0 \cdot \frac{HR_2}{100}$$

Ecuación (7). $pw_3 = Pr - (Pr - pw_1) \cdot e^{(VTVAmRTh_i/PTD)}$

Ecuación (8). $pw_4 = Pr - (Pr - pw_2) \cdot e^{(VTVAmRTh_o/PTD)}$

Donde:

PT= Presión total atmosférica

p0= Presión del vapor de agua a la temperatura de la prueba (3167.2645 Pa)

D= Difusividad del vapor de agua a través del aire a 25°C (2.81956 m²/día)

R= Constante universal de los gases (0.462 m³ Pa g⁻¹ °K-1)

T= Temperatura absoluta durante la prueba en °K (25°C=298°K)

hi= Espacio de aire entre la envoltura y la solución saturada (m)

ho= Espacio de aire entre la envoltura y la tapa del desecador (m)

HR₁= Humedad relativa de la solución saturada dentro de la celda

HR₂= Humedad relativa fuera de la celda

El cálculo de la permeabilidad al vapor de agua corregida se realiza con base a la

ecuación (9):

Ecuación (9).

$$PVAc = \frac{VTVAc \cdot L}{pw_1 - pw_2}$$

CAPÍTULO 4.

4.1. RESULTADOS

4.1.1. COMPOSICIÓN DE LA EMULSIÓN

Los componentes requirieron irse incorporando en el siguiente orden para poder obtener una emulsión manejable: alginato de sodio, glicerina, tween 80, D-Limoneno y la cera de abeja estampada. Se utilizaron rangos de porcentaje de cada componente en distintas emulsiones previas para distinguir aquellos que mostraban mayor cambio en la consistencia y manejo de la emulsión, a manera que se pudiera definir aquellos que funcionarían como variables dependientes para conservar su buen manejo y aquellos que se definirían como variables independientes debido a su efecto sobre las propiedades mecánicas y físicas de interés.

4.1.2. PROCESO DE APLICACIÓN DE LA EMULSIÓN

Con respecto al proceso de aplicación de la emulsión sobre el soporte de celulosa, se logró establecer un proceso que permitiera una efectiva incorporación de la emulsión como recubrimiento, siendo importante mencionar que el agua destilada que sirvió como vehículo para incorporar dicha emulsión, al evaporarse en el secado de la envoltura el recubrimiento perdía homogeneidad; el planchado o sellado con calor de la envoltura recubierta fue la etapa en la que se logró retener por completo la emulsión en el soporte de celulosa y dar un aspecto de acabado que no fuese quebradizo.

Las variables dependientes fijadas fueron la cera de abeja (100%) y el tween 80, el cual se fijó al 6.25%. Las variables independientes establecidas fueron el alginato de sodio, la glicerina y el D-Limoneno, los niveles definidos permitieron generar un diseño central compuesto, estos fueron 3.75% y 8.75% para alginato de sodio, 2.5% y 7.5% para glicerina

y por último, 6.25% y 12.5% para D-limoneno, con respecto a la cera de abeja (valores factoriales del diseño central compuesto). El diseño experimental consistió de 15 formulaciones y 4 repeticiones del punto central. La **figura 5** muestra una de las envolturas recubiertas resultantes.

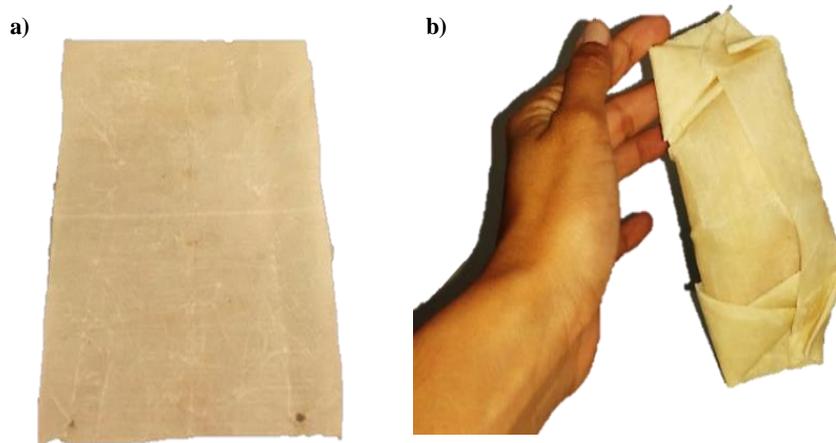


Figura 5. Película recubierta. La imagen **a)** muestra una envoltura recubierta, la **b)** muestra dicha película como envoltura en un pan.

4.1.3. ANÁLISIS DEL EFECTO DE LOS FACTORES DE LA EMULSIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS DE LA ENVOLTURA RECUBIERTA

4.1.3.1. Carga a la rotura

Los resultados de las mediciones de la carga mostraron que el soporte de celulosa presentó una resistencia mayor (carga a la rotura mayor) al ser recubierto. Los resultados de las mediciones de dichas pruebas se presentan a continuación en la **tabla 4**. El resultado es el promedio de las 3 mediciones llevadas a cabo para cada tratamiento con la desviación estándar y el porcentaje de variabilidad.

Tabla 4. Resultados de las mediciones para carga a la rotura por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar.

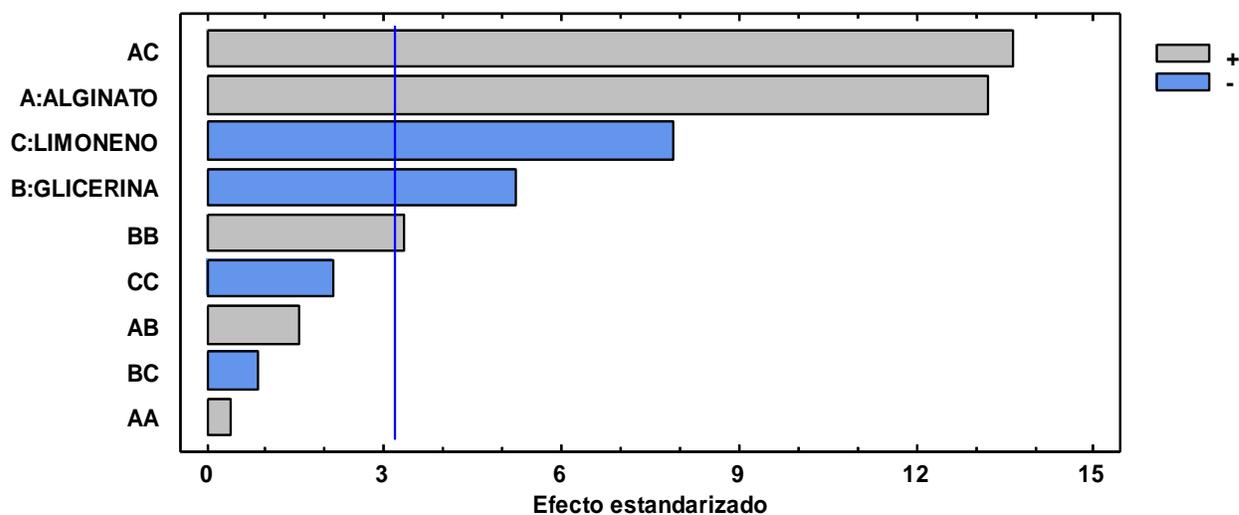
| <i>Variables independientes</i> | | | | <i>Variable de respuesta</i> | |
|---------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------------------|--------------------------|
| <i>Tratamiento</i> | <i>ALGINATO</i> | <i>GLICERINA</i> | <i>LIMONENO</i> | <i>CARGA A LA ROTURA</i> | |
| | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>N</i> | <i>% de Variabilidad</i> |
| 1 | 3.75 | 2.5 | 6.25 | 7.03 \pm 0.55 | 7.9 |
| 2 | 8.75 | 2.5 | 6.25 | 7.32 \pm 0.26 | 3.7 |
| 3 | 3.75 | 7.5 | 6.25 | 6.99 \pm 0.71 | 10.2 |
| 4 | 8.75 | 7.5 | 6.25 | 6.72 \pm 0.56 | 8.3 |
| 5 | 3.75 | 2.5 | 12.5 | 5.13 \pm 0.43 | 8.5 |
| 6 | 8.75 | 2.5 | 12.5 | 6.97 \pm 0.95 | 13.6 |
| 7 | 3.75 | 7.5 | 12.5 | 4.11 \pm 0.7 | 18.3 |
| 8 | 8.75 | 7.5 | 12.5 | 7.05 \pm 0.45 | 6.4 |
| 9 | 2.04552 | 5.0 | 9.375 | 5.64 \pm 0.87 | 15.5 |
| 10 | 10.4545 | 5.0 | 9.375 | 6.36 \pm 0.55 | 8.8 |
| 11 | 6.25 | 0.795518 | 9.375 | 6.53 \pm 0.48 | 7.5 |
| 12 | 6.25 | 9.20448 | 9.375 | 6.05 \pm 0.68 | 11.3 |
| 13 | 6.25 | 5.0 | 4.1194 | 5.39 \pm 0.23 | 4.3 |
| 14 | 6.25 | 5.0 | 14.6306 | 6.11 \pm 0.30 | 4.9 |
| 15 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 6.38 \pm 0.59 | 9.3 |
| 16 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 6.24 \pm 0.51 | 8.23 |
| 17 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 6.15 \pm 0.99 | 16.2 |
| 18 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 6.09 \pm 0.21 | 3.5 |

Tabla 5. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para carga a la rotura como variable de respuesta.

| <i>Fuente de Variación</i> | <i>Factor(es)</i> | <i>CARGA A LA ROTURA</i> |
|--|-----------------------|--------------------------|
| | | <i>Valor - P</i> |
| EFFECTOS PRINCIPALES | Alginato | 0.0010 |
| | Glicerina | 0.0144 |
| | Limoneno | 0.0045 |
| EFFECTOS PRINCIPALES DE INTERACCIÓN | Alginato – Glicerina | 0.2272 |
| | Alginato – Limoneno | 0.0009 |
| | Glicerina - Limoneno | 0.4620 |
| | Alginato – Alginato | 0.7268 |
| | Glicerina – Glicerina | 0.0466 |
| | Limoneno – Limoneno | 0.1254 |
| R | R – Cuadrada | 66.3917% |
| | R – Cuadrada Ajustada | 28.5823% |
| Residual | Falta de Ajuste | 0.0050 |
| | Observación | Significativa |

$\alpha=0.05$ (95% confiable)

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó para corroborar la significación de los términos de la ecuación polinómica de segundo orden para los datos experimentales; los resultados se muestran en la **tabla 5**. Los valores de P menores que 0.05 indican una significación estadística en los términos del modelo. Con respecto a los efectos, 5 efectos tuvieron un valor de $P > 0.05$, éstos fueron los efectos unitarios de los 3 factores, la interacción de alginato – limoneno y el efecto cuadrático de la glicerina, lo que indica que son importantes en la preparación de las envolturas y la carga que pueden resistir antes de romperse. La bondad del ajuste se revisó mediante el coeficiente de determinación (R^2). En este caso, el coeficiente de determinación fue de 66.4%, lo que implica que el modelo presentó un comportamiento aceptable; el valor de ajuste del coeficiente de determinación fue de 28.6% lo que proporciona información sobre qué tan bien el modelo predice un valor de respuesta, en este caso fue bajo. La prueba de falta de ajuste está diseñada para determinar si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados. La prueba se realiza comparando la variabilidad de los residuos del modelo actual con la variabilidad entre observaciones obtenidas en condiciones repetidas de los factores. Dado que el valor-P para la falta de ajuste en la tabla ANOVA es menor que 0.05, existe una falta de ajuste estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Esto significa que el modelo así ajustado no representa adecuadamente a los datos.



