

**EVALUACIÓN PARA LA SÍNTESIS DE UNA PELÍCULA POLIMÉRICA
DERIVADA DE CÁSCARAS DE NARANJA CON ACEITES ESENCIALES
ANTIMICROBIANOS PARA EL CONTROL DE *RHIZOPUS STOLONIFER*.**

**LAURA YULIANA REYES CERQUERA
NICOLÁS STEVEN VANEGAS PÉREZ**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ DC.
2020**

**EVALUACIÓN PARA LA SÍNTESIS DE UNA PELÍCULA POLIMÉRICA
DERIVADA DE CÁSCARAS DE NARANJA CON ACEITES ESENCIALES
ANTIMICROBIANOS PARA EL CONTROL DE *RHIZOPUS STOLONIFER*.**

**LAURA YULIANA REYES CERQUERA
NICOLÁS STEVEN VANEGAS PÉREZ**

**Proyecto Integral de Grado para optar al título de
INGENIERO QUÍMICO**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ DC.
2020**

Nota de aceptación

Presidenta del jurado

Jurado 1

Jurado 2

Bogotá, D.C., Agosto de 2020

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCIA-PEÑA

Consejero Institucional

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. MARÍA CLAUDIA APONTE GONZÁLES

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretario General

Dr. ALEXANDRA MEJÍA GUZMÁN

Decano General Facultad de Ingenierías

Ing. JULIO CÉSAR FUENTES ARISMENDI

Director Programa Ingeniería química

Ing. IVAN RAMIREZ MARIN

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quisiera agradecer a Dios por permitirme culminar una etapa tan bella y satisfactoria siempre en su compañía y bendición, a la comunidad docente por sus conocimientos y a mis compañeros y amigos, por todos esos cafés, pañuelos y “si puedes”. Así mismo este sueño no sería posible sin mi madre, Gloria Yasmin Cerquera, se que ha hecho todo en la vida para mostrarme el mejor horizonte, gracias por tus sacrificios y enseñanzas, soy la mujer que soy por ti. A mi abuela y mi tía, quienes nunca perdieron su fe y a mi Nana por sus bromas, preguntas y notitas de ánimo, ¡no hay mejor compañía que la tuya!

Señora Diana y Señora Marlene siempre en deuda por su amabilidad y ayuda, espero un día poder devolver todo lo que han hecho por mí. Gracias Logan por transmitirme serenidad y mantener mis pies calientes en las largas horas de redacción. Finalmente gracias a mi pareja, Cristian Arias, se que ha sido difícil, pero no lo hubiese logrado sin tu ayuda, tu cimiento, tu paciencia y tu amor, me enseñaste a mantener la cabeza en alto ante la adversidad y a confiar en mí misma.

Laura Yuliana Reyes Cerquera

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a Dios por su bendición, por ser mi guía otorgando sabiduría y fortaleza en los momentos más complicados. A toda la comunidad de la Universidad de América tanto profesores que aportaron en mi conocimiento y crecimiento profesional como amigos. Así mismo, terminar este trabajo no hubiera sido posible sin mi compañera Laura Reyes agradezco por su dedicación y conocimientos. A mi familia y amigos por estar siempre cuando los necesitaba, cediendo consejos y ánimos en los momentos difíciles. Y finalmente, a mis padres Martha Pérez y Rafael Vanegas nada de esto fuera realidad sin el apoyo de ellos, son la base fundamental de todos mis objetivos y metas, con su esfuerzo ser Ingeniero Químico pasó de ser una opción a un hecho. Quiero hacer una mención especial a mi madre por su sacrificio, su perseverancia de verme crecer como persona, por su amor y su apoyo incondicional.

Nicolás Steven Vanegas Pérez

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	19
1. GENERALIDADES	24
1.1 EMPAQUES EN LA INDUSTRIA HORTOFRUTÍCOLA	24
1.1.1 Empaques de pulpa de papel.	25
1.1.2 Bolsas sintéticas de polietileno.	27
1.1.3 Empaques plásticos rígidos.	28
1.2 PELÍCULAS EN LA INDUSTRIA FRUTÍCOLA	29
1.2.1 Vinipel Comercial.	31
1.2.2 Películas plásticas de almidón.	32
1.3 FORMULACIÓN DE PELÍCULAS BIOPOLIMÉRICAS	34
1.3.1 Métodos de síntesis	39
1.3.1.1 Método seco	40
1.3.1.2 Método húmedo	40
1.3.2 Polisacáridos.	40
1.3.2.1 Cáscara de naranja.	42
1.3.2.2 Celulosa.	43
1.3.2.3 Lignina.	45
1.3.3 Proteínas.	47
1.3.4 Lípidos.	48
1.3.5 Disolventes.	48
1.3.6 Plastificantes.	49
1.4 ADITIVOS EN LA FORMULACIÓN DE PELÍCULAS BIOPOLIMÉRICAS	50
1.4.1 Reticulantes.	50
1.4.2 Proteínas.	51
1.4.3 Lípidos.	51
1.4.4 Compuestos activos.	52
1.5 PELÍCULAS ACTIVAS	53

1.5.1	Incorporación de compuestos activos	56
1.6	ANTIMICROBIANOS NATURALES	58
1.6.1	Aceites esenciales.	59
1.6.1.1	Aceite esencial de <i>Thymus Vulgaris</i> .	60
1.6.1.2	Aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> .	63
1.6.2	<i>Rhizopus Stolonifer</i>	64
1.7	PROPIEDADES DE BARRERA	66
1.7.1	Solubilidad en agua	67
1.7.2	Permeabilidad al vapor de agua (PVA).	67
1.7.3	Permeabilidad a los gases.	68
1.8	PROPIEDADES MECÁNICAS	68
1.8.1	Espesor	70
1.8.2	Módulo de Young o elasticidad	70
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	71
2.1	PRETRATAMIENTO MATERIA PRIMA	72
2.1.1	Lavado, secado y trituración	73
2.1.2	Tamizaje	73
2.2	OBTENCIÓN DE LA SOLUCIÓN FILMÓGENA	73
2.3	SÍNTESIS DE LAS FORMULACIONES PRELIMINARES	75
2.4	HOMOGENEIZACIÓN DEL COMPUESTO ACTIVO EN LA SF	75
2.5	SÍNTESIS DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS	75
2.6	DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE BARRERA	77
2.6.1	Espesor	77
2.6.2	Solubilidad	78
2.6.3	Permeabilidad al vapor de agua (PVA)	79
2.7	DERMINACIÓN DE PROPIEDADES MECÁNICAS	81
2.7.1	Ensayo de tracción	81
2.7.2	Cálculo del módulo de Young o módulo de elasticidad (ME)	82
2.8	DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO	84
2.8.1	Preparación del inóculo de <i>Rhizopus Stolonifer</i>	84

2.8.2	Ensayo in vitro de la efectividad de la película activa contra el crecimiento de <i>Rhizopus Stolonifer</i> .	86
2.8.3	Ensayo in vivo de la efectividad de la película activa en el cuidado de fresas con alto grado de maduración.	87
3.	DESARROLLO EXPERIMENTAL	89
3.1	PRETRATAMIENTO	89
3.2	FORMULACIONES PRELIMINARES	90
3.2.1	Diseño experimental	91
3.2.2	Selección de la formulación base.	93
3.3	OBTENCIÓN DE LAS PELICULAS ACTIVAS	97
3.3.1	Caracterización visual de las películas	98
3.4	CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL	99
3.4.1	Determinación del Espesor	99
3.4.2	Determinación de la Solubilidad	101
3.4.3	Determinación de la Permeabilidad al vapor de agua (PVA)	104
3.4.4	Ensayo de tracción para las propiedades mecánicas	111
3.4.5	Cálculo del módulo de Young o elasticidad	118
4.	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS FORMULADAS	121
4.1	OBTENCIÓN DE LA CEPA <i>RHIZOPUS STOLONIFER</i>	121
4.2	EVALUACIÓN IN VITRO POR MÉTODO <i>KIRBY-BAUER</i>	125
4.2.1	Determinación del porcentaje de inhibición.	125
4.3	EVALUACIÓN IN VIVO DE LA EFECTIVIDAD DE LA PELÍCULA	133
4.4	EFFECTO DEL COMPUESTO ACTIVO EN LAS PROPIEDADES DE BARRERA	139
4.5	EFFECTO DEL COMPUESTO ACTIVO EN LAS PROPIEDADES MECÁNICAS	140
5.	CONCLUSIONES	141
6.	RECOMENDACIONES	143

BIBLIOGRAFÍA

144

ANEXOS

158

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Principales factores de importancia para el comercio de productos agrícolas.	30
Tabla 2. Resumen de crecimiento productivo de los eslabones en la cadena del plástico.	35
Tabla 3. Composición fisicoquímica aproximada de la cáscara de naranja	43
Tabla 4. Trabajos de investigación que emplean lignina como relleno en películas de biopolímeros y polímeros sintéticos.	46
Tabla 5. Estudios realizados en la evaluación de películas activas a base de diferentes matrices y componentes activos.	55
Tabla 6. Porcentaje de los principales componentes encontrados en diferentes quimiotipos de <i>Thymus Vulgaris</i> .	61
Tabla 7. Caracterización química de las cáscaras de naranja valencia.	72
Tabla 8. Compuestos formadores y aditivos para la formulación base.	73
Tabla 9. Relación de velocidad de testeo y tasa de deformación inicial.	82
Tabla 10. Escala diagramática para índice de severidad y porcentaje de infección	88
Tabla 11. Distribución granulométrica de la harina de cáscara de naranja.	89
Tabla 12. Diseño experimental preliminar.	91
Tabla 13. Matriz del diseño bifactorial 2 ²	92
Tabla 14. Porcentaje de transparencia para caracterización de niveles de translucidez.	92
Tabla 15. Datos generados para el diseño factorial.	93
Tabla 16. Composición para la formulación base representada en porcentaje.	97
Tabla 17. Datos medición aleatorizada de espesura.	99
Tabla 18. Datos para la determinación de la solubilidad en agua de las formulaciones.	102
Tabla 19. Datos para ganancia de humedad de la celda de control a las 0.5,1,2,5,6,22 y 30 horas de experimentación.	106
Tabla 20. Datos para el cálculo de la permeabilidad al vapor de agua de los tratamientos y sus réplicas.	108
Tabla 21. Valores de permeabilidad al vapor de agua de los tratamientos y sus réplicas.	109
Tabla 22. Datos arrojados por el software en el ensayo de tracción.	115
Tabla 23. Datos tratados para la resistencia a la tensión, porcentaje de máxima deformación y desplazamiento de las películas formuladas.	116
Tabla 24. Valores del módulo de Young para cada uno de los tratamientos y sus réplicas.	119
Tabla 25. Porcentaje de inhibición presentado por las películas activas formuladas.	129
Tabla 26. Resultados de prueba in vivo en fruta patrón	138

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Imagen de referencia para empaque en pulpa de papel destinado para exportación de fresa.	25
Figura 2. Proceso de polimerización para el etileno.	27
Figura 3. Imagen de referencia para recipiente rígido de plástico para empaque de bayas.	29
Figura 4. Estructura básica del polietileno de baja densidad.	31
Figura 5. Prototipo de una película comestible a partir de almidón de mandioca con contenido de sorbato de potasio	33
Figura 6. Infograma representativo del consumo y destino de residuos plásticos 1950-2015.	36
Figura 7. Estructura general de la celulosa.	44
Figura 8. Estructura general de una molécula de lignina.	45
Figura 9. Diferencia entre micrócapsulas y microsferas	57
Figura 10. Efecto de los aceites esenciales en la célula bacteriana.	62
Figura 11. Clasificación taxonómica de <i>Rhizopus Stolonifer</i>	65
Figura 12. Micelio, esporangióforos y esporangios de <i>Rhizopus Stolonifer</i> .	65
Figura 13. Celda para la determinación de permeabilidad de vapor de agua.	80
Figura 14. Imagen representativa para máquina universal de ensayos marca shimadzu	81
Figura 15. Esquema para los halos de inhibición formados.	86
Figura 16. Escala diagramática de transparencia para películas plásticas.	92
Figura 17. Niveles cualitativos de facilidad de recolección.	93
Figura 18. Apariencia visual de las películas activas formuladas.	98
Figura 19. Celdas de control para la determinación de la solubilidad en agua.	102
Figura 20. Montaje para permeabilidad al vapor de agua por el método desecante.	105
Figura 21. Montaje de las probetas en la máquina universal de ensayos.	111
Figura 22. Muestra de fresa infectada con RS en etapa de esporulación.	121
Figura 23. Aspecto del primer aislado de <i>Rhizopus Stolonifer</i> en PDA.	122
Figura 24. Formación de una colonia a partir de una espora.	122
Figura 25. Montaje para la desinfección de los tratamientos por luz ultravioleta.	125
Figura 26. Desarrollo de la espora en el ambiente interno de la celda de control.	130
Figura 27. Generación de esporangios maduros en las placas de control con las películas activas formuladas.	131
Figura 28. Glicosilación De Timol, Carvacrol Y Eugenol por las células cultivadas de <i>E. Perriniana</i> .	133
Figura 29. Desinfección del fruto patrón por luz ultravioleta.	134
Figura 30. Envase de la fruta patrón.	134

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág
Gráfica 1. Porcentajes de utilización de materias primas para la producción de bioplásticos.	33
Gráfica 2. Distribución del consumo porcentual de bioplásticos por sectores para américa, europa y asia.	37
Gráfica 3. Porcentaje de retención de las partículas de harina de cáscara de naranja en cada tamiz.	90
Gráfica 4. Efecto del emulsificante y el solvente en las películas formuladas.	95
Gráfica 5. Efecto del tipo de solvente y emulsificante en la facilidad de recolección.	96
Gráfica 6. Distribución normal de los datos recopilados para la espesura de las películas.	100
Gráfica 7. Espesores promediales de las formulaciones blanco - tomillo y sus replicas.	101
Gráfica 8. Espesores promediales de las formulaciones clavo - mezcla y sus réplicas.	101
Gráfica 9. Solubilidad en agua para los tratamientos.	103
Gráfica 10. Distribución normal para la ganancia de humedad de la celda de control de todos los tratamientos.	107
Gráfica 11. Ganancia de humedad en gramos de la celda de control vs tiempo expuesto, para todos los tratamientos y su réplica.	107
Gráfica 12. Permeabilidad al vapor de agua para los tratamientos.	109
Gráfica 13. Ensayo de tensión ASTM 882 para la formulación blanco (B01-B02) sin compuesto activo.	112
Gráfica 14. Ensayo de tensión ASTM 882 para la formulación T01-T02; tratamiento de 500 ppm de aceite esencial de tomillo.	112
Gráfica 15. Ensayo de tensión ASTM 882 para las formulaciones C01-C02; tratamiento de 500 ppm de aceite esencial de clavo.	113
Gráfica 16. Ensayo de tensión ASTM 882 para las formulaciones M01-M02; tratamiento de 250 ppm aceite esencial de clavo y 250 ppm de aceite esencial tomillo.	113
Gráfica 17. Ensayo de fuerza-desplazamiento para la formulación blanco B01-B02 sin compuesto activo.	114
Gráfica 18. Ensayo de fuerza-desplazamiento para la formulación T01-T02; tratamiento de 500 ppm de aceite esencial de tomillo.	114
Gráfica 19. Ensayo de fuerza-desplazamiento para la formulación C01-C02; tratamiento de 500 ppm de aceite esencial de clavo.	114
Gráfica 20. Ensayo de fuerza-desplazamiento para la formulación M01-M02; tratamiento de 250 ppm aceite esencial de clavo y 250 ppm de aceite esencial tomillo.	115

Gráfica 21. Resistencia tensil de los tratamientos	116
Gráfica 22. Porcentaje de deformación unitaria por tratamiento	117
Gráfica 23. Módulo de elasticidad para los tratamientos.	120
Gráfica 25. Condiciones ambientales para la siembra y desarrollo de las placas pda inoculadas y con película activa.	126
Gráfica 26. Condiciones ambientales para el ensayo in vivo de las películas formuladas contra RS.	
Gráfica 27. Porcentaje de infección en fruto patrón vs horas evaluadas.	138

LISTA DE DIAGRAMAS

	Pág
Diagrama 1. Clasificación de la industria de pulpa de papel.	26
Diagrama 2. Representación esquemática de la clasificación de los biopolímeros según su origen y su método de producción.	38
Diagrama 3. Tecnologías que se utilizan comúnmente para preparar películas	39
Diagrama 4. Principales materiales utilizados en películas comestibles para productos frescos	41
Diagrama 5. Obtención de la solución filmógena por método húmedo.	74
Diagrama 6. Metodología para la síntesis de películas activas derivadas de cáscara de naranja con aceites esenciales como compuesto activo.	76
Diagrama 7. Metodología para la determinación del espesor.	77
Diagrama 8. Metodología para determinar la solubilidad en agua.	78
Diagrama 9. Metodología para determinar la permeabilidad al vapor de agua de películas plásticas.	79
Diagrama 10. Obtención de la cepa de <i>Rhizopus Stolonifer</i>	85

LISTA DE ECUACIONES

	Pág
Ecuación 1. Determinación del porcentaje de solubilidad.	79
Ecuación 2. Determinación de la velocidad de transmisión de agua.	80
Ecuación 3. Determinación de la permeabilidad de vapor de agua	81
Ecuación 4. Determinación de la velocidad de testeo.	82
Ecuación 5. Esfuerzo real.	83
Ecuación 6. Deformación axial o unitaria.	83
Ecuación 7. Constante de módulo de Young	83

LISTA DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1. Materiales, reactivos, equipos e instrumental	71
Cuadro 2. Descripción cualitativa para las formulaciones preliminares	94
Cuadro 3. Etapas de crecimiento de <i>Rhizopus Stolonifer</i> a través del tiempo	124
Cuadro 4. Crecimiento micelial de RS en presencia de las películas activas formuladas	127
Cuadro 5. Efectividad in vivo de la película activa, el vinipel convencional y la bolsa común.	136

ABREVIATURAS

AA: Ácido acético
ADN: Ácido desoxirribonucleico
ASTM: American society for testing and materials
ATP: Trifosfato de adenosina
CA: Compuesto activo
CDs: Ciclodextrinas
CORPOICA: Corporación colombiana de investigación agropecuaria
DNP: Departamento nacional de planeación
ENA: Encuesta nacional agropecuaria
FDA: Food and drug administration
GRAS: Generalmente conocido como seguro
HDPE: Poliestireno
HPMC: Hidroximetilpropilcelulosa
HR: Humedad relativa
LAE: Arginato Láurico
LDPE: Polietileno lineal de baja densidad
LLDPE: Polietileno de alta densidad
NMX: Norma mexicana
PAL: Enzima fenilalanina amonio liasa
PDA: Agar de papa y dextrosa
PEO: Óxido de polietileno
PHA: Polihidroxicanoatos
PHB: Ácido polihidroxibutírico
PIB: Producto Interno Bruto
PLA: Ácido poliláctico
PVA: Permeabilidad al vapor de agua
PVC: Cloruro de polivinilo
RAI: Residuo agroindustrial
RS: *Rhizopus Stolonifer*
SF: Solución filmógena
UV: Ultravioleta
VTVA: Velocidad de transmisión de vapor de agua

RESUMEN

En la presente investigación se evalúa la síntesis de una película activa a partir de residuos lignocelulósicos provenientes de las cáscaras de naranja valencia con encapsulación de compuestos funcionales antimicrobianos del tipo aceites esenciales de *Thymus vulgaris* y *Syzygium aromaticum* para el control en el crecimiento y desarrollo de la cepa *Rhizopus Stolonifer* causante de la pudrición blanda de las frutas y verduras. Como método de síntesis se utiliza un proceso húmedo denominado "casting" para la generación de películas delgadas con apropiadas características mecánicas y de barrera, se realizaron algunas experimentaciones preliminares para determinar los compuestos formadores de la solución filmógena y su porcentaje de inclusión, culminando con una formulación básica de 10 % de residuo agroindustrial (RAI), 8% de emulsificante, 5 % de plastificante, 2% de reticulante y 75 % de solvente.

El material formulado a partir de la composición base posee dentro de su estructura matriz una encapsulación de 500 ppm de aceite esencial de tomillo (T01) 500 ppm de aceite esencial de clavo (C01), 500 ppm en equivalencia equimásica de aceite esencial de tomillo y clavo (M01) y una formulación blanco (B01); todas ellas sintetizadas por replicado y caracterizadas según las normas vigentes para películas plásticas.

La permeabilidad al vapor de agua de las películas con encapsulación de aceite esencial presenta valores en $\left(\frac{g*mm}{kPa * h * m^2}\right)$ de 0,1614±0,0011 para el Blanco, 0,1987±0,007 para Tomillo, 0,3067±0,0043 para Clavo y 0,2155±0,0081 para la Mezcla, y su comportamiento soluble en agua se ubica en rangos de 60,37 a 80,12 %. Por otro lado la resistencia tensil mínima de las formulaciones presenta valores de 2,614± 0,734 MPa en el blanco hasta 3,647± 0,450 MPa máximo en la formulación con adición de aceite esencial de tomillo, comportamiento similar reportado por el módulo de Young. Las funciones activas que presenta el material formulado establece que el aceite esencial de tomillo en concentración mínima de 500 ppm presenta mayor efectividad en el control de la cepa con porcentajes de inhibición de 15,69 ± 0,029 % y otros menores para las formulaciones de clavo y mezcla.

Palabras clave

Películas activas, Biopolímeros, aceites esenciales, antimicrobianos, *Rhizopus Stolonifer*.

INTRODUCCIÓN

Disminuir la pérdida y el desperdicio de alimentos se convirtió en un propósito mundial a partir de la aprobación de los objetivos de Desarrollo Sostenible suscritos por 193 países en la Asamblea General de Naciones Unidas el pasado 25 de septiembre del 2015¹; los estudios reportados por el Departamento Nacional de Planeación (DNP) mostraron que Colombia desperdicia el 40,5% de la producción agrícola², problema que se genera en su mayoría por el deficiente modelo de empaque, transporte y conservación de los alimentos y el cual afecta el cumplimiento del compromiso adquirido para la reducción de pérdida de productos frescos.

De la oferta nacional cerca del 45 % de las frutas, verduras, raíces y tubérculos no llegan a ser consumidos o aprovechados por cuestiones de maduración temprana y crecimiento de microorganismos dentro de los empaques, cuyo almacenamiento se realiza principalmente mediante películas termoplásticas que disminuyen la interacción del alimento con el medio ambiente, pero sólo restringen de manera parcial la interacción interna, permitiendo que actividades naturales como la transpiración cree medios aptos para el crecimiento de mohos y bacterias que afectan la calidad y salubridad del producto.

Debido a la necesidad que surge de incrementar la protección de distintos factores como el oxígeno, la luz UV, la humedad, el crecimiento bacteriano y cumplir con la normatividad propuesta según la Resolución N° 392-2015 del Ministerio de Agroindustria y las propuestas de ley número 0480 (2016), 0953 (2016) y 5413 (2013) que obligan a las empresas a reducir a cero las pérdidas de alimentos; nace la idea de desarrollar empaques activos, involucrando biopolímeros con sustancias de propiedades antioxidantes, perseverantes, inhibidoras y/o funcionales que incrementen la vida útil del producto para la conservación de características organolépticas por tiempos más largos y disminuyan las tasas de pérdida de productos frescos, la cual reporta un crecimiento anual del 16% generando casi 1'426.932 toneladas de desperdicio en frutas y verduras³.

En este sentido, diversas investigaciones científicas como la desarrollada en la Universidad de Montería en Córdoba para revestimientos comestibles activos y biodegradables o los estudios promovidos por el Instituto Tecnológico y la

¹NACIONES UNIDAS. La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible Una oportunidad para América Latina y el Caribe. 2018. (Rev.3), Santiago de Chile.

²FAO. Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe. 2014. Santiago de Chile: Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Disponible en <http://www.fao.org>

³MAUSSA, A. Colombia pierde cerca del 40% de los alimentos que produce. 2018. El espectador. Bogotá DC, 5, diciembre, 2018. Disponible en [www. Elespectador.com](http://www.Elespectador.com)

Facultad de Ciencias Biológicas de Nuevo León⁴, apuntan hacia el desarrollo de nuevos empaques poliméricos que permitan mitigar o ralentizar procesos como la oxidación, la pérdida de nutrientes o el crecimiento de microorganismos mediante compuestos específicos. Una alternativa novedosa y prometedora es la síntesis de películas poliméricas a partir de residuos orgánicos, dicha opción podría representar un cambio que permita sustituir el plástico convencional, utilizar matrices poliméricas capaces de transportar compuestos activos y solventar el uso de materias primas renovables, abundantes y económicas con el fin de facilitar la producción de estos materiales.

Colombia se caracteriza por ser una potencia agroindustrial cuya producción total representa aproximadamente el 10,2 % del PIB del país⁵, así mismo factores determinantes como la disponibilidad de tierra, el suministro de agua y la diversidad topográfica y climática fortalecen cada día el crecimiento de las industrias que se ven beneficiadas por la variedad de productos las cuales generan diferentes residuos agrícolas que pueden ser utilizados como materias primas aprovechables; la producción de la industria de cítricos genera cerca del 20% de sus cosechas sólo en residuos ricos en lignina y celulosa, el producto cítrico que más se cultiva a nivel nacional es la naranja con 193.000 Ton/año⁶, de manera que tienen un gran valor como matriz polimérica en la generación de películas biodegradables con capacidad de almacenar partículas activas⁷.

En la presente investigación se expondrá un estudio experimental con el fin de evaluar la síntesis de una película a partir de residuos cítricos por el método *casting*, que encapsula a partir de la homogenización a altas velocidades compuestos activos del tipo aceites esencial para el control en el crecimiento de *Rhizopus Stolonifer* in vitro e in vivo; esto con el fin de generar un material limpio, funcional y con características competitivas en el mercado.