Gráfica 1. Diagrama de Pareto estandarizado correspondiente a la variable de respuesta de carga a la rotura. El valor de α en la estandarización es igual a 5%.

El efecto sobre la carga a la rotura de la concentración de los factores (alginato de sodio, glicerina y limoneno) que componen la emulsión para elaborar la envoltura, se presenta en la **gráfica 1** con un diagrama de Pareto estandarizado. Se observan 5 factores con efecto significativo en la carga necesaria para que la muestra se rompa (carga a la ruptura), de los cuales 3 tuvieron un efecto positivo el efecto del alginato y la interacción alginato-limoneno cuya concentración influyó en el aumento de la carga a la ruptura (o sea la mayor resistencia de la envoltura) y el efecto cuadrático de la glicerina en menor medida, y dos factores con efecto negativo que fueron el efecto del limoneno y la glicerina. Se observa que el limoneno, aunque por sí mismo tiene un efecto negativo, su interacción con el alginato tiene un efecto considerablemente positivo. Estos resultados indican que el alginato juega un papel significativamente importante en el incremento a la carga a la rotura.

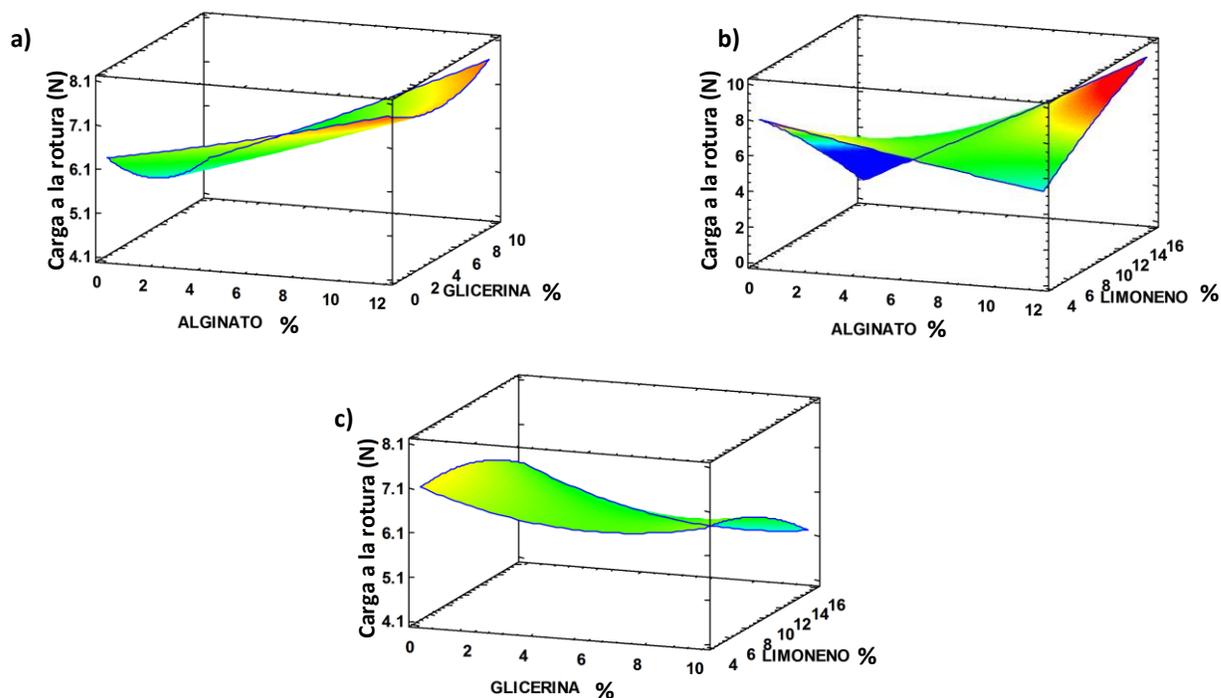


Figura 6. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre la carga a la rotura en el material resultante. **(a)** Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% **(b)** Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y **(c)** Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%.

En las superficies de respuesta de la **figura 6** podemos apreciar que las variaciones de glicerina con respecto a la concentración de alginato no cambian por mucho la resistencia del material, mientras que a altas concentraciones de alginato se obtienen una mayor carga antes de la rotura de la envoltura al mantener la concentración de limoneno a 9.37% como se aprecia en el inciso a). En el inciso b) se aprecia que al mantener la concentración de glicerina al 5% se observa una interacción entre los factores alginato de sodio y limoneno que favorece el aumento de la carga a la rotura cuando se manejan concentraciones altas de alginato de sodio (12%) y limoneno (15%), remarcando la importancia de considerar dicha interacción a la hora de

establecer una formulación que favorezca la resistencia deseada del material. El efecto de la interacción de la glicerina con el limoneno (inciso c)) varía de manera que a altas concentraciones de limoneno y glicerina el material soporta menor carga a la rotura, bajas concentraciones de glicerina y bajas concentraciones de limoneno permiten una mayor resistencia del material manteniendo la concentración de alginato de sodio a un 6.25%.

La **ecuación (10)** presenta la ecuación del modelo ajustado en función a la carga a la rotura (CR), donde x_1 es el porcentaje de alginato de sodio, x_2 es el porcentaje de glicerina y x_3 es el porcentaje de limoneno en la formulación de la emulsión.

$$CR = 10.6841 - 0.619149x_1 - 0.278236x_2 - 0.392511x_3 + 0.0021763x_1^2 + 0.0108x_1x_2 + 0.07616x_1x_3 + 0.0185814x_2^2 - 0.0048x_2x_3 - 0.00765797x_3^2$$

Ecuación (10). Ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos medidos con respecto a la carga a la rotura.

4.1.3.2. Esfuerzo a la rotura

Los resultados de las mediciones mostraron que el soporte de celulosa presenta un menor esfuerzo a la rotura al ser recubierto. Los resultados de las mediciones de dichas pruebas se presentan a continuación en la **tabla 6**. El resultado es el promedio de las 3 mediciones llevadas a cabo para cada tratamiento con la desviación estándar y el porcentaje de variabilidad.

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó para corroborar la significación de los términos de la ecuación polinómica de segundo orden para los datos experimentales; los resultados se muestran en la **tabla 7**. Los valores de P menores que 0.05 indican

una significación estadística en los términos del modelo. Con respecto a los efectos, ninguno fue significativo. La bondad del ajuste se revisó mediante el coeficiente de determinación (R^2). En este caso, el coeficiente de determinación fue de 76.5%, lo que implica que el modelo presentó un comportamiento favorable; el valor de ajuste del coeficiente de determinación fue de 50% lo que proporciona información sobre qué tan bien el modelo predice un valor de respuesta, en este caso favorable. La prueba de falta de ajuste está diseñada para determinar si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados ó si se debería usar un modelo más complicado. La prueba se realiza comparando la variabilidad de los residuos del modelo actual con la variabilidad entre observaciones obtenidas en condiciones repetidas de los factores. Dado que el valor-P para la falta de ajuste en la tabla ANOVA es mayor que 0.05, el modelo parece ser adecuado para los datos observados.

Tabla 6. Resultados de las mediciones para esfuerzo a la rotura por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar.

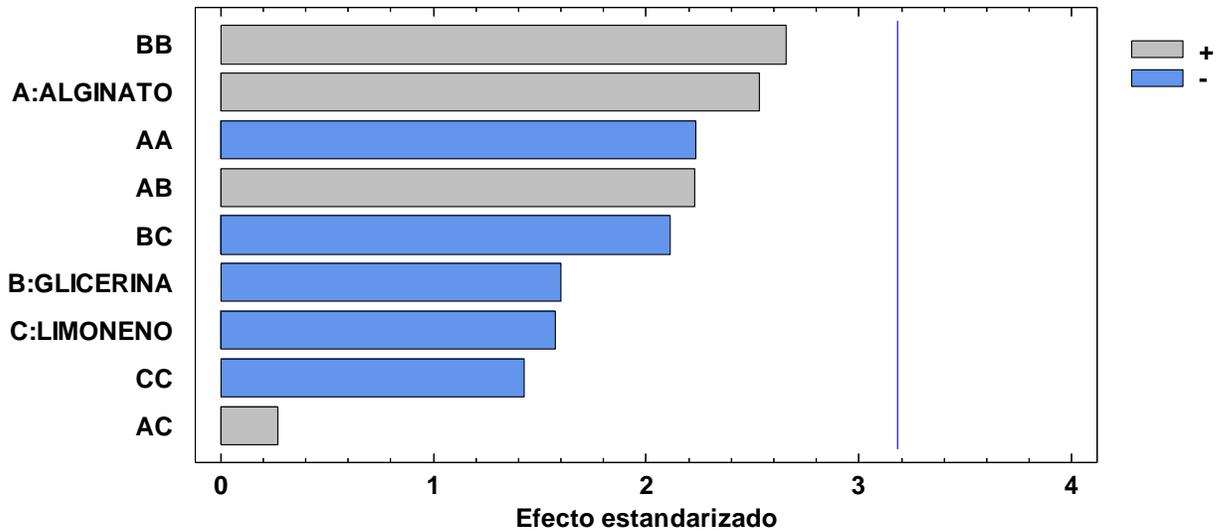
| <i>Variables independientes</i> | | | | <i>Variable de respuesta</i> | |
|---------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------------------|--------------------------|
| <i>Tratamiento</i> | <i>ALGINATO</i> | <i>GLICERINA</i> | <i>LIMONENO</i> | <i>ESFUERZO A LA ROTURA</i> | |
| | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>KPa</i> | <i>% de Variabilidad</i> |
| 1 | 3.75 | 2.5 | 6.25 | 2555.72 \pm 297 | 11.6 |
| 2 | 8.75 | 2.5 | 6.25 | 2361.82 \pm 202 | 8.5 |
| 3 | 3.75 | 7.5 | 6.25 | 2141.07 \pm 59 | 2.8 |
| 4 | 8.75 | 7.5 | 6.25 | 2987.98 \pm 336 | 11.3 |
| 5 | 3.75 | 2.5 | 12.5 | 2220.99 \pm 269 | 12.1 |
| 6 | 8.75 | 2.5 | 12.5 | 2411.71 \pm 190 | 7.9 |
| 7 | 3.75 | 7.5 | 12.5 | 1395.10 \pm 403 | 29 |
| 8 | 8.75 | 7.5 | 12.5 | 2036.29 \pm 272 | 13.4 |
| 9 | 2.04552 | 5.0 | 9.375 | 1763.12 \pm 310 | 17.5 |
| 10 | 10.4545 | 5.0 | 9.375 | 2196.71 \pm 234 | 11 |
| 11 | 6.25 | 0.795518 | 9.375 | 3022.51 \pm 160 | 5.3 |
| 12 | 6.25 | 9.20448 | 9.375 | 2779.13 \pm 78 | 2.8 |
| 13 | 6.25 | 5.0 | 4.1194 | 1952.29 \pm 143 | 7.3 |
| 14 | 6.25 | 5.0 | 14.6306 | 2311.94 \pm 281 | 12.0 |
| 15 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 2665.21 \pm 434 | 16.3 |
| 16 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 2127.25 \pm 462 | 21.0 |
| 17 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 2406.98 \pm 287 | 11.8 |
| 18 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 2223.41 \pm 332 | 15.0 |