⁴LOPEZ-DIAZ, A. LOPEZ MALO, E. PALOU. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos: Películas comestibles a base de frutas y verduras; 2015. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Pp 41-52. México

⁵VILLANUEVA, Mejía. Sector agroindustrial colombiano, 2018. volumen I. N°1, diciembre, 2018

⁶ASOHOFrucol. Frutas y Hortalizas. Fondo Nacional de fomento de la Hortofrutícola

⁷AGUILAR, Katiushka. Películas biodegradables a partir de residuos de cítricos: propuesta de empaques activos. 2010. Instituto de biotecnología, facultad de ciencias biológicas. Universidad autónoma nuevo león. Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal 1(2):124-134

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la síntesis de una película polimérica derivada de cáscaras de naranja con presencia de aceites esenciales antimicrobianos para el control del crecimiento de *Rhizopus Stolonifer*

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar el método de síntesis más apropiado para la obtención de películas a partir de la extracción y modificación de polímeros naturales de la biomasa con presencia de compuestos activos.
- Obtener a nivel laboratorio una solución homogénea de biomasa lignocelulósica a partir de cáscaras de naranja para la síntesis de una película.
- Sintetizar a nivel laboratorio una película polimérica a partir de biomasa lignocelulósica de cáscaras de naranja incorporando aceites esenciales antimicrobianos como componente activo.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de las películas poliméricas obtenidas contra el crecimiento *Rhizopus Stolonifer*.

1. GENERALIDADES

La industria de empaques alimenticios es una de las más amplias y expuesta a cambios a través del tiempo, las tendencias de consumo reflejan la preocupación de los clientes por alimentos de alta calidad, necesidad de nuevas tecnologías de envasado, responsabilidad ambiental en la disposición de materiales y oportunidad de desarrollo para nuevos mercados mediante el uso de residuos orgánicos.

Tradicionalmente el empaque de alimentos se basa en el acondicionamiento y protección externa para garantizar frescura y seguridad, no obstante sus métodos de envase más comunes se respaldan en la industria plástica que presenta una alta participación en la contaminación ambiental dada la baja tasa de biodegradabilidad que reportan sus derivados; en países como Irlanda, Australia, Estados Unidos, China y España se categorizan como materiales inseguros y difíciles de manejar en cuestiones de reutilización y/o disposición⁸.

Así mismo Colombia, bajo la ley nº 1973 del 2019 y el proyecto de ley presentado frente al senado durante el mismo año busca “establecer medidas tendientes a la reducción de la producción y el consumo de los plásticos de un solo uso en el territorio nacional, regulando un régimen de transición para reemplazar progresivamente por alternativas reutilizables, biodegradables u otras cuya degradación no genere contaminación”⁹. En este sentido se crean mecanismos alternativos para el desarrollo de materiales limpios a partir de fuentes renovables propiciando la reducción del consumo de plásticos derivados del petróleo o sus resinas e involucrando fuentes orgánicas que representan materiales alternativos con propiedades funcionales.

1.1 EMPAQUES EN LA INDUSTRIA HORTOFRUTÍCOLA

El almacenamiento tradicional de los alimentos hortofrutícolas se realiza generalmente con productos plásticos como películas, recipientes y bolsas; este tipo de empaques disminuye la interacción del alimento con el medio ambiente mediante propiedades de permeabilidad al vapor y los gases; sin embargo, estos mismos restringen de manera parcial la interacción interna, permitiendo que actividades naturales como la transpiración creen medios aptos para el crecimiento de mohos y bacterias, representados en podredumbre, lixiviados y difícil manejo.

⁸CANSECO, E. ¿Qué países prohíben el uso de bolsas de plástico? 2016. Centro de capacitación Eléctrica y Energías Alternativas (CCEEA). disponible en: <https://cceeaa.mx/>

⁹Redacción vivir. Colombia se compromete a luchar contra el plástico de un solo uso junto a 170 países. 2019. El Espectador. Disponible en: <https://www.elespectador.com>

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA) en apoyo a muchas de las empresas dedicadas al comercio de frutas y verduras frescas recomienda el uso en sus cadenas productivas de recipientes de bajo costo y fácil adquisición¹⁰, entre los más implementados para el empaque y distribución de productos mínimamente procesados se encuentran:

1.1.1 Empaques de pulpa de papel. Esta alternativa de empaque está dirigida en su mayoría a productos frescos y alimentos cocidos; son recipientes producidos a partir de la pulpa reciclada de papel y almidón, cuentan con características de biodegradabilidad y un costo de producción relativamente bajo, son considerados empaques ecológicos dada la posibilidad de involucrar porcentajes de reciclaje para la producción de la pulpa¹¹. Dichos empaques se asimilan a cajas pequeñas como se muestra en la figura 1.

Figura 1. Imagen de referencia para empaque en pulpa de papel destinado para exportación de fresa.



Fuente. Redacción Smurfit Kappa. 2010. Cómo incrementar sus ventas con los empaques. Disponible en www.smurfitkappa.com

La producción de empaques a partir de la pulpa de papel se desarrolla en su mayoría con residuos de madera y caña de azúcar; la madera fragmentada o el bagazo son mezclados con suplementos químicos (soda cáustica y/o sulfato de sodio) y cocinada bajo presión, para obtener la pulpa sin blanquear, posteriormente se realiza una refinación de las fibras obtenidas para la recepción en los molinos y el proceso de prensado que definirá la composición de las fibras, los requisitos de resistencia que deba cumplir y otros requerimientos del empaque.

Una de las ventajas más representativas de los empaques desarrollados bajo pulpa de papel son sus bajos costos de producción, adquisición y la fácil disposición del mismo después del uso, teniendo en cuenta que también pueden absorber la humedad de superficie del fruto, lo que es un beneficio para bayas y frutas pequeñas que son alteradas fácilmente por el agua; sin embargo, gran parte de las aplicaciones para la producción de envases requieren de la operación de

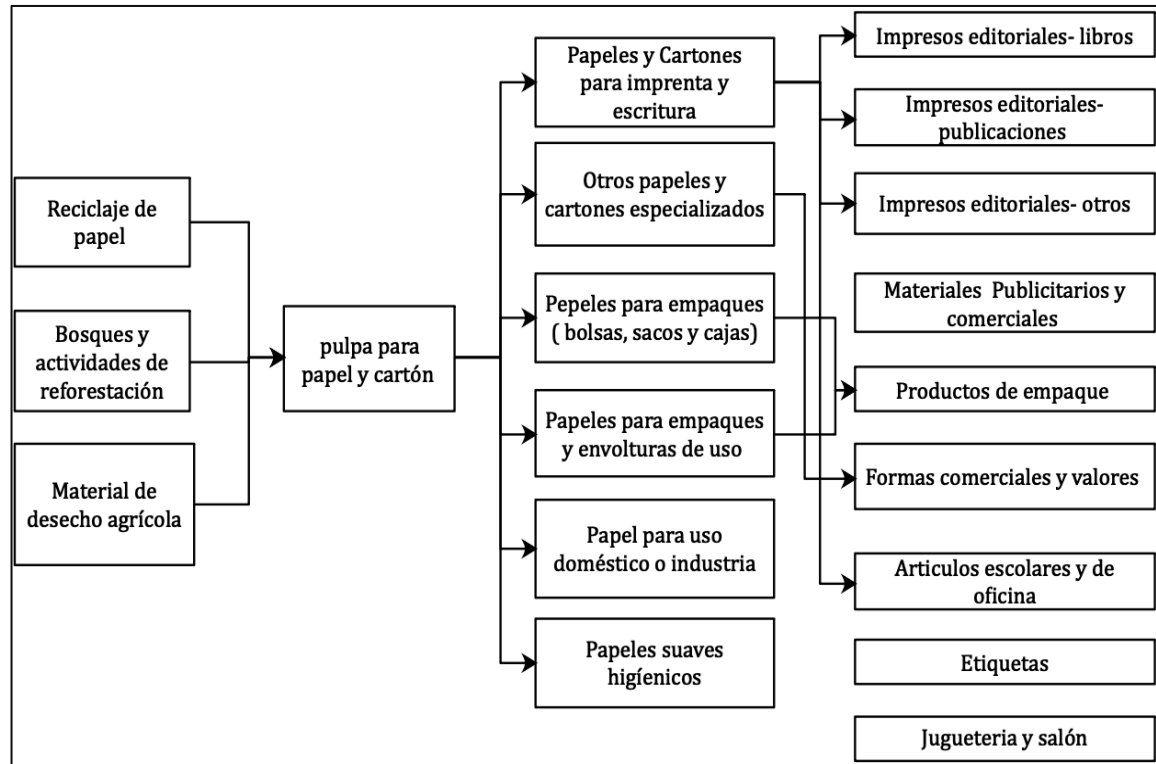
¹⁰Proyecto, Merlin. Protocolo Técnico y Logístico de frutas y verduras. 2010. Natura Visión. CORPOICA

¹¹LOAYZA, G. Tipos de envase y empaque para frutas. 2017. Disponible en <https://prezi.com/f02x6tg0xneb/tipos-de-envase-y-empaque-para-frutas-y-hortalizas/>

blanqueado, que emplea usualmente peróxido de hidrógeno y/o dióxido de cloro, compuestos tóxicos causantes de la contaminación de efluentes¹².

De esta misma manera la industria de pulpa de papel es una de las industrias con más demanda en otros aspectos de producción; como se muestra en el diagrama 1, la distribución de la industria de papel se encuentra bastante fraccionada y no representa una prioridad en la generación de envases alimenticios.

Diagrama 1. Clasificación de la industria de pulpa de papel.



Fuente. Redacción Nacional. 2018. Pulpa, papel e industria gráfica. Departamento nacional de planeación, Ed. Julio. Pág. 243

Dentro de la estructuración mostrada en la anterior figura se evidencia que la industria de pulpa y papel se ve mayoritariamente enfocada a las imprentas y requisitos editoriales representando una baja participación en la industria destinada a empaques de primera generación; así mismo se puede ver que una de las principales fuentes de materia prima se genera en actividades de deforestación relacionando la producción de empaques de cartón y pulpa con otra problemática ambiental.

La organización empresarial en Colombia de las industrias más destacadas en este tipo de mercado es: Smurfit kappa, Cartón Colombia, Colombiana Kimberly,

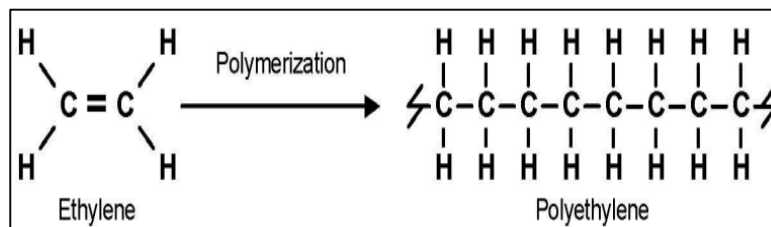
¹²Miller Freeman. 2001. Pulp & Paper International (PPI). Annual Review, Ed. Julio- agosto

Propal, Productos Familia, Cartones América y Papeles Nacionales¹³; a nivel internacional la capacidad instalada para la industria de pulpa, papel y cartón recae en países como Estados Unidos, Japón, Canadá, Suecia, Finlandia y Francia con 70% de la producción mundial¹⁴

1.1.2 Bolsas sintéticas de polietileno. Las bolsas plásticas de polietileno funcionan como una barrera protectora de las afectaciones ambientales y garantizan la presentación de productos desde hace muchos años, se encuentran en una gran gama de espesores y pueden ser diseñadas según el requerimiento de cada producto; este material es el más empleado para el empaque de alimentos, su versatilidad y estabilidad le dan propiedades de resistencia, flexibilidad y apariencia muy bien recibidas entre el consumidor.

Se elabora principalmente de polietileno de baja densidad mediante la polimerización del monómero etileno como se ilustra en la figura 2, puede llegar a tener un espesor de $9\ \mu\text{m}$ y resistir pesos de hasta 7 kilogramos¹⁵, su principal ventaja competitiva recae en el diseño preciso que puede tener dependiendo de los requerimientos específicos de permeabilidad a los gases y al oxígeno que presente el producto a envasar.

Figura 2. Proceso de polimerización para el etileno.



Fuente. Redacción Quiminet. La fabricación de películas plásticas ¿cómo se fabrican las bolsas de plástico?. 2011. Disponible en <https://www.quiminet.com>

La bolsa de polietileno puede fácilmente considerarse como un sustituto directo de las películas asociadas al comercio de frutas debido a su economía, cantidad de producción y fácil adquisición; además de poseer bajos costos de materias primas el proceso de empaque se puede automatizar reduciendo aún más los costos de producción y ofreciendo ventajas en la inspección del contenido, la impresión de gráficas de alta calidad y la resistencia tensil¹⁶.

¹³EMIS UNIVERSITY. Organización empresarial de las industrias en Colombia con mayor participación en industria de pulpa de papel. 2019. disponible en www.emis.com

¹⁴FAO. Capacidades de pasta y papel. 2002. Encuesta 2001-2006, Editorial Roma.

¹⁵ACOPLASTICOS, ICIPC. Acciones en pro de la competitividad de las cadenas petroquímica, plástico y caucho de Colombia: experiencias del Instituto de capacitación e investigación del plástico y del caucho. 2009. Disponible en www.acoplasticos.com

¹⁶CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ. U. Javeriana. Investigación e innovación para la competitividad: productos plásticos en Bogotá y Cundinamarca. 2012.

Las bolsas plásticas poseen un costo relativamente bajo en cuanto a la producción y comercialización, una sola bolsa puede tener un costo de producción entre los 30 y los 100 pesos colombianos, a pesar de poseer un impuesto anexo decretado por la ley 1819 del 2016¹⁷, como una medida de protección del medio ambiente, debido a que las bolsas plásticas tardan más de 100 años en degradarse¹⁸.

El porcentaje de participación para las películas de polietileno utilizadas para la elaboración de bolsas y empaques constituyen el 17 % de la producción de plástico para las industrias capitalinas, así mismo los eslabones de envases de material plástico y envases plásticos desechables respectivamente, constituyen el 14,15% y el 14,14%, sumando un porcentaje representativo para la producción global de plástico del 45 % aproximadamente, el cual evidencia el alto uso y producción de materiales para el embalaje y empaque de productos alimenticios¹⁹.

En Colombia, según la plataforma EMIS university y catalogadas por ventas en millones de pesos, las empresas con mayor participación en la fabricación de productos de plástico y caucho son Carvajal Empaques S.A, Compañía Colombiana de Cerámica S.A.S, Ajover S.A.S, Mexichem Colombia S.A.S y Multidimensionales S.A.S, entre otras con menor participación como Empaques de Tocancipa S.A.S, Compañía Iberoamericana de plásticos S.A.S y Minipak S.A.S²⁰. Según datos de la plataforma Greenpeace la producción mayoritaria de productos plásticos sintéticos se encuentra a cargo de países como China con la mayor contribución en el mercado (29%), seguido de Alemania (24,5%), Italia (14,2%), Francia (9,6%), España (7,7%) y Reino Unido (7,5%)²¹.

1.1.3 Empaques plásticos rígidos. Este tipo de empaques se caracterizan por tener, en su mayoría, tapa y fondo como un recipiente, se pueden reconocer por su forma rígida y transparencia, son apetecidos por el consumidor ya que permiten una mejor presentación del producto, una respiración óptima del alimento y una gran protección al momento de apilar.

Los empaques plásticos rígidos poseen una gran versatilidad en cuanto a forma, son más costosos que las bolsas plásticas y los empaques de pulpa de papel cuyos precios para una presentación pequeña (*Bolsa 13 x 23 cm*) son de 18 y 50 pesos respectivamente²². Este tipo de envase siempre se asocia a productos de

¹⁷MONCAYO, C. Lo que debe saber del impuesto a las bolsas plásticas. Instituto Nacional de contadores Públicos.2017. Disponible en www.incp.org.co

¹⁸REDACCIÓN NACIONAL. En Colombia se usan 2 millones 714 mil bolsas plásticas al día. 2018. El espectador. Disponible en <https://www.elespectador.com>

¹⁹Alcaldía mayor de Bogotá. Resumen ejecutivo: caracterización de diez cadenas productivas en Bogotá Región 1993-1999

²⁰EMIS UNIVERSITY. Organización empresarial de las industrias en Colombia con mayor participación en industria de plásticos.2 019. disponible en www.emis.com

²¹REDACCIÓN GRUPAL. Datos sobre la producción de plásticos. 2015. Disponible en <https://es.greenpeace.org/es/>

²²U. Externado. Estudio prospectivo de los empaques plásticos flexibles y semirígidos en Colombia. 2011. Disponible en <http://www.icipc.org>

alto valor comercial como bayas, setas y flores; la fabricación de dicho empaque viene estrechamente ligada al producto para el cual vaya a destinarse, en la figura 3. se pueden ver las presentaciones más utilizadas en la industria de bayas.

Figura 3. Imagen de referencia para recipiente rígido de plástico para empaque de bayas



Fuente. GIRALDO,P.¿cómo conservar las frutas y verduras?. 2017. Disponible en www.revistalabarra.com

Al igual que la producción de bolsas plásticas este tipo de empaques son representados en cuestión de participación en ventas por Carvajal Empaques S.A, Compañía Colombiana de Cerámica S.A.S, Ajoever S.A.S, Mexichem Colombia S.A.S y Multidimensionales S.A.S²³; dada su estructura rígida y complejidad de diseño el costo de producción tiene un incremento en comparación a un empaque de pulpa o bolsa plástica.

1.2 PELÍCULAS EN LA INDUSTRIA FRUTÍCOLA

Las frutas son productos altamente sensibles y en su proceso de comercialización se exponen a diferentes operaciones de transformación y tratamiento previas a su transporte, almacenamiento y consumo; todas estas pueden incurrir en cambios bioquímicos que afectan la calidad de las mismas, controlar los factores que afectan directa o indirectamente el alimento es el principal objetivo de un empaque; sin embargo, gracias a la preocupación ambiental por la disposición final de este y su largo periodo de degradación se hace necesario el desarrollo de materias primas más amigables ambientalmente.

Las películas plásticas se han convertido en un éxito entre los consumidores por sus propiedades de flexibilidad, transparencia y moldeamiento, estas abarcan hoy una gran parte de los productos agrícolas de los mercados, su particularidad de adoptar la forma del producto los hace altamente versátiles.

Para el año 2015 según la entidad gubernamental Procolombia, se produjeron más de un millón de toneladas de plástico sintético de los cuales el 62% se destina al segmento de alimentos, esto representa 620.000 toneladas de plástico

²³EMIS UNIVERSITY.Organización empresarial de las industrias en Colombia con mayor participación en industria de plásticos.2019. Disponible en www.emis.com

reflejadas en más de 29.000 millones de unidades divididas entre los empaques flexibles con 23.397 y los rígidos con 6.422, así mismo se estima que para 2021 se superen los 41.000 millones de unidades²⁴. Los resultados del estudio también mostraron que el crecimiento del mercado de alimentos fue del 45,4% para los años 2014 y 2018 dando un claro indicador de que el crecimiento de los mercados demandantes impulsa la reinversión y el desarrollo de nuevos productos de la industria de empaques y envases²⁵.

Basados en el panorama de crecimiento y la responsabilidad de cumplir la demanda de alimentos con atributos de calidad y estabilidad microbiológica los empaques deben incluir valores agregados que les permitan cumplir factores importantes para los productores y el consumidor, algunos de estos factores vitales para garantizar la calidad de un producto se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales factores de importancia para el comercio de productos agrícolas.

Factor de calidad	Importancia
Apariencia	Tamaño
	Forma
	Color
	Brillo
	Firmeza
	Frescura
Textura	Jugosidad
	Consistencia
	Dulzura
	Acidez
	Astringencia
	Amargura
Sabor y Aroma	Compuestos volátiles
Valor nutritivo	Vitaminas
	Minerales
Seguridad	Sustancias tóxicas
	Contaminantes químicos
	Contaminantes microbiológicos

Fuente. OCHOA. Diseño de empaques comestibles activos a base de almidón modificado para su posible aplicación en alimentos frescos. 2012. Propac, Universidad autónoma de Querétaro.

²⁴Alcaldía de Medellín. Estudios de mercado sectoriales, en línea con la política pública de desarrollo económico de medellín. 2019. Estudio de mercado para la fabricación de plásticos. Disponible en: www.empresarismo.medellindigital.gov.co

²⁵Panorama de la industria colombiana de empaques y envases plásticos. Revista digital Tecnología del plástico. 2016. Vol 43. Disponible en <http://www.plastico.com>

capas para aprovechar al máximo las características de cada polímero utilizado sin perjudicar la calidad final.²⁸

Su comercialización es normalmente en presentación de bobina sobre palet para el film de uso automático, por otra parte, si el productor lo desea se puede entregar en cajas de cartón individuales, su valor ronda en el mercado por los \$100.000 pesos colombianos en presentación de rollo de 609 metros x 45,7 cm, este valor varío dependiendo de las dimensiones²⁹.

A nivel nacional las empresas mas reconocidas encargadas de producir esta película plástica son Tecno Empaque SAS, Colombia Empack, Lemerflex, Plastempack de Colombia e Incopack; en el ámbito internacional la producción se concentra en Italia donde se producen 200.000 toneladas métricas al año, con una mayor participación mayoritaria de las empresas Coplast SRL, Plastopiave, Foamland, Quindesur, entre otras³⁰.

1.2.2 Películas plásticas de almidón. El almidón es uno de los polímeros más prometedores para la elaboración de películas biodegradables que puedan reemplazar a los materiales de empaque tradicionales debido a que es económico, de alta disponibilidad y se obtiene de fuentes naturales; no obstante, las películas elaboradas con sólo almidón, comparadas con las películas sintéticas tradicionales, presentan varias desventajas tales como propiedades mecánicas pobres, alta permeabilidad al vapor de agua, tendencia a la retrogradación, alta rigidez y facilidad de quiebre³¹.

El principal beneficiario del desarrollo de películas a base de almidón es la industria de los plásticos, ya que es un material que puede ser incluido en la formulación no solo de empaques alimenticios sino también en productos plásticos de otros usos, las películas formuladas a base de almidón son transparentes y capaces de adquirir coloración e impresión como se muestra en la figura 5; sin embargo, su principal ventaja es la de no requerir cambios en la forma productiva en la que se generan las películas tradicionales, ni incrementar la materia prima para el desarrollo de las mismas.

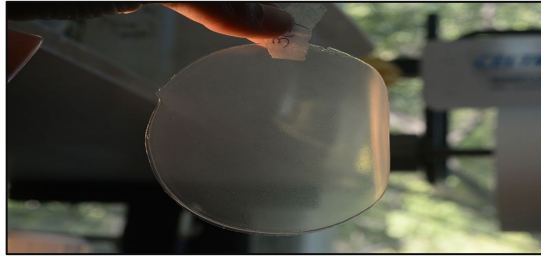
²⁸Redacción Pack abc. Enciclopedia: Vinipel y películas, film estirable. 2018. disponible en www.abc-pack.com

²⁹Tecnoempaques. Vinipel: Material termoplástico con propiedades de elongación y retención de carga, aseguramiento y protección en movimiento y transporte. 2018. Disponible en www.tecnoempaques.com.co

³⁰EMIS UNIVERSITY. 2019. Organización empresarial de las industrias en Colombia con mayor participación en industria de plásticos. disponible en www.emis.com

³¹ENRIQUEZ, VELASCO y ORTIZ. 2012. Composición y procesamiento de películas biodegradables basadas en almidón. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Vol 10 No. 1 (182 - 192)

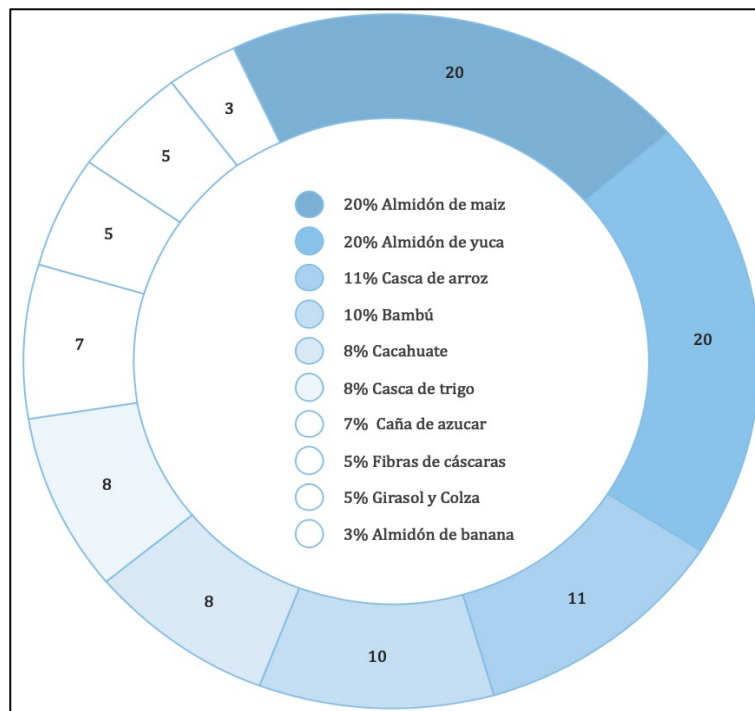
Figura 5. Prototipo de una película comestible a partir de almidón de mandioca con contenido de sorbato de potasio



Fuente. OLIVELLA, P. Un menú de película. 2015. Disponible en www.nexciencia.exactas.uba

Los estudios relacionados con películas biopoliméricas son extensos, la mayoría se encuentran direccionados hacia el almidón dada su abundancia natural y las tasas de deterioro que pueden tener una vez formuladas. Como se muestra en la gráfica 1 la participación porcentual del almidón como materia prima para la producción de bioplásticos se destaca sobre otras fuentes renovables, seguidos por la cascarilla de arroz y el bambú y en menor relevancia las fibras y polisacáridos.