Tabla 7. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para esfuerzo a la rotura como variable de respuesta.

| <i>Fuente de Variación</i> | <i>Factor(es)</i> | <i>ESFUERZO A LA ROTURA</i> |
|--|-----------------------|-----------------------------|
| | | <i>Valor - P</i> |
| EFFECTOS PRINCIPALES | Alginato | 0.0854 |
| | Glicerina | 0.2081 |
| | Limoneno | 0.2134 |
| EFFECTOS PRINCIPALES DE INTERACCIÓN | Alginato – Glicerina | 0.1123 |
| | Alginato – Limoneno | 0.8066 |
| | Glicerina - Limoneno | 0.1254 |
| | Alginato – Alginato | 0.1117 |
| | Glicerina – Glicerina | 0.0764 |
| | Limoneno – Limoneno | 0.2496 |
| R | R – Cuadrada | 76.4675 |
| | R – Cuadrada Ajustada | 49.9934 |
| Residual | Falta de Ajuste | 0.3380 |
| | Observación | No significativa |

$\alpha=0.05$ (95% confiable)

El análisis del esfuerzo a la rotura se representa en la **gráfica 2** con un diagrama de Pareto estandarizado. De acuerdo a esta información, la influencia de los componentes en el esfuerzo a la rotura no muestra efecto significativo, ni de cada variable, ni de sus interacciones, lo cual indica que dentro de los niveles que se estudiaron la concentración de estos componentes no tiene influencia significativa en la variación del esfuerzo a la ruptura.



Gráfica 2. Diagrama de Pareto correspondiente a la variable de respuesta de esfuerzo a la rotura. El valor de α en la estandarización es igual a 5%.

En la **figura 7** se presentan las superficies de respuesta que corresponden a los factores y sus interacciones y efectos sobre la propiedad mecánica de esfuerzo a la rotura. El inciso a) muestra la zona con mayor esfuerzo a la rotura donde la concentración de glicerina alcanza 10% mientras la concentración de alginato de sodio se mantiene al 12%, también hay una zona a la que se presenta mayor esfuerzo a la rotura, entre el 2 y 4% de alginato de sodio en ausencia de glicerina, manteniendo la concentración de limoneno al 9.37%. En el caso de los factores alginato de sodio y limoneno (inciso b), su interacción parece favorecer el esfuerzo a la rotura manteniendo sus concentraciones entre 6 y 10 % y entre 8 y 12% respectivamente. En el inciso c) se observa las zonas de mayor esfuerzo a la rotura al mantener bajas concentraciones de glicerina con altas concentraciones de limoneno ó altas concentraciones de glicerina con bajas concentraciones de limoneno, es decir que al estar ambas concentraciones de glicerina y limoneno cercanas a cero el esfuerzo a la rotura es menor, y manejar ambas concentraciones altas tiene el mismo efecto.

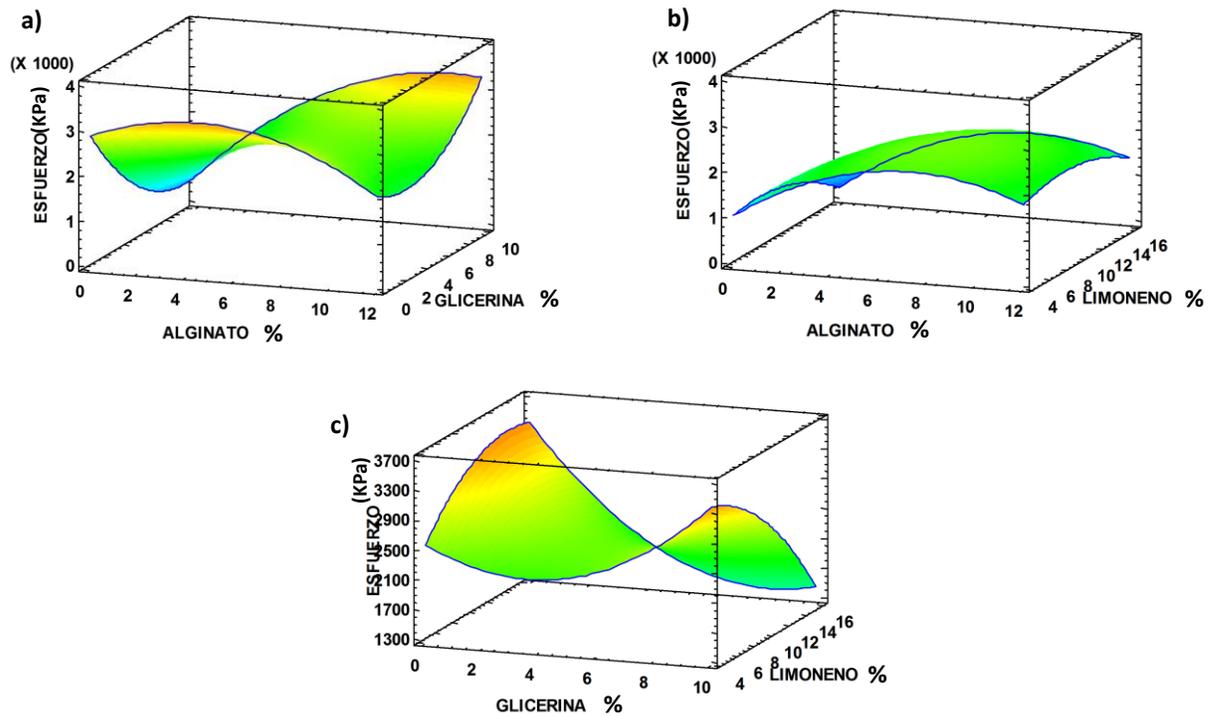


Figura 7. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre el esfuerzo a la rotura en el material resultante. **(a)** Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% **(b)** Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y **(c)** Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%.

La **ecuación (11)** presenta la ecuación del modelo ajustado en función al esfuerzo a la rotura (ER), donde x_1 es el porcentaje de alginato de sodio, x_2 es el porcentaje de glicerina y x_3 es el porcentaje de limoneno en la formulación de la emulsión.

$$ER = 1427.65 + 186.091x_1 - 298.645x_2 + 244.855x_3 - 23.7763x_1^2 + 29.8256x_1x_2 + 2.8624x_1x_3 + 28.3179x_2^2 - 22.6051x_2x_3 - 9.70664x_3^2$$

Ecuación (11). Ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos medidos con respecto al esfuerzo a la rotura.

4.1.3.3. Módulo de elástico

Los resultados de las mediciones mostraron que el soporte de celulosa presenta un mayor módulo de Young al ser recubierto lo que se traduce en menor elasticidad. Los resultados de las mediciones de dichas pruebas se presentan a continuación en la **tabla 8**. El resultado es el promedio de las 3 mediciones llevadas a cabo para cada tratamiento con la desviación estándar y el porcentaje de variabilidad.

Tabla 8. Resultados de las mediciones para módulo de Young por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar.

| <i>Variables independientes</i> | | | | <i>Variable de respuesta</i> | |
|---------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------------------|--------------------------|
| <i>Tratamiento</i> | <i>ALGINATO</i> | <i>GLICERINA</i> | <i>LIMONENO</i> | <i>MÓDULO DE YOUNG</i> | |
| | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>KPa</i> | <i>% de Variabilidad</i> |
| 1 | 3.75 | 2.5 | 6.25 | 76 017.50 \pm 15 900 | 22.3 |
| 2 | 8.75 | 2.5 | 6.25 | 104 404.26 \pm 16 200 | 16.0 |
| 3 | 3.75 | 7.5 | 6.25 | 72 184.022 \pm 4 200 | 5.8 |
| 4 | 8.75 | 7.5 | 6.25 | 158 267.52 \pm 33 000 | 21.0 |
| 5 | 3.75 | 2.5 | 12.5 | 109 274.75 \pm 8 700 | 8.0 |
| 6 | 8.75 | 2.5 | 12.5 | 119 202.82 \pm 22 800 | 19.2 |
| 7 | 3.75 | 7.5 | 12.5 | 77 381.27 \pm 18 000 | 24.0 |
| 8 | 8.75 | 7.5 | 12.5 | 82 637.94 \pm 20 000 | 24.3 |
| 9 | 2.04552 | 5.0 | 9.375 | 81 066.42 \pm 10 100 | 12.4 |
| 10 | 10.4545 | 5.0 | 9.375 | 65 683.35 \pm 14 200 | 21.7 |
| 11 | 6.25 | 0.795518 | 9.375 | 129 186.18 \pm 16 700 | 13.0 |
| 12 | 6.25 | 9.20448 | 9.375 | 98 404.62 \pm 10 000 | 10.3 |
| 13 | 6.25 | 5.0 | 4.1194 | 103 312.28 \pm 11 800 | 11.4 |
| 14 | 6.25 | 5.0 | 14.6306 | 113 690.23 \pm 45 500 | 41.0 |
| 15 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 100 355.52 \pm 15 000 | 15.0 |
| 16 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 95 852.02 \pm 11 000 | 12.0 |
| 17 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 93 112.62 \pm 16 100 | 17.4 |
| 18 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 78 249.83 \pm 18 100 | 23.3 |

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó para corroborar la significación de los términos de la ecuación polinómica de segundo orden para los datos experimentales; los resultados se muestran en la **tabla 9**. Los valores de P menores que 0.05 indican una significación estadística en los términos del modelo. Dos efectos tuvieron un valor de $P > 0.05$, las interacciones del alginato – limoneno y la interacción glicerina - limoneno, lo que indica que son importantes en la preparación de las envolturas y la

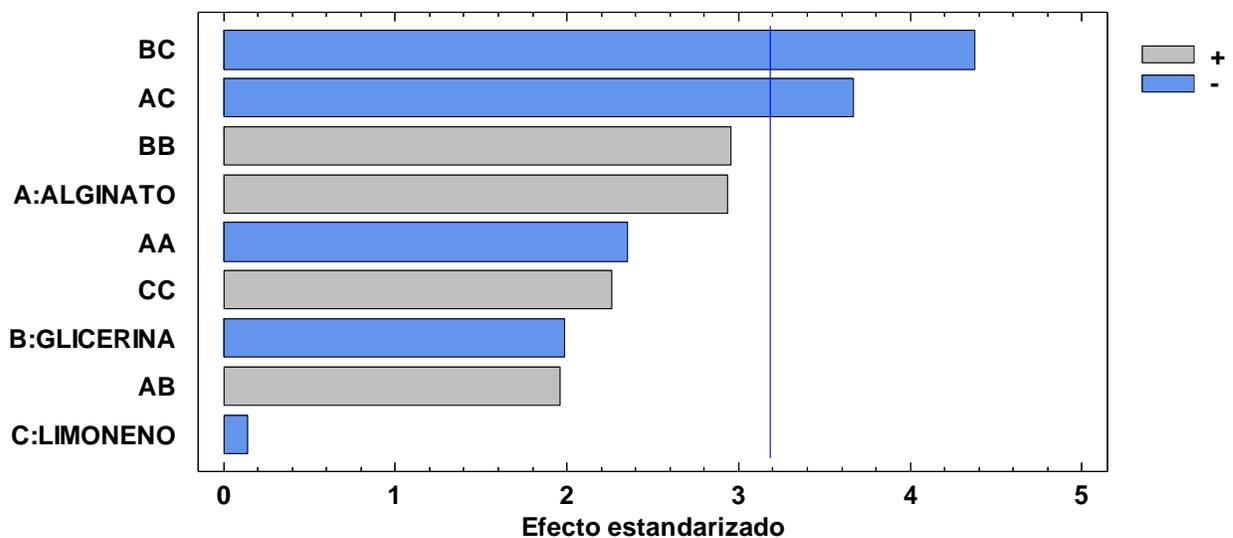
fuerza que soporta antes de deformarse permanentemente. La bondad del ajuste se revisó mediante el coeficiente de determinación (R^2), el coeficiente de determinación fue de 72.8%, lo que implica que el modelo presentó un buen comportamiento; el valor de ajuste del coeficiente de determinación fue de 42.2% lo que proporciona información sobre qué tan bien el modelo predice un valor de respuesta, en este caso aceptable. La prueba de falta de ajuste está diseñada para determinar si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados ó si se debería usar un modelo más complicado. La prueba se realiza comparando la variabilidad de los residuos del modelo actual con la variabilidad entre observaciones obtenidas en condiciones repetidas de los factores. Dado que el valor-P para la falta de ajuste en la tabla ANOVA es mayor que 0.05, el modelo parece ser adecuado para los datos observados.