Gráfica 1. Porcentajes de utilización de materias primas para la producción de Bioplásticos.



Fuente. ECOEMBES. Proyecto de análisis de bioplásticos. 2009. España. Disponible en <https://www.ecoembes.com>

La fabricación de estos bioplásticos se puede dar por dos caminos, el método húmedo sugiere una mezcla de los componentes con el almidón tales como el plastificante para una posterior extensión y secado de la solución obtenida; y el método seco que se caracteriza por un mezclado en fundido y moldeo por compresión y extrusión, cuya aplicación supone una mayor aproximación al desarrollo a nivel industrial³².

La comercialización de este tipo de materiales aún no es masiva dada la demanda tan extensa que se tienen de plásticos convencionales y las características que no se han podido reforzar; sin embargo, en algunos lugares la normativa con respecto al uso tradicional de empaque favorece el desarrollo alternativo, como es el caso de Europa occidental quien es el principal consumidor de bioplásticos con un 59% del volumen de mercado mundial en el año 2005 y con mayor crecimiento hasta el año 2010³³.

Las principales empresas que están desarrollando biopolímeros base protegidos por patentes son: BASF, DuPont, Mitsubishi Gas Química, Novamont, NatureWorks, Rodenburg Biopolímero y Biotec³⁴. Es indispensable que para el desarrollo de estos bioplásticos se genere una normatividad regulada mediante una certificación a través de la norma EN 13432 y un sello de calidad denominado "OK-Compost"³⁵.

1.3 FORMULACIÓN DE PELÍCULAS BIOPOLIMÉRICAS

La industria del plástico es uno de los eslabones más importantes en la economía del país, durante el 2013 se vendió alrededor de 3.538 millones de dólares y la producción había superado el millón de toneladas por año³⁶. Uno de los productos más representativos de esta agroindustria en ventas fueron los envases y empaques con una participación del 55%, cuyo consumo per cápita para ese año fue de 25 kg solo en envases destinados a productos frescos como películas y bolsas plásticas³⁷.

³²MORENO. Películas biodegradables a base de almidón con propiedades antioxidantes y antimicrobianas para su aplicación en alimentos. 2013. Universidad politécnica de valencia. Disponible en <http://www.upv.es>

³³PENUMA. Informe anual. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. 2012. disponible en <http://www.andi.com.co>

³⁴Cátedra ECOEMBES. Proyecto de análisis de bioplásticos. 2009. Resumen ejecutivo. Pag 13. Disponible en www.ecoembes.com

³⁵EUROPEAN STANDARD. "Packaging - Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation. Test scheme and evaluation criteria for the final acceptance of packaging". EN 13432.

³⁶Revista Dinero. Hacia un mundo que consume menos plástico: ¿Qué pasa con Colombia? 2016. Disponible en: <http://www.dinero.com>

³⁷ESPINOZA, Y Propondrán ley para prohibir el plástico de un solo uso. El Mundo. 2018. Disponible en: <https://elmundo.sv>

El crecimiento productivo de la cadena del plástico resumido en la tabla 2 para el 2017 refleja la alta participación de las películas como uno de los insumos más importantes para la generación de empaques alimenticios.

Tabla 2. Resumen de crecimiento productivo de los eslabones en la cadena del plástico.

PRODUCTOS PLÁSTICOS	PRODUCCIÓN (2017)	
	\$	%
TOTAL, PRODUCTOS PLÁSTICOS	939.422	100
<i>Fabricación de plásticos en formas primarias</i>	41.806	4,5
Cloruro de polivinilo	22.425	53,6
Polietileno aditivado	9.928	23,7
Resinas acrílicas	9.453	22,6
<i>Fabricación de formas básicas del plástico</i>	489.921	52,2
Tuberías de polivinilo	222.664	45,4
Película de polietileno	151.662	31
Accesorios de polivinilo para tubería y demás materiales plásticos	115.595	23,6
<i>Fabricación de artículos de plástico</i>	407.695	43,4
Tapas y tapones de materiales plástico	141.846	34,8
Envase de plástico de 1000 cm ³ y más	133.014	32,6
Envases plásticos desechables para alimentos	132.835	32,6

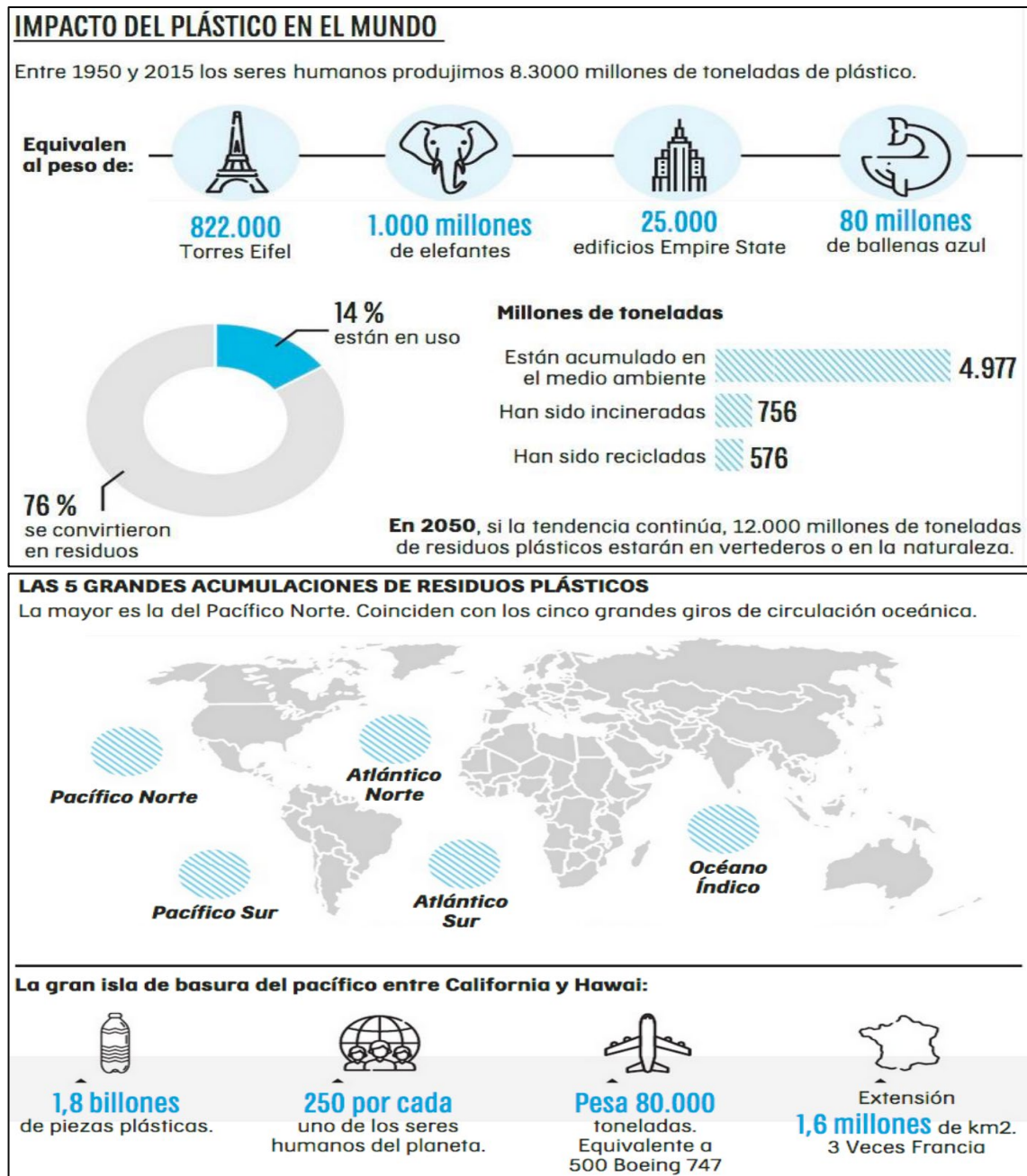
Fuente. Cámara de Comercio de Bogotá. 2017. U. Javeriana. Investigación en innovación para la competitividad: productos plásticos en Bogotá y Cundinamarca.

De acuerdo con el comportamiento creciente de las industrias plásticas en la fabricación de formas primarias y artículos de plástico nace una preocupación latente por la responsabilidad ecológica y ambiental de dicha industria; Internacionalmente el mercado de los plásticos derivados del petróleo y sus resinas ha enfrentado varias regulaciones y normas ambientales dada su alta participación en la contaminación de efluentes de agua y problemas ambientales.

La disposición y eliminación de residuos plásticos se ha convertido en una gran problemática ambiental que afecta fuertemente los ecosistemas y el estilo de vida que se conoce actualmente, estos cambios se reflejan de manera representativa en la figura 6. La responsabilidad ecoamigable que debe cumplir las industrias

fomenta el desarrollo de nuevas formas de eliminación, disposición o finalmente modificación de los insumos plásticos con el fin de reducir el efecto negativo de los productos.

Figura 6. Infograma representativo del consumo y destino de residuos plásticos 1950-2015.

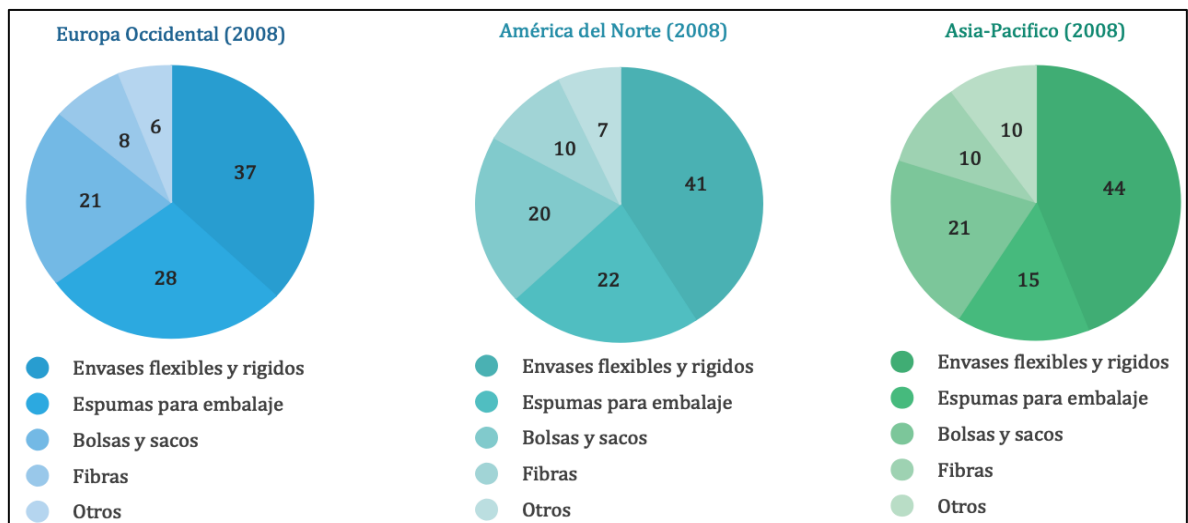


Fuente. Informe Conjunto de la Universidad de Georgia, la Universidad de California y la Asociación de Educación del Mar. 2015. Ocean Cleanup foundation; U de Leister. CSIRO. imperial college de Londres. Disponible en <http://www.andi.com.co>

La creciente demanda de alimentos y la dependencia del plástico sintético a fuentes no renovables generan la necesidad de estudiar múltiples materias primas para el desarrollo de materiales limpios que garanticen la degradación en tiempos más cortos y la implementación de fuentes renovables no requeridas para la alimentación humana.

Se estima que para el 2007 la capacidad productiva de biopolímeros era de unas 300.000 toneladas, lo que no supone ni el 1% del consumo de productos plásticos; sin embargo, para el 2021 se estima un 10 % de sustitución en peso para envases destinados a productos alimenticios³⁸. En la grafica 2 se representa el consumo de bioplásticos en América del norte, Europa occidental y Asia Durante el 2008.

Gráfica 2. Distribución del consumo porcentual de bioplásticos por sectores para América, Europa y Asia.



Fuente. PLATT, D. “Biodegradable Polymers. Market Report”. 2016. Smithers Rapra Limited.