Tabla 9. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para módulo de Young como variable de respuesta.

| <i>Fuente de Variación</i> | <i>Factor(es)</i> | <i>MÓDULO DE YOUNG</i> |
|--|-----------------------|------------------------|
| | | <i>Valor - P</i> |
| EFFECTOS PRINCIPALES | Alginato | 0.0608 |
| | Glicerina | 0.1415 |
| | Limoneno | 0.8981 |
| EFFECTOS PRINCIPALES DE INTERACCIÓN | Alginato – Glicerina | 0.1451 |
| | Alginato – Limoneno | 0.0351 |
| | Glicerina - Limoneno | 0.0221 |
| | Alginato – Alginato | 0.0998 |
| | Glicerina – Glicerina | 0.0598 |
| | Limoneno – Limoneno | 0.1090 |
| R | R – Cuadrada | 72.7957 |
| | R – Cuadrada Ajustada | 42.1908 |
| Residual | Falta de Ajuste | 0.1140 |
| | Observación | No significativa |

$\alpha=0.05$ (95% confiable)

En la **gráfica 3** se presenta el análisis del módulo de Young en un diagrama de Pareto estandarizado. Con relación a esta variable de respuesta se observa el efecto significativo negativo de dos parámetros que son las interacciones del limoneno con el alginato y con la glicerina, sin que haya efectivo significativo positivo en ninguna de los demás parámetros. Las interacciones glicerina-limoneno y alginato-limoneno que disminuyen el valor del módulo de Young se traducen en una envoltura recubierta resultante con mayor elasticidad.



Gráfica 3. Diagrama de Pareto correspondiente a la variable de respuesta de módulo de Young. El valor de α en la estandarización es igual a 5%.

En la **figura 8** se presentan las superficies de respuesta que corresponden a los efectos de los factores sobre el módulo de elasticidad de las envolturas al ser recubiertas. Dado que cuanto mayor sea el valor del módulo de Young se traduce en menor elasticidad en el material, la zona más favorable en el caso de la envoltura recubierta viene siendo la zona donde se observa un menor valor del módulo de Young, que se observa a concentraciones del 2% de alginato de sodio y 3% de glicerina, pudiendo incluso ser

más elástico que el papel sin recubrir. En el inciso b) se estudia la interacción entre el alginato de sodio y el limoneno, pudiendo destacar que las zonas más favorables para obtener una envoltura elásticas se observan al utilizar bajas concentraciones de alginato y limoneno a la par, y también usando altas concentraciones de alginato de sodio a la par con altas concentraciones de limoneno. En el inciso c) se observa cómo interactúa la glicerina con el limoneno, utilizar altas concentraciones de glicerina en ausencia de limoneno ó altas concentraciones de limoneno en ausencia de glicerina provocan que el material pierda elasticidad considerablemente, en cambio mínimas concentraciones de ambos o altas concentraciones a la par mantienen en un rango considerable los valores deseados de elasticidad.

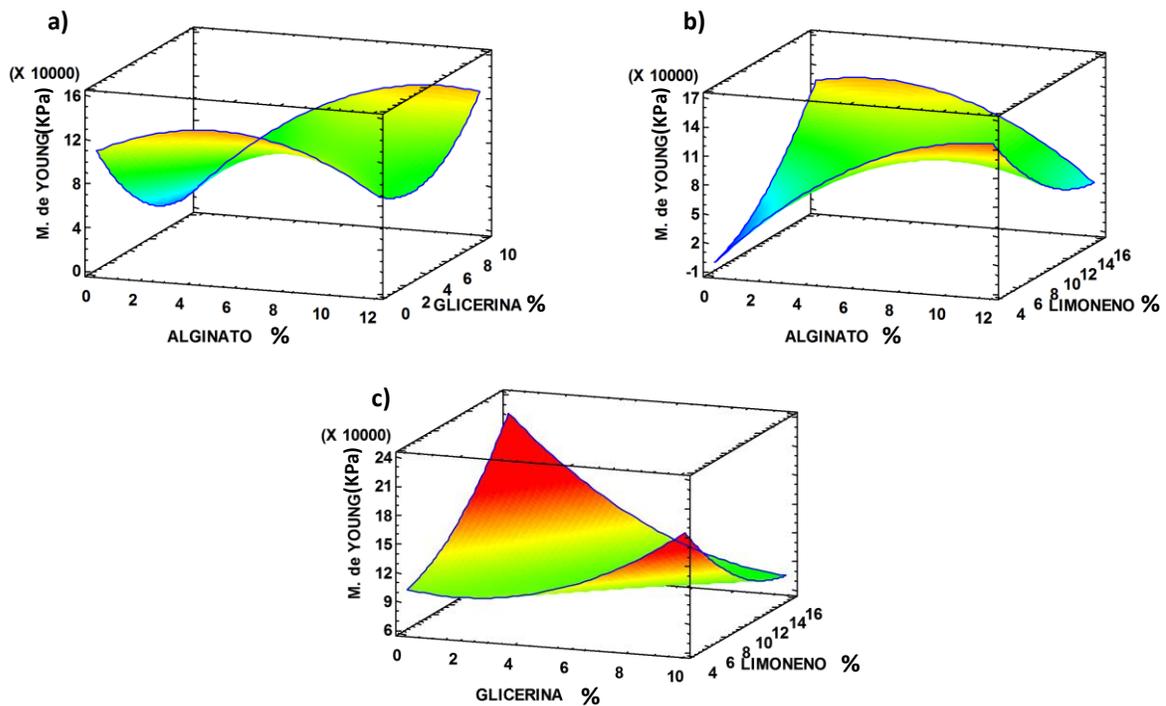


Figura 8. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre el módulo de Young en el material resultante. **(a)** Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% **(b)** Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y **(c)** Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%.

La **ecuación (12)** presenta la ecuación del modelo ajustado en función al módulo de Young (MY), donde x_1 es el porcentaje de alginato de sodio, x_2 es el porcentaje de glicerina y x_3 es el porcentaje de limoneno en la formulación de la emulsión.

$$MY = - 17690.6 + 25308.4x_1 - 3633.6x_2 + 7618.86x_3 - 1014.27x_1^2 + 1060.51x_1x_2 - 1588.57x_1x_3 + 1272.26x_2^2 - 1895.81x_2x_3 + 622.581x_3^2$$

Ecuación (12), Ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos medidos con respecto al esfuerzo la rotura.

4.1.3.4. Porcentaje de elongación a la rotura

Los resultados de las mediciones mostraron que el soporte de celulosa presenta un menor porcentaje de elongación al ser recubierto. Los resultados de las mediciones de dichas pruebas se presentan a continuación en la tabla 10. El resultado es el promedio de las 3 mediciones llevadas a cabo para cada tratamiento con la desviación estándar y el porcentaje de variabilidad.

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó para corroborar la significación de los términos de la ecuación polinómica de segundo orden para los datos experimentales; los resultados se muestran en la **tabla 11**. Los valores de P menores a 0.05 indican una significación estadística en los términos del modelo. Con respecto a los efectos, 7 tuvieron un valor de $P > 0.05$, los efectos unitarios, es decir el efecto del alginato, el de la glicerina y el del limoneno; también efectos cuadráticos, el efecto cuadrático del alginato y el del limoneno, y las interacciones del alginato – limoneno y la interacción glicerina - limoneno, siendo importantes en la preparación de las envolturas y la deformación alcanzada al momento de romperse con respecto a su longitud inicial. La

bondad del ajuste se revisó mediante el coeficiente de determinación (R^2), el coeficiente de determinación fue de 55.1%, lo que implica que el modelo presentó un comportamiento aceptable; el valor de ajuste del coeficiente de determinación fue de 4.6% lo que se traduce en una muy baja predicción del modelo. La prueba de falta de ajuste determina si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados, se realiza comparando la variabilidad de los residuos del modelo actual con la variabilidad entre observaciones obtenidas en condiciones repetidas de los factores. Dado que el valor-P para la falta de ajuste es menor que 0.05, existe una falta de ajuste estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Esto significa que el modelo así ajustado no representa adecuadamente a los datos.

Tabla 10. Resultados de las mediciones para porcentaje de elongación a la rotura por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar.

| <i>Tratamiento</i> | <i>Variables independientes</i> | | | <i>Variable de respuesta</i> | |
|--------------------|---------------------------------|------------------|-----------------|---------------------------------|--------------------------|
| | <i>ALGINATO</i> | <i>GLICERINA</i> | <i>LIMONENO</i> | <i>% ELONGACIÓN A LA ROTURA</i> | |
| | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>% de Variabilidad</i> |
| 1 | 3.75 | 2.5 | 6.25 | 11.35 \pm 2.0 | 18.5 |
| 2 | 8.75 | 2.5 | 6.25 | 11.09 \pm 1.5 | 13.0 |
| 3 | 3.75 | 7.5 | 6.25 | 17.94 \pm 3.7 | 21.0 |
| 4 | 8.75 | 7.5 | 6.25 | 11.21 \pm 3.7 | 32.6 |
| 5 | 3.75 | 2.5 | 12.5 | 13.23 \pm 4.0 | 28.3 |
| 6 | 8.75 | 2.5 | 12.5 | 14.53 \pm 4.0 | 28.4 |
| 7 | 3.75 | 7.5 | 12.5 | 8.78 \pm 2.4 | 27.5 |
| 8 | 8.75 | 7.5 | 12.5 | 14.60 \pm 2.0 | 14.2 |
| 9 | 2.04552 | 5.0 | 9.375 | 14.38 \pm 4.8 | 33.0 |
| 10 | 10.4545 | 5.0 | 9.375 | 18.88 \pm 2.37 | 12.5 |
| 11 | 6.25 | 0.795518 | 9.375 | 15.71 \pm 2.9 | 18.9 |
| 12 | 6.25 | 9.20448 | 9.375 | 20.59 \pm 2.7 | 13.3 |
| 13 | 6.25 | 5.0 | 4.1194 | 11.73 \pm 1.6 | 13.6 |
| 14 | 6.25 | 5.0 | 14.6306 | 15.99 \pm 1.3 | 8.0 |
| 15 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 15.24 \pm 2.2 | 14.2 |
| 16 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 15.88 \pm 1.3 | 8.0 |
| 17 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 16.26 \pm 3.8 | 23.3 |
| 18 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 15.63 \pm 2.6 | 16.0 |

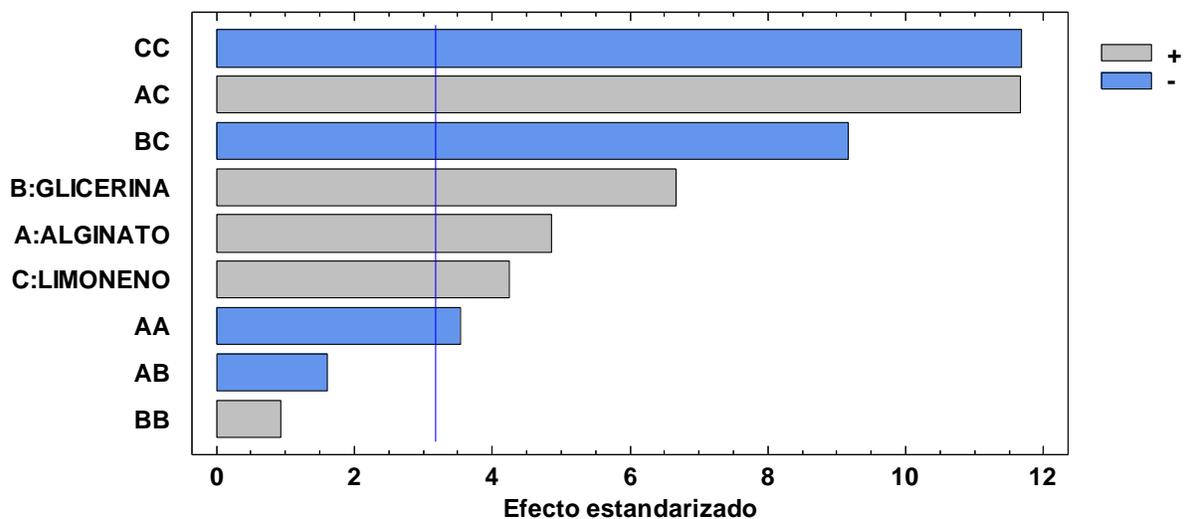
Tabla 11. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para porcentaje de elongación a la rotura como variable de respuesta.

| <i>Fuente de Variación</i> | <i>Factor(es)</i> | <i>% ELONGACIÓN A LA ROTURA</i> |
|--|-----------------------|---------------------------------|
| | | <i>Valor - P</i> |
| EFFECTOS PRINCIPALES | Alginato | 0.0166 |
| | Glicerina | 0.0069 |
| | Limoneno | 0.0241 |
| EFFECTOS PRINCIPALES DE INTERACCIÓN | Alginato – Glicerina | 0.2062 |
| | Alginato – Limoneno | 0.0014 |
| | Glicerina - Limoneno | 0.0028 |
| | Alginato – Alginato | 0.0386 |
| | Glicerina – Glicerina | 0.4233 |
| | Limoneno – Limoneno | 0.0014 |
| R | R – Cuadrada | 55.1195 |
| | R – Cuadrada Ajustada | 4.62903 |
| Residual | Falta de Ajuste | 0.0024 |
| | Observación | Significativa |

$\alpha=0.05$ (95% confiable)

Los resultados del análisis del porcentaje de elongación a la rotura se presentan en la **gráfica 4** un diagrama de Pareto estandarizado. En el caso del porcentaje de elongación a la rotura hay 7 efectos que influyen de manera significativa, de los cuales 4 influyen positivamente a que la envoltura recubierta tenga mayor elongación, que son el efecto del alginato con limoneno, la glicerina, el alginato y el limoneno, de mayor a menor; y 3 de manera negativa que son el efecto cuadrático del limoneno, glicerina con limoneno y el efecto cuadrático del alginato, de mayor a menor. Respecto al limoneno se observa que de forma individual tiene un efecto positivo significativo relativamente pequeño, al igual que su interacción con el alginato de sodio aunque en gran medida, sin embargo su interacción con la glicerina y su efecto cuadrático tiene un efecto negativo importante, esto significa que el limoneno puede jugar un papel relevante en la variación del porcentaje de elongación a la ruptura. Vale la pena resaltar que los 3

componentes estudiados tuvieron efecto significativo en el incremento de la elongación.



Gráfica 4. Diagrama de Pareto correspondiente a la variable de respuesta de porcentaje de elongación a la rotura. El valor de α en la estandarización es igual a 5%.

En la **figura 9** se presentan las gráficas de superficie de respuesta, en el inciso a) el efecto de los factores alginato de sodio y glicerina muestran un incremento en el porcentaje de elongación a medida que se aumenta el contenido de glicerina en la formulación y se mantiene el alginato de sodio entre el 8 y 10%. En el inciso b) el incremento del porcentaje de glicerina aumenta el porcentaje de elongación y en esa zona mantener la concentración de limoneno entre 4 y 8% favorece dicho resultado. El inciso c) permite apreciar que el incremento en la concentración de limoneno al mismo tiempo que se tienen altas concentraciones de alginato favorecen el incremento del porcentaje de elongación de la envoltura recubierta.

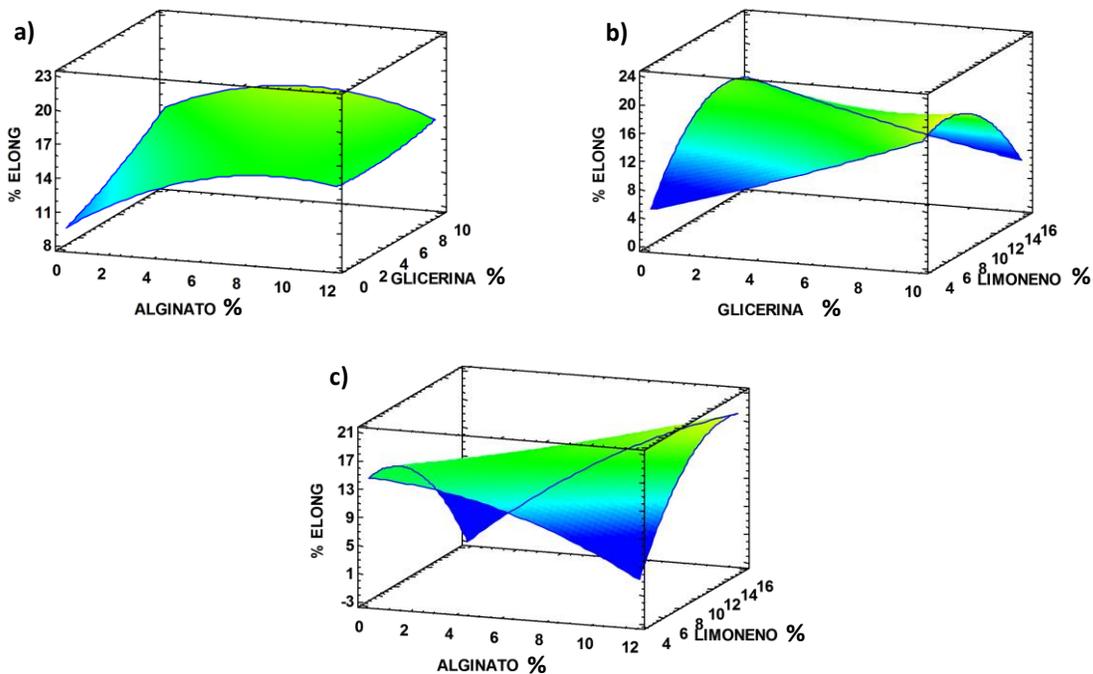


Figura 9. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre el porcentaje de elongación a la rotura en el material resultante. **(a)** Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% **(b)** Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y **(c)** Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%.

La **ecuación (13)** presenta la ecuación del modelo ajustado en función al porcentaje de elongación a la rotura (MY), donde x_1 es el porcentaje de alginato de sodio, x_2 es el porcentaje de glicerina y x_3 es el porcentaje de limoneno en la formulación de la emulsión.

$$PE = 0.31794 - 0.844175x_1 + 2.03753x_2 + 2.33166x_3 - 0.0681482x_1^2 - 0.039x_1x_2 + 0.22576x_1x_3 + 0.0178351x_2^2 - 0.17744x_2x_3 - 0.1439x_3^2$$

Ecuación (13). Ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos medidos con respecto al porcentaje de elongación a la rotura.

4.1.3.5. Fuerza de adhesión al despegado

Los resultados de las mediciones mostraron que el soporte de celulosa no presenta adhesividad, todos los soportes recubiertos con los diferentes tratamientos lograron un grado mayor o menor de fuerza adhesiva al despegado. Los resultados de las mediciones de dichas pruebas se presentan a continuación en la **tabla 12**. El resultado es el promedio de las 3 mediciones llevadas a cabo para cada tratamiento con la desviación estándar y el porcentaje de variabilidad.

Tabla 12. Resultados de las mediciones para fuerza de adhesión al pelado por tratamiento de las envolturas recubiertas. Los valores son expresados como promedio \pm desviación estándar.

| <i>Tratamiento</i> | <i>Variables independientes</i> | | | <i>Variable de respuesta</i> | |
|--------------------|---------------------------------|------------------|-----------------|------------------------------|--------------------------|
| | <i>ALGINATO</i> | <i>GLICERINA</i> | <i>LIMONENO</i> | <i>FUERZA DE ADHESIÓN</i> | |
| | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>%</i> | <i>N</i> | <i>% de Variabilidad</i> |
| 1 | 3.75 | 2.5 | 6.25 | 0.31 \pm 0.062 | 12.7 |
| 2 | 8.75 | 2.5 | 6.25 | 0.19 \pm 0.062 | 15.2 |
| 3 | 3.75 | 7.5 | 6.25 | 0.55 \pm 0.164 | 14.5 |
| 4 | 8.75 | 7.5 | 6.25 | 0.24 \pm 0.116 | 10.4 |
| 5 | 3.75 | 2.5 | 12.5 | 0.30 \pm 0.097 | 10.9 |
| 6 | 8.75 | 2.5 | 12.5 | 0.36 \pm 0.123 | 13.1 |
| 7 | 3.75 | 7.5 | 12.5 | 0.38 \pm 0.158 | 12.7 |
| 8 | 8.75 | 7.5 | 12.5 | 0.24 \pm 0.061 | 12.9 |
| 9 | 2.04552 | 5.0 | 9.375 | 0.39 \pm 0.115 | 18.1 |
| 10 | 10.4545 | 5.0 | 9.375 | 0.38 \pm 0.026 | 23.0 |
| 11 | 6.25 | 0.795518 | 9.375 | 0.38 \pm 0.058 | 15.2 |
| 12 | 6.25 | 9.20448 | 9.375 | 0.51 \pm 0.034 | 13.8 |
| 13 | 6.25 | 5.0 | 4.1194 | 0.45 \pm 0.135 | 18.5 |
| 14 | 6.25 | 5.0 | 14.6306 | 0.34 \pm 0.099 | 13.6 |
| 15 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 0.27 \pm 0.024 | 15.8 |
| 16 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 0.43 \pm 0.107 | 12.7 |
| 17 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 0.33 \pm 0.013 | 15.8 |
| 18 | 6.25 | 5.0 | 9.375 | 0.36 \pm 0.083 | 16.9 |