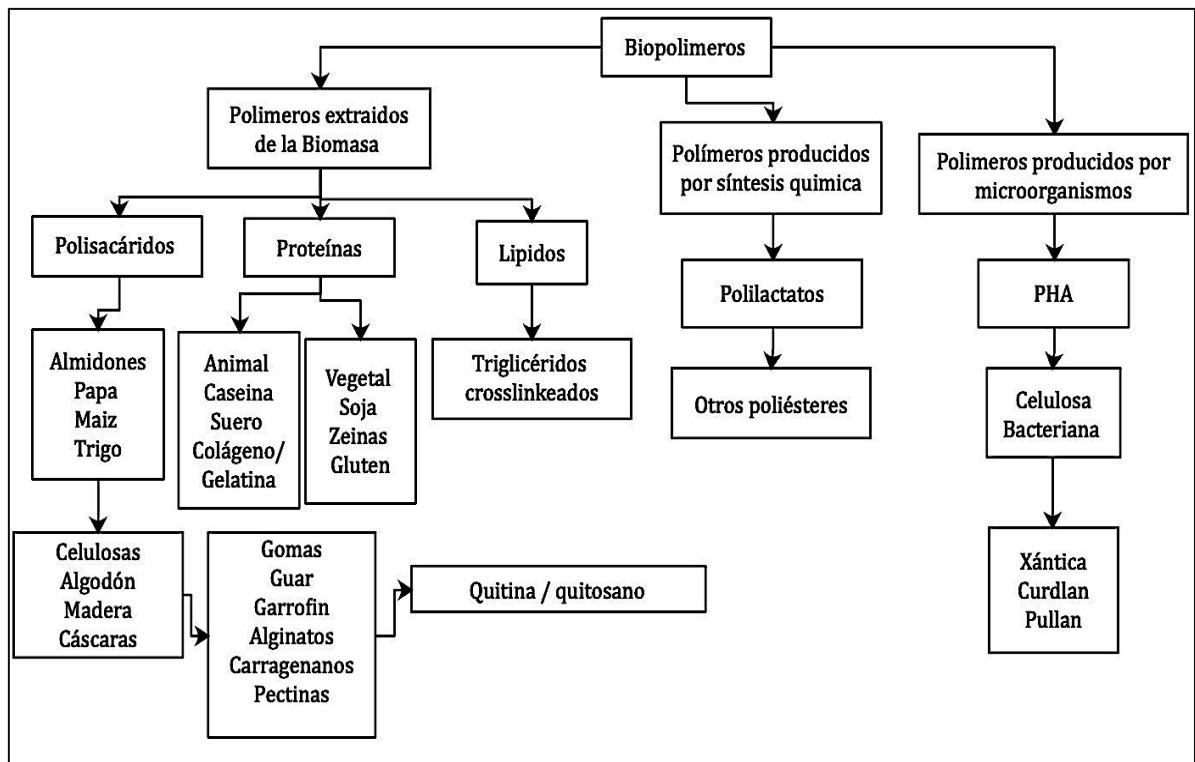
La alta participación de los biopolímeros en el consumo de empaques flexibles y rígidos en continentes potencia como se muestra en la anterior gráfica, impulsa el desarrollo de tecnologías para su producción y el interés por otros países de menor crecimiento económico. Los mayores porcentajes presentados por el continente asiático se respaldan en Japón, Australia y Nueva Zelanda, donde las políticas medioambientales han promovido la prohibición del uso de bolsas plásticas en el empaque de alimentos hortofrutícolas y se ha popularizado los polímeros a base almidón, PLA, PHA, entre otros³⁹.

³⁸M. FLIEGER, M. KANTOROVA, A. REZAKA, y J. VOTRUBA. “Biodegradable Plastics from Renewable Sources”. 2013. Folia Microbiol. Vol 48 (nº1), pag 27-44.

³⁹H. DONNAI. Highlights in Bioplastics. Internacional Biodegradable Polymers Association. 2005. Disponible en <http://www.jbpaweb.net>.

Existen tres alternativas para producir bioplásticos a partir de materiales naturales: la extracción y modificación de polímeros naturales de la biomasa; la polimerización de monómeros biobasados y la extracción de polímeros producidos en microorganismos; esta organización se desglosa de manera más exacta en el diagrama 2, donde se especifican las tres ramas posibles de síntesis a partir de matrices naturales para polímeros⁴⁰.

Diagrama 2. Representación esquemática de la clasificación de los biopolímeros según su origen y su método de producción.



Fuente. VAN, R.; FOWLER, P.; LAWOTHER, M.; WEBER, J. Properties of biobased packaging materials. Biobased packaging materials for the food industry: status and perspectives 2000. Ed. Weber, Frederiksberg, Dinamarca, pp. 13-44.

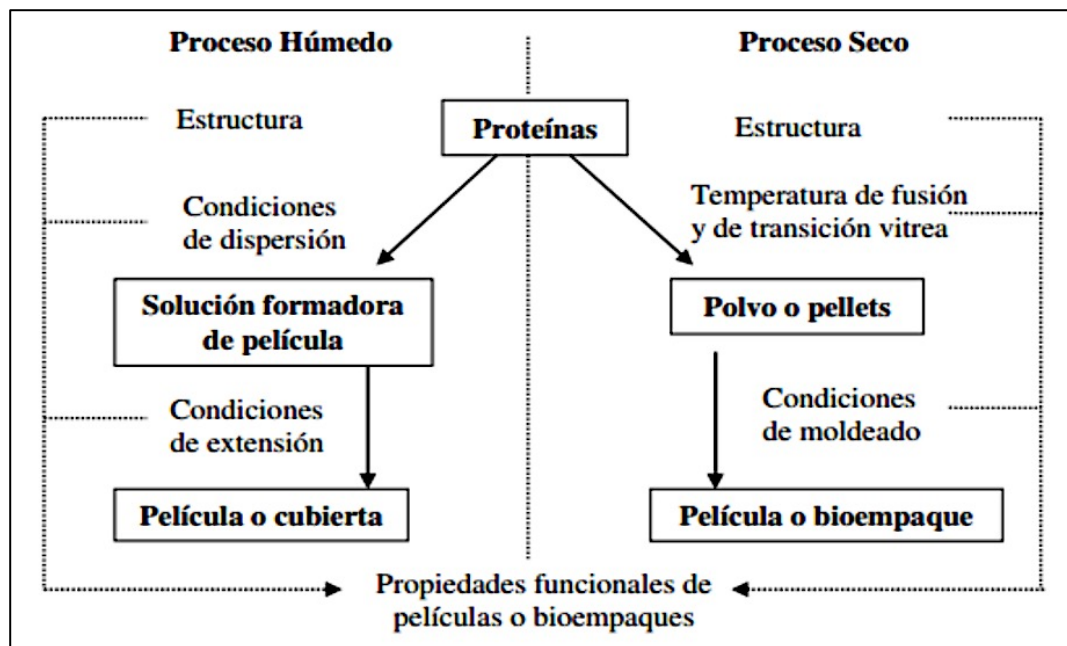
El aprovechamiento de materias primas naturales como los polisacáridos, las proteínas y los lípidos garantizan una alternativa de tratamiento para los residuos desechados por las industrias o bien por los desechos orgánicos que se generan en los hogares, impulsando el desarrollo de empaques limpios que se reintegran al ciclo económico y a su vez prolongan la vida en anaquel del producto.

⁴⁰GÓMEZ, S. YORY, F. 2017. Aprovechamiento de recursos renovables en la obtención de nuevos materiales. Use of renewable resources to obtain new materials. Ingenierías USBMed. Vol. 9 (1), Pág. 69-74, Ed. enero-junio 2018.

Muchas de las investigaciones hoy en día resaltan las ventajas de cada matriz polimérica que se desarrolla bajo las alternativas para producir biopolímeros, algunas de las más notables incluyen el uso de la proteína del huevo y el glicerol, queratina hidrolizada, fibras naturales de cáscaras de frutas, puré de frutas, almidón de yuca con refuerzos fibrosos, entre muchas otras posibilidades que abordan el uso de polisacáridos, lípidos, proteínas y microorganismos como fuente matriz⁴¹.

1.3.1 Métodos de síntesis. La elaboración de películas biopoliméricas y sus propiedades comúnmente están estrechamente relacionadas al método de síntesis con que se realizan, la inmersión de los compuestos formadores se relaciona a sus puntos de fusión, estado de la materia, tecnificación y proximidad al proceso de producción masiva del material; los métodos implementados en la generación de este tipo de materiales se desglosan en la diagrama 3.

Diagrama 3. Tecnologías que se utilizan comúnmente para preparar películas.



Fuente. ALATA, E. y CUADROS, Y. Formulación y evaluación físico mecánica de películas biodegradables en base a residuos cítricos y celulosa bacteriana. Universidad de San Agustín de Arequipa. Perú. 2017

⁴¹M. Peplow. 2016. "The plastics revolution: how chemists are pushing polymers to new limits". Nature, Vol. 536, No. 7616, pp. 266–268.

1.3.1.1 Método seco. El proceso seco de síntesis se fundamenta en la conducta termoplástica de los compuestos formadores como las proteínas y los polisacáridos que a bajas temperaturas muestran dicha naturaleza permitiendo realizar un moldeo por compresión y extrusión; después de formada la masa de los componentes de la película son expuestos a presión y temperatura para la formación del material. Cabe mencionar que el método seco posee un acercamiento más exacto a la producción en escala masiva.

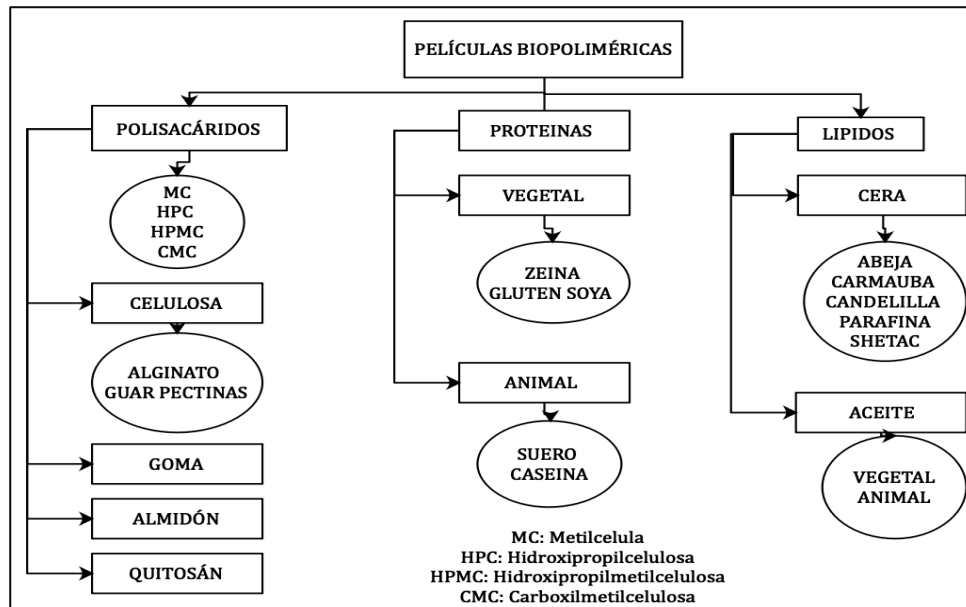
1.3.1.2 Método húmedo. Es una de las técnicas más implementadas para la elaboración de películas a nivel laboratorio ya que permite la obtención de películas pre moldeadas y con mejores características ópticas. Su fundamento se basa en la obtención de una dispersión uniforme compuesta por biomoléculas (proteínas, polisacáridos, lípidos), plastificante y agua, todo esto inmerso en un solvente de naturaleza volátil; las formulaciones pueden incluir en la solución filmógena compuestos aditivos con el fin de nutrir las características del material o incluir algún compuesto funcional. Una vez se obtiene la solución se vierte en los moldes pre estipulados y se somete a convección forzada o natural con el fin de volatilizar el solvente y retirar el material en láminas delgadas.

Este método requiere de condiciones estrictamente reguladas en las etapas de preparación de la solución filmógena, vertido, secado y almacenamiento, ya que de ello dependerá la calidad del material y propiedades como transparencia, humedad, solubilidad, homogeneidad, entre otras.

1.3.2 Polisacáridos. Son polímeros de cadena larga formados a partir de unidades repetidas de monosacáridos o disacáridos unidos mediante enlaces glucosídicos. Los polisacáridos, son muy usados en el desarrollo de películas ya que permiten formar una matriz continua y cohesiva con adecuadas propiedades mecánicas. Se pueden diferenciar aquellos polisacáridos de reserva como el almidón y el glucógeno, y de estructura como la celulosa y la quitina⁴². En el diagrama 4 se representan las tres principales ramas para la formulación de películas a partir de polímeros naturales y sus derivados.

⁴²I. Leceta, A. Etxabide, S. Cabezudo, K. de la Caba, P. Guerrero. 2014. "Bio-based films prepared with by-products and wastes: environmental assessment," Vol. 64, 218-277

Diagrama 4. Principales Materiales utilizados en películas comestibles para productos frescos



Fuente. OLIVAS Y BARBOSA-CÁNOVAS, Edible films and coating for fruits and vegetables, 2009. En: ME, Kuber KC Edible films and coating for food applications, Springer, New York, NY; pp 211-244

Los derivados de polisacáridos como las gomas, el almidón y el quitosán han demostrado capacidades destacadas en funciones contra la permeabilidad a los gases y actividad antimicrobiana.

Una de las propiedades más notorias en el desarrollo de películas a partir de polisacáridos recae en su capacidad de emulsionar partículas nutricionales para los alimentos, además de obtenerse películas transparentes que presentan propiedades mecánicas moderadas cuyas desventajas pueden ser reforzadas con la adición de compuestos hidrofóbicos o bien con tratamientos para el entrecruzamiento de las moléculas⁴³.