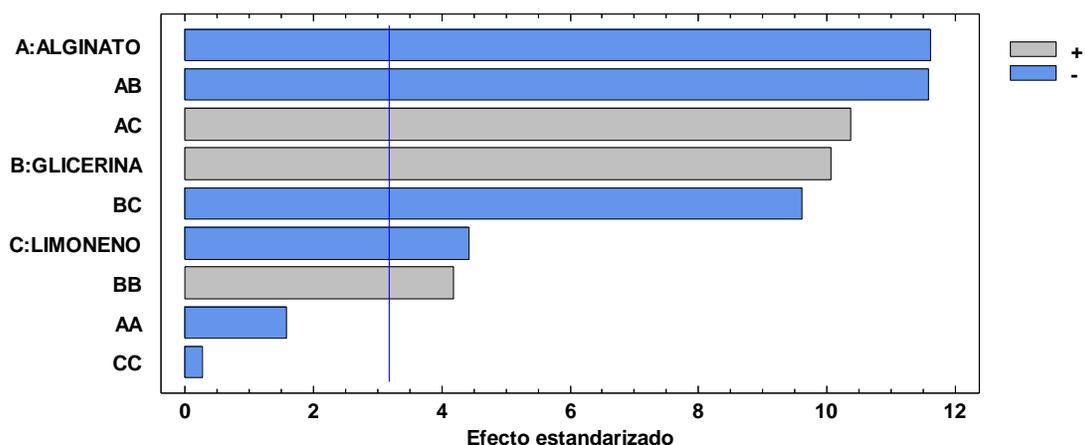
Tabla 13. Efectos estimados por medio del análisis de varianza para fuerza de adhesión como variable de respuesta.

| <i>Fuente de Variación</i> | <i>Factor(es)</i> | <i>FUERZA DE ADHESIÓN</i> |
|--|-----------------------|---------------------------|
| | | <i>Valor - P</i> |
| EFFECTOS PRINCIPALES | Alginato | 0.0014 |
| | Glicerina | 0.0021 |
| | Limoneno | 0.0214 |
| EFFECTOS PRINCIPALES DE INTERACCIÓN | Alginato – Glicerina | 0.0014 |
| | Alginato – Limoneno | 0.0019 |
| | Glicerina - Limoneno | 0.0024 |
| | Alginato – Alginato | 0.2116 |
| | Glicerina – Glicerina | 0.0249 |
| | Limoneno – Limoneno | 0.7937 |
| | | |
| R | R – Cuadrada | 67.9511 |
| | R – Cuadrada Ajustada | 31.896 |
| Residual | Falta de Ajuste | 0.0036 |
| | Observación | Significativa |

$\alpha=0.05$ (95% confiable)

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó para corroborar la significación de los términos de la ecuación polinómica de segundo orden para los datos experimentales; los resultados se muestran en la **tabla 13**. Los valores de P menores que 0.05 indican una significación estadística en los términos del modelo. Con respecto a los efectos, 7 efectos tuvieron un valor de $P > 0.05$, los cuales fueron los efectos unitarios, es decir el efecto del alginato, el de la glicerina y el del limoneno; también efectos cuadráticos, el efecto cuadrático del glicerina y el del limoneno, y las interacciones del alginato – glicerina, alginato – limoneno y la interacción glicerina - limoneno, lo que indica que son importantes en la preparación de las envolturas y la adhesividad de la envoltura. La bondad del ajuste se revisó mediante el coeficiente de determinación (R^2). En este caso, el coeficiente de determinación fue de 68%, lo que implica que el modelo presentó un buen comportamiento; el valor de ajuste del coeficiente de determinación fue de 32% lo que proporciona información sobre qué tan bien el modelo predice un

valor de respuesta, en este caso aceptable. La prueba de falta de ajuste determina si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados ó si se debería usar un modelo más complicado. La prueba se realiza comparando la variabilidad de los residuos del modelo actual con la variabilidad entre observaciones obtenidas en condiciones repetidas de los factores. Dado que el valor-P para la falta de ajuste en la tabla ANOVA es menor que 0.05, existe una falta de ajuste estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Esto significa que el modelo así ajustado no representa adecuadamente a los datos.



Gráfica 5. Diagrama de Pareto correspondiente a la variable de respuesta de fuerza de adhesión al pelado. El valor de α en la estandarización es igual a 5%.

En la **gráfica 5** se presenta el análisis de la fuerza de adhesión al pelado en un diagrama de Pareto estandarizado. Se observan 7 efectos significativos de los cuales, 4 afectan de manera negativa a la adhesividad de las envolturas recubiertas, estos son el efecto del alginato de sodio, la interacción alginato-glicerina y la interacción glicerina-limoneno, siendo los más altos, seguidos por el efecto individual del limoneno. Se vuelve a mostrar que el limoneno por sí mismo tiene un efecto en las propiedades

mecánicas ya sea bajo o negativo, o en algunos casos ambos, pero su interacción con el alginato de sodio muestra un efecto positivo alto en la adhesividad de la envoltura.

Los efectos positivos que se observaron fueron la interacción del alginato de sodio con el limoneno, el efecto de la glicerina, ambos en un alto grado, y se observó un efecto cuadrático de la glicerina positivo aunque en menor medida.

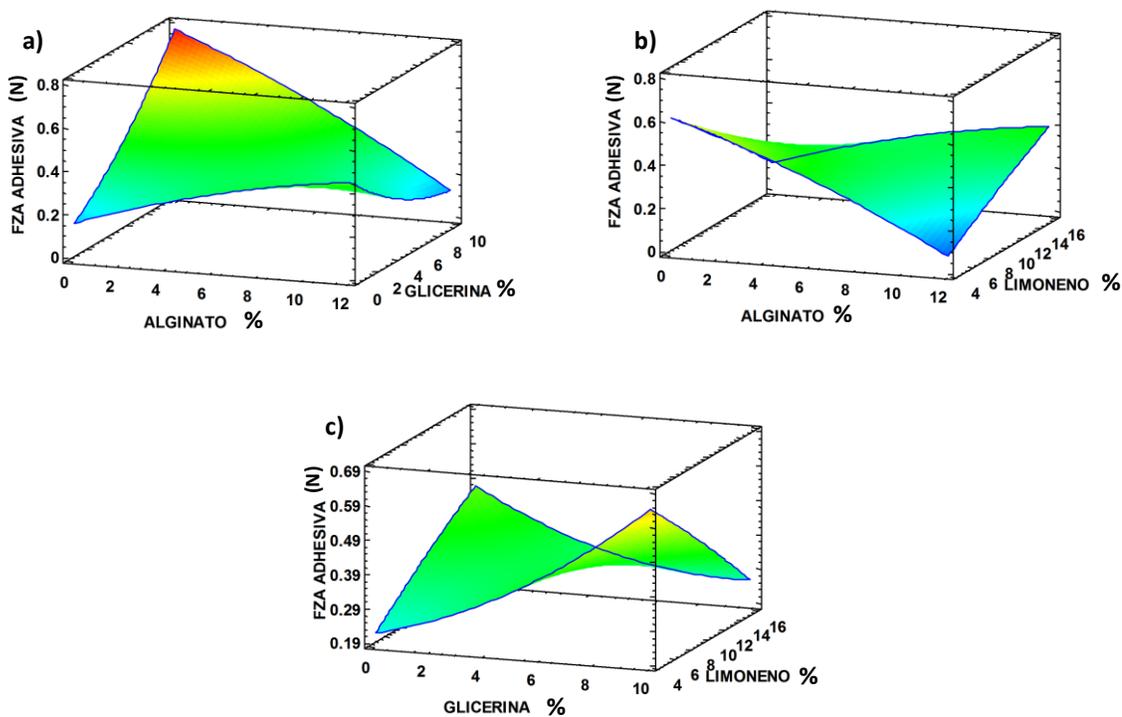


Figura 10. Superficies de respuesta para evaluar el efecto de la relación de porcentaje de alginato de sodio – glicerina – limoneno en la emulsión a partir de cera de abeja para recubrir celulosa y su efecto sobre la fuerza de adhesión al pelado en el material resultante. (a) Relación alginato de sodio-glicerina, concentración de limoneno constante a 9.37% (b) Relación alginato de sodio-limoneno, concentración de glicerina constante a 5% y (c) Relación glicerina-limoneno, concentración de alginato de sodio constante a 6.25%.

En la **figura 10** que representa la superficie de respuesta de la fuerza adhesiva, se interpretan estos efectos de manera cuantitativa, observando en dicha superficie el

cambio que ocurre en la adhesividad en la medida que se aumenta de 0% a 10% de glicerina pudiendo alcanzar una predicción de 0.8 N de fuerza adhesiva si se mantiene el porcentaje de alginato de sodio en menos del 6%.

La **ecuación (14)** presenta la ecuación del modelo ajustado en función a la fuerza de adhesión al pelado (FA), donde x_1 es el porcentaje de alginato de sodio, x_2 es el porcentaje de glicerina y x_3 es el porcentaje de limoneno en la formulación de la emulsión.

$$FA = 0.252961 - 0.0161386x_1 + 0.0882684x_2 - 0.00767694x_3 - 0.00102332x_1^2 - 0.0078x_1x_2 + 0.0056x_1x_3 + 0.00237075x_2^2 - 0.00528x_2x_3 - 0.000292914x_3^2$$

Ecuación (14). Ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos medidos con respecto a la fuerza de adhesión al pelado.

4.1.4. MEJORAMIENTO DE LA FORMULACIÓN DE LA EMULSIÓN

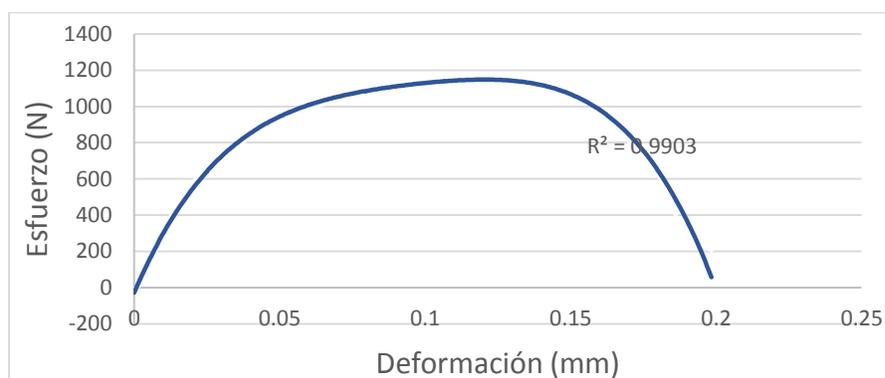
Considerando que una formulación con efectos favorables que pudiera mejorar la adhesividad de la envoltura recubierta pudiera ser posible a través del modelo matemático que predice la mayor fuerza de adhesividad del despegado que pudiera alcanzarse, se tuvo en cuenta que las propiedades mecánicas de la envoltura cumplen con características que favorecen su manipulación y empleo, por ello los resultados dentro de los que oscilan los tratamientos evaluados permiten tener una idea de las características mecánicas que el material pudiera presentar al mejorar la adhesividad de la envoltura. Por ello se considera que la predicción del modelo matemático para una formulación de 2.04% alginato de sodio, 9.20% de glicerina y 4.11% de limoneno, con la posibilidad de alcanzar una fuerza adhesiva al despegado de 0.904 N, es decir de casi el doble obtenida en la formulación del tratamiento 3. Esta formulación se elaboró y sirvió como recubrimiento de la envoltura

mejorada, a la que se caracterizó en sus propiedades mecánicas, de permeabilidad, adhesivas y el efecto de someterse a lavados en comparación con la envoltura comercial de BEESWRAP como referencia, a modo de tener una idea de la capacidad para emplearse como una envoltura de alimentos con la capacidad de ser reutilizada y conservar los alimentos que contenga sirviendo como barrera al vapor de agua.

Dicha envoltura mejorada presenta un aroma agradable por la cera de abeja y el aceite de limoneno, es suave al tacto y al mismo tiempo pudo ser deformada para permanecer estable sirviendo de envoltura.

4.1.4.1. Módulo elástico de la envoltura mejorada

El módulo elástico del papel sin recubrir tuvo un valor de 28,700 KPa, al recubrir dicho papel con las 15 formulaciones evaluadas, este tuvo una pérdida de elasticidad alcanzando en el mejor de los casos (Tratamiento 10) un valor de 65,600 KPa, 2.28 veces menos elástico; tras la optimización del material, éste tuvo un módulo elástico de 39,900 KPa, lo que se traduce en que el material se volvió 1.39 veces menos elástica que el papel sin recubrir.



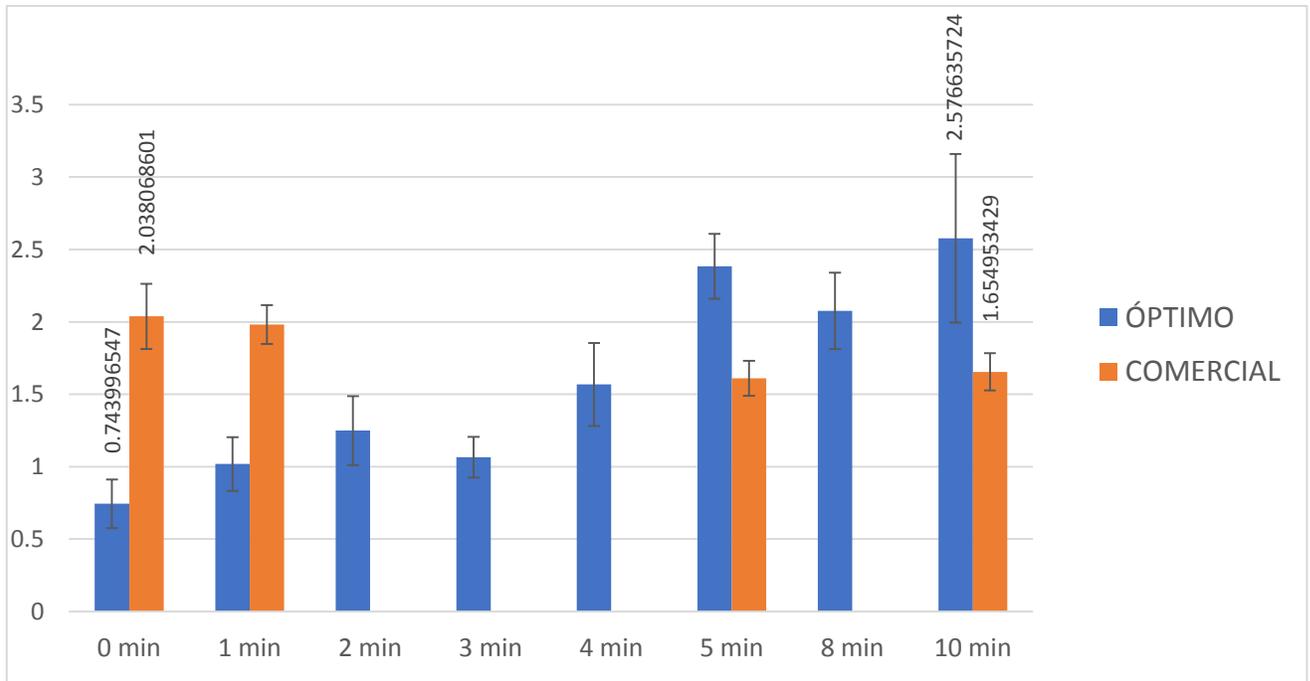
Gráfica 6. Tendencia del comportamiento de la envoltura mejorada bajo el ensayo de tracción.

4.1.4.2. Fuerza adhesiva de la envoltura mejorada

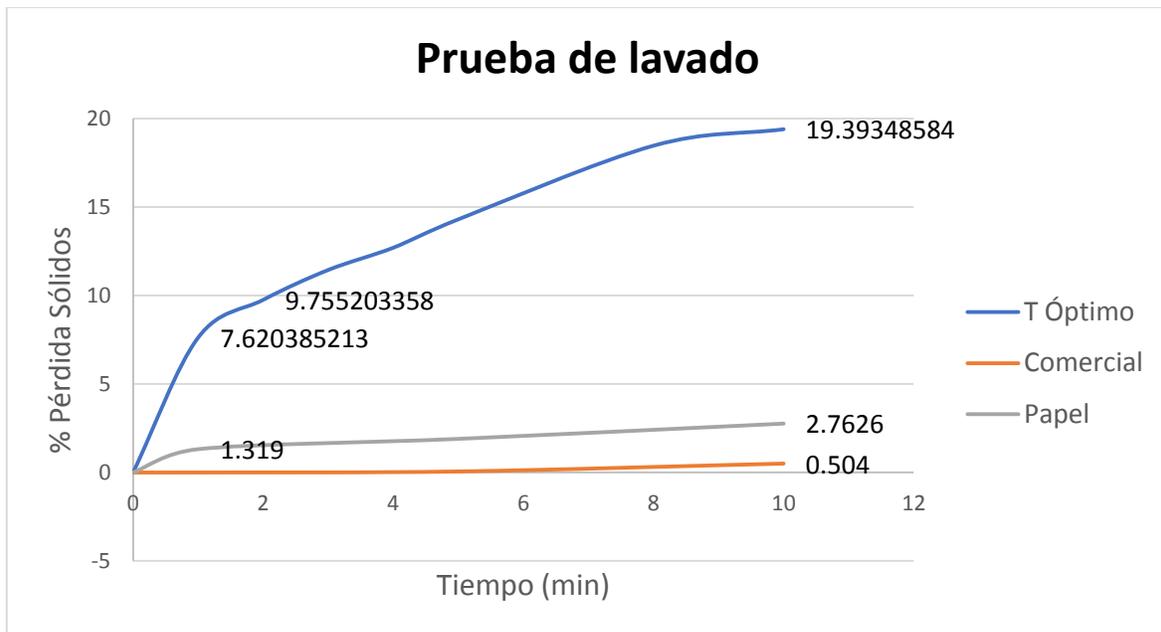
Se ensayaron pruebas de adhesividad en el la envoltura mejorada y la envoltura comercial. El valor predicho estadísticamente para el valor más alto de adhesividad fue de 0.9 N, en el ensayo realizado a la envoltura mejorada un valor de 0.74 con una desviación estándar de ± 0.16 , el material comercial nuevo presentó una fuerza adhesiva al pelado de 2.03 N bajo las condiciones de ensayo.

Se realizó el lavado de ambos materiales, entre 0 y 10 minutos con pruebas de adhesividad para medir el efecto sobre sus propiedades adhesivas. El resultado fue que conforme avanzó el tiempo de lavado, la envoltura mejorada fue adquiriendo mayor adhesividad, de modo que, a partir de los 5 minutos de lavado, la envoltura óptima ya presentaba una fuerza adhesiva de 2.38 N, lo que pudiera deberse a que la adhesividad de la envoltura aumenta en la medida que se van lavado los componentes hidrofílicos, en particular el alginato de sodio, componente cuyo efecto se mostró negativo en las pruebas previas. Otro resultado fue el de la pérdida de sólidos durante el tiempo de lavado, que en el caso de la envoltura óptima llegó a un valor de 19% a los 10 minutos de lavado, abonando a la idea de que la pérdida de ciertos componentes en la emulsión se relaciona con la la fuerza adhesiva del material.

En el caso de la envoltura comercial, pasados los 10 minutos de lavado el material tenía una fuerza adhesiva al pelado de 1.65 N., 1.2 veces menor que el valor inicial. Lo anterior se muestra en la **gráfica 7 y 8**.



Gráfica 7. Fuerza adhesiva al pelado en la envoltura mejorada y en la envoltura comercial conforme al tiempo de lavado

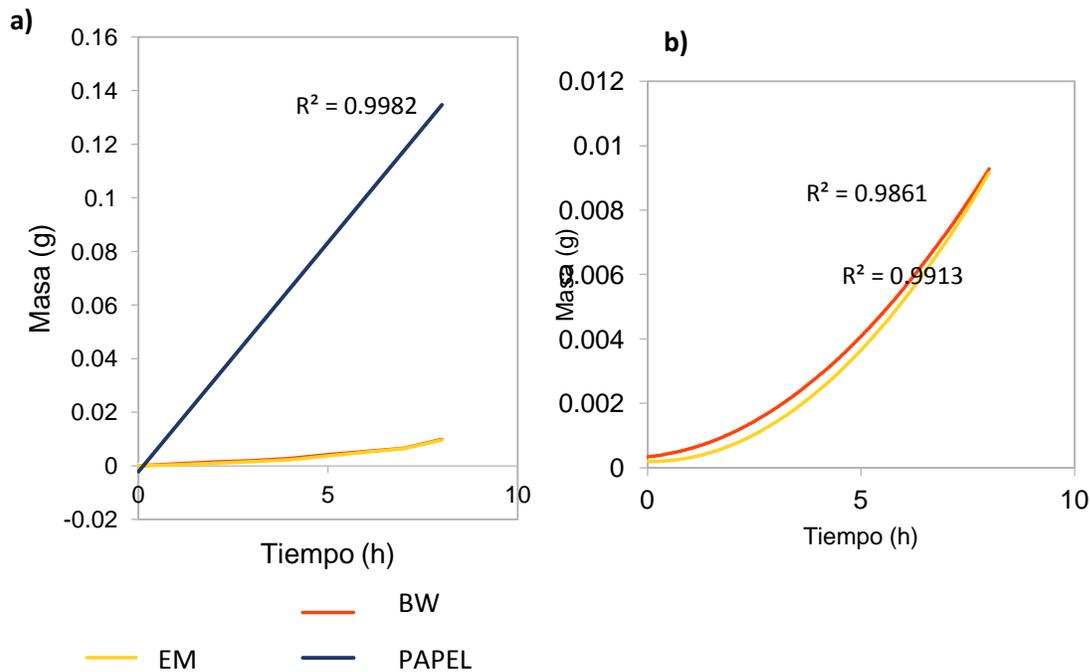


Gráfica 8. Pérdida de sólidos conforme al tiempo de lavado en la envoltura óptima (T óptimo), la envoltura comercial (Comercial) y el papel sin recubrir (Papel).