De los principales factores para el uso de polisacáridos en la producción de polímeros radica su bajo costo y su gran abundancia, la producción de estos puede variar entre 1 y 4,5 euros por kilogramo, a comparación de los bioplásticos desarrollados bajo matrices como PHB y PLA que rondan entre los 9 a 12 euros por kilogramo⁴⁴.

⁴³VARGAS, M., PASTOR, C., CHIRALT, A., MCCLEMENTS, D. Y GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews In Food Science & Nutrition*, 2008. Vol 48(6):496-511

⁴⁴Kosior, E.; Braganca, R.M.; Fowler, P. Lightweight compostable packaging: literature review. *Wrap*, Banbury, 2007. Inglaterra (www.wrap.org.uk)

La gran disponibilidad de materiales polisacáridos se debe a la facilidad de encontrarlos como residuos de otras industrias, los residuos fibrosos como las cáscaras que se generan en las empresas productoras de jugos, mermeladas, deshidratados y demás poseen dentro de sí, monómeros valiosos capaces de convertirse en materiales de empaque alternativos⁴⁵.

1.3.2.1 Cáscara de naranja. En Colombia la producción de naranja se agrupa en municipios como Antioquia, Santander y Cundinamarca⁴⁶; las cosechas se dan dos veces al año en los meses de mayo y octubre; según la Encuesta Nacional Agropecuaria, ENA, durante el año 2015 se contaba en el territorio nacional con 44.420 hectáreas sembradas en naranja, de las cuales estaban en producción 32.610 hectáreas, generando cosechas de 497.226 toneladas con rendimientos promedios de 15,2 toneladas por hectárea al año⁴⁷.

La naranja es destinada en su mayoría como materia prima de múltiples productos en la agroindustria colombiana, desde los jugos hasta las mermeladas requieren de esta apetecida fruta cuyo proceso productivo genera cerca del 20 % de peso del fruto en residuos desglosados como cáscaras, albedo y semillas⁴⁸. La mayoría de los desechos generados son dispuestos como desechos en una carga sustancial para el medio ambiente y otro bajo porcentaje es implicado en la generación de aceites esenciales y pectina.

Por otro lado el interés actual por la reinención de industrias tradicionales en el uso de materias primas renovables genera opciones para la utilización de las cáscaras de naranja como refuerzo en películas biopoliméricas, generación de harinas como ingrediente formulador de bioplásticos y compuesto activo en envases.

Las cáscaras de naranja presentan diversos componentes en su estructura como los carbohidratos, las fibras, la pectina, etc. su composición se desglosa específicamente en la tabla 3.

⁴⁵JANJARASSKUL, T. y Krochta, M.J. Edible packaging materials. The Annual Review of Food Science and Technology. 2010. Vol 1: 415-448.

⁴⁶ DANE, El cultivo de la naranja Valencia y su producción como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizantes y al efecto de la polinización dirigida con abeja Apis mellifera. Boletín mensual. Insumos y factores asociados a la producción agropecuaria. Octubre 2016.

⁴⁷ DANE, Op cit. Pag 3

⁴⁸ RINCON, Alicia M; VASQUEZ, A; PADILLA, Marina y C, Fanny. composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja (citrus sinensis), mandarina (citrus reticulata) y toronja (citrus paradisi) cultivadas en Venezuela. 2005, vol.55, n.3, pp. 305-310 . Disponible en: <<http://ve.scielo.org/scielo>>

Tabla 3. Composición fisicoquímica aproximada de la cáscara de naranja

Parámetro	Valor
Sólidos solubles (Brix)	7,1 ± 1,2
pH	3,93 ± 0,03
Total de acidez (g de ácido cítrico /100 ml)	0,29 ± 0,03
Índice de formol	34 ± 2,4
Humedad	85,9 ± 1,6
Grasa % (DM)	1,55 ± 0,17
Ceniza % (DM)	3,29 ± 0,19
Proteína % (DM)	6,16 ± 0,23
Carbohidratos % (DM)	89,0 ± 1,1
Azúcares neutrales	3,8 ± 0,3
Ácido uránico	7,1 ± 0,9
Lignina	3,2 ± 0,4
Pectina % (DM)	17 ± 5

Fuente. CERÓN SALAZAR, I . CARDONA ALZATE C. Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cascara de naranja. Ingeniería y Ciencia, ISSN 1794-9165 Volumen 7, número 13. 2011. Pp 65-86

La formulación de polímeros con residuos agroindustriales ricos en lignina y celulosa como las cáscaras de naranja presentan una fuerte innovación en el mercado de polímeros y representan una forma amigable de sustituir los envases plásticos tradicionales en las industrias alimenticias y disponer de manera adecuada los residuos cítricos.

1.3.2.2 Celulosa. Es el principal componente que conforma la pared celular de células vegetales, se constituye por una cadena larga de carbohidratos polisacáridos. Su peso molecular es alto y estructuralmente está formado por monómeros de glucosa unidos por enlaces 1,4-β glucosídicos⁴⁹, representados en la figura 7.

Las cadenas de celulosa se unen gracias a los puentes de hidrógeno formando micro fibrillas que a su vez forman fibrillas, dando origen a las fibras de celulosa muy resistentes a los ataques químicos, el gran número de puentes de hidrógeno y de interacciones de van der Waals realizan una función en conjunto para proveer una fuerte unión y permiten así mantener su estructura⁵⁰.

La celulosa recibe el nombre de polímero natural debido a que forma parte de estructuras biológicas vegetales, y los biopolímeros que son fabricados a partir de este monómero se producen por medio de hidrólisis de la celulosa natural que

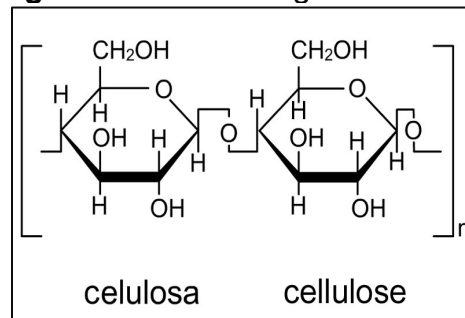
⁴⁹LAUREANO-PÉREZ, L . Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. Appl. Biochem. Biotechnol. 2005

⁵⁰KUMAR, R., SINGH, S. Bioconversion of Lignocellulosic Biomass: Biochemical and Molecular Perspectives. Biotechnol. 2008. Vol 35: 377 – 391.

bien puede darse por vía química, haciendo uso de ácidos, como por vía enzimática⁵¹.

Este monómero es uno de los polisacáridos más estudiados en el desarrollo de películas por su gran abundancia y poca participación en las cadenas de producción, puede dividirse en diferentes derivados como la metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, alginatos, carragenina, quitosano, pectina, almidón entre otras gomas que han sido considerados con potencial en la fabricación de películas debido a la capacidad de modificar el ambiente interno de un alimento y actuar como barrera eficiente contra ciertos gases; sin embargo, debido a su naturaleza, son barreras débiles contra la permeabilidad a la humedad comparado con los polímeros sintéticos.⁵²

Figura 7. Estructura general de la celulosa.



Fuente. MOLINA, R. Plantas y Hongos. Universidad de Extremadura. 2015. Disponible <http://www.plantasyhongos.es>

Las películas desarrolladas de celulosa nacen por primera vez durante 1865 al modificar la molécula de celulosa con anhídrido acético, generando materiales prodigio en la industria fotográfica; sin embargo, su potencial ha incursionado al uso alimenticio al reportar atmosferas modificadas para la conservación de productos frescos⁵³; Makino y Hirata reportan el uso de celulosa, quitosano y policaprolactona para la síntesis de películas flexibles con propiedades fisicomécanicas más fuertes que cuando los biopolímeros se encuentran de manera individual⁵⁴.

⁵¹FAN L.T, Gharpuray M.M, Lee Y.H. "Cellulose hydrolysis". Biotech Monographs. 1987. Vol 3.

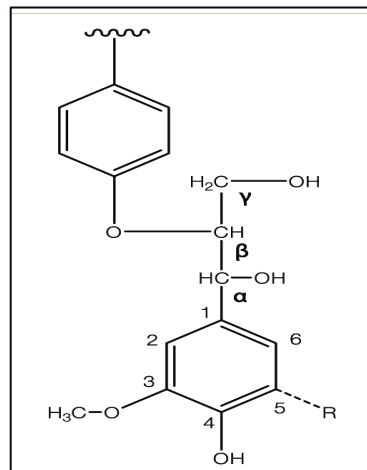
⁵²LIN, D. y Zhao, Y. Innovations in the development and applications of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2007. Vol 6 (nº3). Pp 60-71

⁵³ BUTLER, B. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films and effected by composition and storage. Journal of Food Science. 1996. Volumen 61, pp.953-956.

⁵⁴ ARÉVALO N. K. Elaboración de plásticos biodegradables a partir de polisacáridos y su estudio de biodegradación a nivel Laboratorio y campo. 1997. Tesis Doctoral Universidad Autónoma de Nuevo León

1.3.2.3 Lignina. Al igual que la celulosa es un monómero con peso molecular alto, como los otros componentes, que, catalogados como biomasa lignocelulósica, se forman mediante la reacción de fotosíntesis. Su función es darle rigidez a los tejidos vegetales y al mismo tiempo reforzarlos; también juega un papel importante en las plantas que son sometidas a estrés tanto biótico como abiótico ya que se incrementa en las paredes celulares de estas. La lignina se caracteriza por estructurarse bajo polímeros que resultan de la unión de varios alcoholes fenilpropílicos como se muestra en la figura 8.

Figura 8. Estructura general de una molécula de lignina.



Fuente. COCERO, M. CANTERO, D. BERMEJO, M. GARCÍA, S. Nuevas tendencias en el diseño de procesos para aprovechamiento de residuos alimentarios dirigidas a conseguir una sociedad sostenible. 2010.

Su biosíntesis abarca dos rutas metabólicas; en primer lugar, la ruta llamada shikimato en la que se produce L—fenilalanina y L-tirosina y en segundo lugar la llamada fenilpropanoide la que se encarga de L-fenilalanina y la biosíntesis de los alcoholes cinamílicos⁵⁵. La enzima fenilalanina amonio liasa comúnmente conocida con las abreviaturas de PAL participa catalizando la desaminación no oxidativa de la L-fenilalanina a ácido trans-cinámico, de esta forma involucra en la biosíntesis otros compuestos como el ácido clorogénico, los flavonoides con propiedades antimicrobianas, entre otros.⁵⁶ La extracción de la lignina de los demás materiales lignocelulósicos (celulosa y hemicelulosa) se puede realizar por dos diferentes vías, en la primera se encuentra la lignina como residuo insoluble, mientras que la celulosa y hemicelulosa se liberan gracias a una solubilización; y

⁵⁵ BOERJAN, W. y BAUCHER, MR. 2003. Lignin Biosynthesis. The Annual Review of Plant Biology.

⁵⁶HUANG J, GU *et al.* Functional analysis of the Arabidopsis PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. Plant Physiology. 2010. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.157370>.

en la segunda vía los residuos insolubles son los otros materiales lignocelulósicos y la lignina.⁵⁷

El uso de lignina como componente de valor agregado en materiales provenientes del petróleo con características similares ha sido reportado en múltiples ocasiones; Moráis en su estudio sobre termoplásticos a partir de almidón reporta resultados favorables adquiridos al implementar lignina como agente de refuerzo⁵⁸. En la tabla 4 se recopilan alguna de las investigaciones más relevantes en el uso de lignina.

Tabla 4. Trabajos de investigación que emplean lignina como relleno en películas de biopolímeros y polímeros sintéticos.

Autor	Año	Título	Materiales
Li et al	1997	The First 85% Kraft Lignin-Based Thermoplastics	Lignina Kraft, acetato de polivinilo, dibenzoato de dietilenglicol, indeno
Pouteau et al	2003	Antioxidant properties of lignin in polypropylene	Lignina de diferentes recursos (15 tipos), polipropileno
Pucciarello et al	2004	Physical properties of straw lignin-based polymer blends	Lignina, polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno lineal de baja densidad (LLDPE), polietileno de alta densidad (HDPE), poliestireno
Kubo y kadla	2004	Poly (Ethylene Oxide) /Organosolv Lignin Blends: Relationship between Thermal Properties, Chemical Structure, and Blend Behavior ^[17]	Lignina (Alcell), óxido de polietileno (PEO)
Ciobanu et al	2004	Properties of lignin–polyurethane films prepared by casting method	Lignina (flax/soda pulping), poliuretano
Baumberger et al	1998	Utilization of Pine Kraft Lignin in Starch Composites: Impact of Structural Heterogeneity	Lignina kraft de madera blanda (Indulin AT, 95% peso seco). Almidón de trigo (Tipo A, 87% peso seco, Amilasa 27%, amilopectina 73%)
Leprife et al	2004	Reactivity of sulphur-free alkali lignins within starch films	Lignina alcalina (Paja de trigo y bagazo de caña de azúcar), Almidón de papa

⁵⁷BLANCH, H. W. y Wilke, C. R. "Sugars and chemicals from cellulose" *Rey. Chem. Eng* 1: 71-119.