4.1.4.3. Permeabilidad al vapor de agua.

La permeabilidad al vapor de agua está relacionada con la capacidad de un material de servir como barrera para mantener la humedad del alimento y conservarlo permitiendo su madurez paulatina, dicha característica se midió en la envoltura mejorada y en la envoltura comercial BEESWRAP.

La permeabilidad del papel sin recubrir tiene un valor de $4.5 \times 10^{-6} \text{ g/m}^2 \text{ s Pa}$, mientras que la permeabilidad calculada en la envoltura mejorada y es la envoltura comercial es casi la misma con 1.54×10^{-10} y $1.40 \times 10^{-10} \text{ g/m}^2 \text{ s Pa}$ respectivamente, prácticamente cero. La velocidad a la que dichos materiales fueron permitiendo el paso de vapor de agua se muestra en la **gráfica 9**.



Gráfica 9. Pérdida de humedad de la envoltura comercial (BEESWRAP-BW), envoltura mejorada (EM) y del papel sin recubrir (PAPEL) con respecto al tiempo para cálculo de permeabilidad al vapor de agua, comparando las 3 permeabilidades en a) y comparando las permeabilidades de las envolturas recubiertas en b).

CAPÍTULO 5

5.1. CONCLUSIONES

- Se logró obtener un material recubierto flexible y con un alto grado de hidrofobicidad esperado, que requiere mayor carga a la ruptura que el papel sin recubrir utilizado como soporte, y con un porcentaje de elongación a la ruptura por debajo que el del papel sin recubrir.
- Para carga a la ruptura el alginato tuvo efectos positivos significativos, igual que su interacción con limoneno. Ningún efecto fue significativo sobre el esfuerzo a la ruptura. En el módulo de elasticidad, los efectos significativos fueron negativos ($p \leq 0.05$) en las interacciones glicerina-limoneno y alginato-limoneno volviendo la envoltura recubierta más elástica. 7 efectos fueron significativos sobre el porcentaje de elongación, de los cuales 4 fueron positivos.
- Todas las películas recubiertas mostraron igual o menor porcentaje de elongación que el papel sin recubrir, en todos los casos se soportó más carga a la ruptura aunque disminuyó el esfuerzo a la ruptura lo cual puede interpretarse como que el aumento en el espesor de la película recubierta la hizo más resistente que el papel sin recubrir.
- 3 de 4 interacciones que favorecieron las propiedades mecánicas de la envoltura recubierta fueron el alginato con el limoneno, lo cual indica que el porcentaje en el que se quieran usar en la formulación de una emulsión afectará significativamente dichas propiedades.
- La envoltura mejorada resultó ser más elástica que en las 15 formulaciones anteriores evaluadas, y mejoró la fuerza adhesiva.,

- La envoltura mejorada en comparación con la envoltura comercial tuvo una gran pérdida de sólidos al ser lavada, este aspecto pudiera ser analizado para entender y aminorar la pérdida de sólidos que presentó.
- La envoltura mejorada tuvo mayor adhesividad con respecto a las 15 formulaciones anteriores evaluadas; y el efecto del lavado sobre esta propiedad resultó en un aumento en su adhesividad, sería interesante analizar la relación entre la pérdida de sólidos y el aumento de adhesividad al someter la envoltura a un tiempo de lavado.
- La permeabilidad que aporta la emulsión en el papel de celulosa es casi idéntica a la que presenta la envoltura comercial. Dicha hidrofobicidad es prácticamente cero.

CAPÍTULO 6

6.1. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta D.L. (2011). Películas comestibles nanoestructuradas de almidón de camote (*Ipomea batata*). Tesis de Maestría. Universidad Veracruzana, México. 67 p.
2. Aguilar-Méndez M. A. (2005). Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. Instituto Politécnico Nacional: Centro de investigación en ciencia aplicada y tecnología avanzada. CMX, México.
3. ASTM Standard D3330/D3330M-04 (2018). Standard Test Method for Peel Adhesion of Pressure-Sensitive Tape. ASTM International. West Conshohocken, PA 19426-2959, Estados Unidos.
4. ASTM Standard D638-02A (2003). Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. ASTM International. West Conshohocken, PA 19426-2959, Estados Unidos.
5. ASTM Standard E96/E96M-16 (2016). Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. ASTM International. West Conshohocken, PA 19426-2959, Estados Unidos.
6. Avendaño-Romero G. C., López-Malo A. y Palou E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 7(1):87-96.
7. Cailing Z. (2016). CN20161138073 20160311. China: Espacenet Bibliographic data: CN105647217 (A) — 2016-06-08
8. Debeaufort F. y Voilley A. (2009). Lipid-based edible films and coatings. En: K. C. Huber, & M. E. Embuscado (Eds.), *Edible films and coatings for food applications* (pp. 135-168). New York: Springer

9. Embuscado M. E. y Huber K. C. (Eds). (2009). *Edible Films and Coatings for Food Applications*. New York: Springer, 403 pp.
10. Falk Filipsson A., Bard J. y Karlsson S. (1998). *Concise International Chemical Assessment Document 5*. World Health Organization Geneva. Págs. 5-19.
11. Ferreira A. R. V., Alves V. D. y Coelho I. M. (2016). Polysaccharide-based membranes in food packaging applications. *Membranes* 6(2):22. 17 p.
12. Galgano, F. (2015). Biodegradable packaging and edible coating for fresh-cut fruits and vegetables. *Ital. J. Food Sci.*, 27.
13. Glycerine Producers Association (1963). *Uses of Glycerine. Physical properties of glycerine and its solutions*. ID OL19332489M. New York.
14. Guilbert S., Gontard N. y Cuq B. (1995). Technology and Applications of Edible Protective Films. *Packaging Technology and Science* 8 (6) 339-346.
15. Gunaydin S., Karaca H., Palou L., de la Fuente B., and Pérez-Gago M. B. (2017). Effect of Hydroxypropyl Methylcellulose-Beeswax Composite Edible Coatings Formulated with or without Antifungal Agents on Physicochemical Properties of Plums during Cold Storage. *Journal of Food Quality*, vol. 2017, Artículo ID 8573549. [doi:10.1155/2017/8573549](https://doi.org/10.1155/2017/8573549)
16. Gurgel-Adeodato-Vieira M., Altenhofen da Silva M., Oliveira dos Santos L. y Masumi-Beppu M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal* 47 (2011) 254–263.
17. Han J. H., Seo G. H., Park I. M., Kim G. N. y Lee D. S. (2006). Physical and Mechanical Properties of Pea Starch Edible Films Containing Beeswax Emulsions. *Journal of food science*. 71(6): 290-296. [doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00088.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00088.x)

18. Hernández-Cruz E. E. (2007). Estudio comparativo de diseños experimentales de superficie de respuesta para la optimización de factores limitantes en procesos industriales (Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias con especialidad en Ingeniería Industrial). Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Monterrey, Nuevo León, México.
19. Imre B. y Pukánszky B. (2015). Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. *European Polymer Journal*, 49, 1215–1233 (2013). DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2013.01.019
20. Jambeck J. R., Geyer R., Wilcox C., Siegeler T. R., Perryman M., Andrady A., Narayan R., Law K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347: 768–71. DOI: 10.1126/science.1260352
21. Jiménez-Careaga M. G. (2015). Superficies de Respuesta mediante un Diseño Central Compuesto. *Revista Varianza*, Mayo 2015, no.11, p.31-36. ISSN 9876-6789
22. Kerton F. M. y Marriott R. (2013). *Alternative Solvents for Green Chemistry*. 2nd Edition, RSC Green Chemistry Book Series, RSC Publishing, Cambridge, UK. 31-50
23. Lide, D. R., ed. (1994). *CRC Handbook of Data on Organic Compounds* (3rd ed.). Boca Raton, FL: CRC Press. 4386.
24. Lin D. y Zhao Y. (2007). Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 6(3):60-75.
25. López-García F. y Jiménez-Martínez C. (2015). Películas biopoliméricas: Aplicaciones para envases y otros productos. En Ramírez-Ortiz, M.E. (Ed.). *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos*. Barcelona, España: OmniaScience. 9-36.

26. Loureiro-Dos-Santos L. A. (2017). Natural Polymeric Biomaterials: Processing and Properties. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering. doi:10.1016/b978-0-12-803581-8.02253-0
27. Miner C. S. y Dalton, N. N. (1953). Editors. Glycerol, American Chemical Society Monograph Series. Reinhold Publishing Company, New York. 1-5.
28. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=22311, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22311>. Creado el 2004, última modificación el 2019. Consultado el 7 de diciembre de 2018.
29. Navarro-Tarazaga M. L., Massa A., Pérez-Gago M. B. (2011). Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno). Food Science and Technology 44 (10) 2328-2334.
30. Navarro-Tarazaga M. L., Sothornvit R., Pérez-Gago M. B. (2008). Effect of Plasticizer Type and Amount on Hydroxypropyl Methylcellulose-Beeswax Edible Film Properties and Postharvest Quality of Coated Plums (Cv. Angeleno). J Agric Food Chem 56(20): 9502-9.
31. Oropeza-González R. A., Montes-Hernández A. I. y Padrón-Pereira C. A. (2016). Películas biodegradables a base de almidón: propiedades mecánicas, funcionales y biodegradación. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 7 (1): 065-093.
32. Ortiz-Fernández A., Carrillo-Sánchez F.A., May-Hernández L.H, Estrada-León R.J., Carrillo-Escalante H.J., Hernández-Sánchez F. y Valadez-González A. (2016). Design of experiments for optimization a biodegradable adhesive based on ramon starch

- (*Brosimum alicastrum* Sw.). *International Journal of Adhesion & Adhesives* 73 (2017) 28–37.
33. Romero-Bastida C. A., Zamudio-Flores P. B. y Bello-Pérez L. A. (2011). Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano: Efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructura, Propiedades mecánicas y de barrera. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10(3): 445-453.
34. Santiago-Santiago M. (2015). Elaboración y caracterización de películas biodegradables obtenidas con almidón nanoestructurado (Tesis para optar el grado de Maestra en Ciencias Alimentarias). Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias Básicas. Xalapa, Veracruz, México.
35. Spence K. L., Venditti A.A., Rojas O. J., Pawlak J. J. y Hubbe M. A. (2011). Water Vapor Barrier Properties of Coated and Filled Microfibrillated cellulose composite films. *BioResources* 6(4), 4370-4388
36. Tharanathan R.N. (2003). Biodegradable films and composite coating: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology* 14:71-78. Doi:10.1016/S0924-2244(02)00280-7
37. Trash Travels 2010 report. © Ocean Conservancy. All rights reserved. IS BN: 978-0-615-34820-9
38. Tulloch A.P. (1980). Beeswax-Composition and analysis. *Bee World*, 61:2, 47-62, DOI:10.1080/0005772X.1980.11097776
39. Ukai Y.N., Tsutsumi T., Marakami K. (1976). Preservation of agricultural products. U.S. patent 3,997,674.
40. Vit, P. (2005). Productos de la colmena secretados por las abejas: cera de abejas, jalea real y veneno de abejas. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Range*