⁵⁸ MORAIS, L.C., CURVELO, A. ZAMBON, M.D. Thermoplastic starch-lignosulfonate blends. Factorial planning as a tool for elucidating new data from high performance size- exclusion chromatography and mechanical test. 2005. Carbohydrate Polymers. Vol 62. Pp 104- 112.

Tabla 4. (continuación)

Autor	Año	Titulo	Materiales
Morais et al	2005	Thermoplastic starch– lignosulfonate blends. 1. Factorial planning as a tool for elucidating new data from high performance size-exclusion chromatography and mechanical tests	Almidón de maíz (AMIDEX 3001, 28 % amilosa), Lignosulfonato de sodio, Glicerol
Chen et al	2009	Preparation and properties of chitosan/lignin composite films	Quitosano, Lignina comercial
Spiridion et al	2011	Preparation and characterization of adipic acid-modified starch microparticles/plasticized starch composite films reinforced by lignin	Almidón de maíz (Amilasa 25.3 %, Amilopectina 74.8%), Glicerol, Lignina de madera (escala laboratorio) y Lignina kraft (comercial).

Fuente: HERNÁNDEZ MARTÍNEZ, H. utilización de lignina de maíz de olote como componentes en películas a base de almidón. Tesis gradual. 2013. Universidad Iberoamericana. México D F.

1.3.3 Proteínas. Son compuestos moleculares formadores principales de las células vivas que se componen de largas cadenas de aminoácidos que además de tener grupos alfa amino y alfa carboxilo involucrados en las uniones peptídicas, presentan una cadena lateral con diferentes grupos funcionales que se encargan de estructurar el citoesqueleto, las conformaciones moleculares y bioquímicas. La estructuración de las proteínas (primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias) determinan propiedades funcionales relacionadas con la interacción proteína-proteína que permiten la formación de matrices con características propias como las películas, las coberturas y fibras⁵⁹.

Las películas provenientes de las proteínas presentan propiedades de barrera no satisfactorias, específicamente baja permeabilidad al vapor de agua y alta solubilidad; a pesar de ello, poseen características notorias en permeabilidad a los gases, en particular al oxígeno, debido a su inherente hidrofiliidad y las fuertes interacciones moleculares que presentan. Su organización estructural, cuya red tridimensional compacta está formada por puentes de hidrógeno, permite desarrollar propiedades adhesivas, pero con baja flexibilidad, lo que se traduce en plásticos rígidos⁶⁰.

⁵⁹SONG, F. TANG, D. WANG, X. WANG, Y. Biodegradable soy protein isolate-based materials: a review. *Biomacromolecules*. 2011. Vol. 12, pp. 3369–3380.

⁶⁰MEI, Y. ZHAO, Y. Barrier and mechanical properties of milk protein based edible films incorporated with nutraceuticals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003. Vol 51.

Las proteínas utilizadas como matrices poliméricas abarcan dos grupos: de origen animal en las que se encuentran el colágeno, la gelatina, la caseína, el suero lácteo, la ovoalbúmina y las de origen vegetal como semillas de algodón, cacahuete, soja, trigo, maíz y arroz⁶¹. Generalmente su producción se realiza gracias a la desnaturalización de las proteínas, creando nuevas interacciones intermolecular mediante el empleo de calor y disolventes.

1.3.4 Lípidos. Estas moléculas que no tiene la capacidad de mezclarse con el agua, lo que se le conoce como hidrófobas, son no polares, no poliméricos y constituidos en su gran mayoría por cadenas de carbohidratos, algunos de los lípidos más involucrados en la generación de polímeros son las ceras, los triglicéridos y algunos ácidos grasos⁶²; Cabe resaltar que los lípidos poseen varias limitaciones en la producción de materiales elásticos, ya que tienden a presentar excelentes propiedades de barrera al vapor de agua pero en su mayoría son quebradizas.⁶³

Como se mencionó previamente su capacidad hidrófoba le permite tener una alta eficiencia contra la humedad desarrollando buenas permeabilidades al vapor de agua; sin embargo, su falta de cohesión e integridad estructural afectan sus propiedades mecánicas, como consecuencia las películas tienden a tener rupturas y bajo nivel de elongación⁶⁴. Para suplir esta deficiencia en ocasiones son usados en conjunto con materiales hidrofílicos mediante la formación de una emulsión, lo cual le permite mejorar sus propiedades mecánicas, con alguna reducción de su resistencia frente a la humedad.

1.3.5 Disolventes. Son sustancias que a temperatura ambiente se encuentran en estado líquido, no obstante, tienen a desprender vapores debido a que son compuestos volátiles; suelen emplearse solos o en unión con otro agente y su función más conocida es la de disolver ciertos compuestos; sin embargo, se usan para modificar la viscosidad, como plastificante, conservante o como vehículo de otras sustancias con el propósito de depositarlas, fijarlas y posteriormente evaporarse.

El tipo de disolvente es un factor notable en la producción de matrices poliméricas, debido a su influencia en las características de la película ya formada, puesto que para tener estructuras con un mayor grado de cohesividad se necesita una máxima solvatación y extensión de las moléculas que conforman el polímero de

⁶¹GUILBERT, S. CUQ, B. y GONTARD, N. Recent Innovations in Edible and Biodegradable Packaging Materials. 1997. Food Additives & Contaminants. Vol 14. pp 6-7.

⁶²NANDA, R. y NAYAK, P. Edible biodegradable films for packaging applications. 2009. Popular Plastics & Packaging. Vol 54(nº 2). Pp 17-22.

⁶³LIU, L. KERRY, J. F. y KERRY, J. Effect of food ingredients and selected lipids on the physical properties of extruded edible films/casings. 2006. *International Journal of Food Science & Technology*. Vol 41(nº3) pp. 295-302.

⁶⁴KESTER, J y FENNEMA, O. "Edible films and coatings: A review", 1986. *Food Technology*, ISSN: 0015-6639, Ed. 40, pp. 47-59.

acuerdo con Gennadios en su artículo Edible Films and Coatings from Wheat and Corn Proteins⁶⁵. Los disolventes comúnmente utilizados en la producción de películas para fines alimenticios deben estructurarse en materiales filicos a las matrices poliméricas, así mismo deben denominarse con naturaleza alimenticia y no tóxica, ya que están en contacto directo con los productos, estos pueden resumirse en agua, etanol, ácido acético y su combinación.

1.3.6 Plastificantes. Los plastificantes son líquidos orgánicos de bajo peso molecular y baja volatilidad que se agregan en las formulaciones con el fin de mejorar propiedades mecánicas como la flexibilidad, elongación y ductilidad, así mismo pueden facilitar su transformación, permitiendo disminuir su grado de fragilidad y temperatura de fusión gracias a que el plastificante penetra en el interior de la estructura polimérica separando las cadenas para poder reducir las fuerzas de atracción entre ellas.⁶⁶

Los plastificantes se puede clasificar en dos grupos dependiendo de su funcionamiento; en primer lugar están aquellos que interactúan con las moléculas que se encuentran en la matriz creando puentes de hidrógeno entre plastificantes y matriz, en este grupo se encuentra el glicerol, polietilenglicol, sorbitol y agua y en segundo lugar aquellos capaces de interactuar con el agua, atrapando las moléculas de agua en el interior de la película durante la gelificación, para que dichas moléculas actúen como plastificante, como la sacarosa⁶⁷.

En un estudio desarrollado por Wang para la revista *International Journal of Food Science & Technology*, se evidencia que las películas desarrolladas a partir de polisacáridos, presentan mejor resistencia tensil que las formuladas a partir de proteínas; sin embargo, su respuesta a la elongación es bastante baja, por lo tanto se hace necesario la adición de plastificantes con el fin de modificar la flexibilidad del material⁶⁸. La adición de plastificantes se realiza normalmente en la parte final del proceso de calentamiento y extrusión con el fin de evitar la volatilización del compuesto, por esta misma razón se escogen aquellos cuya presión de vapor sea baja.⁶⁹

⁶⁵GENNADIOS, Tonny. Edible Films and Coatings from Wheat and Corn Proteins. 2000. *Food Technology*. Ed 44. Pp 54-67.

⁶⁶VEIGA-SANTOS, P., *et al.* Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: effect of additives and deacetylated xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, vol 19 (nº1), 2005, pp. 341-349.

⁶⁷RAMOS, O. Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2012. vol 52.

⁶⁸WANG, L. LI, L. HOLMES, J. KERRY, J. y KERRY, J. Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International Journal of Food Science & Technology*. 2007. Vol 42(nº9): 1128-1138.

⁶⁹BASTIOLI, C., BELLOTTI, V. Y MONTINO. A. Biodegradable polymeric compositions based on starch and thermoplastic polymers. 1994. DOI US5292782. U.S. PTO.

Aunque los plastificantes mejoren características de flexibilidad y reduzcan la posibilidad de quiebre en los materiales, cabe aclarar que existen efectos adversos a su uso; en múltiples estudios se evidencia que, debido a su naturaleza higroscópica, el glicerol, uno de los plastificantes más implementados en la formulación de películas, afecta el contenido de humedad que provoca, a su vez una reducción en la capacidad de protección.

1.4 ADITIVOS EN LA FORMULACIÓN DE PELÍCULAS BIOPOLIMÉRICAS

Muchas de las películas que se formulan como alternativa de los empaques tradicionales requieren de compuestos aditivos con el fin de fortalecer características importantes en la mejora de las propiedades para los cuales se sintetizan, estos compuestos son agregados en menor proporción que aquellos que los conforman; sin embargo, su impacto en la estructuración del polímero y las cualidades que pueda desarrollar son muy significativas⁷⁰.

Involucrar compuestos aditivos es una tarea bastante específica, los requerimientos para los cuales se destinan las películas está directamente relacionados con las particularidades que queremos en el polímero, ya sea desde el aumento de la masa molecular para mejorar las propiedades mecánicas y térmicas, hasta la inclusión de compuestos altamente apolares con el fin de incrementar las barreras contra los vapores; los procesos de inclusión para estos compuestos se describen con mayor detalle a continuación.

1.4.1 Reticulantes. La reticulación es un proceso utilizado en los polímeros para aumentar la masa molecular de este, uniendo cadenas largas en puntos distintos, con el fin de aprovechar las ventajas mecánicas y térmicas ofrecida por los enlaces, para conseguir propiedades estables en el polímero⁷¹. Los polímeros expuestos a esta técnica son usados con mayor frecuencia en la industria gracias a su comportamiento estable frente a altas temperaturas. Estos enlaces se pueden formar por diferentes técnicas, la más utilizada por la facilidad que brinda es la adición de agentes reticulantes después de la polimerización.

El cloruro de calcio es utilizado comúnmente en la reticulación iónica ya que permite la solubilidad total en soluciones acuosas, estudios realizados por la Universidad de Barcelona donde se implica el cloruro de calcio como agente reticulante del alginato para aplicaciones farmacéuticas, recomiendan disminuir la velocidad de reticulación del polímero debido a que el cloruro de calcio tiende a

⁷⁰ERGUN, R, LIETHA, R, Y HARTEL, W. Moisture and shelf life in sugar confections. *Critical Reviews In Food Science & Nutrition*. 2010. Vol 50(nº2):162- 192.

⁷¹HERRANZ, G. Estudio de los mecanismos de reticulación en la obtención de microcápsulas de gelatina goma-arábica. 2013. UPC. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu>

acelerar y descontrolar el proceso, puesto que un proceso más lento da como resultado estructuras con mayor uniformidad⁷².

La reticulación provee varias ventajas estructurales a la matriz polimérica, ya que propicia la unión entre los monómeros generando densidades adecuadas para reforzar las propiedades mecánicas del material; la densidad de reticulación debe tener valores intermedios para materiales con propiedades elastoméricas y potencialmente de alta resistencia, si no se controla este proceso se obtienen materiales rígidos o vítreos⁷³.

1.4.2 Proteínas. Son compuestos formadores de redes cohesionadas capaces de conceder mejores propiedades mecánicas brindando rigidez y estabilidad térmica, también incrementan las propiedades de barrera como la permeabilidad al oxígeno y el dióxido de carbono gracias a sus características hidrofílicas; sin embargo, esto a su vez lo convierte en una barrera ineficiente frente al vapor de agua, generando materiales con altas solubilidad⁷⁴. Las proteínas más utilizadas son las de gelatina, gluten de trigo y soja; estudios recientes muestran el caseinato de sodio, como la proteína con mayor futuro en la producción de películas, ya que son transparentes, biodegradables y con propiedades de barrera al oxígeno controlando procesos antioxidantes que pueda presentar el alimento⁷⁵.

1.4.3 Lípidos. Son compuestos comúnmente utilizados en la producción de películas para mejorar las propiedades de barrera a los gases debido a que forman películas gruesas, pero su falta de cohesividad tiende a afectar las propiedades mecánicas debido a su facilidad de fracturarse, su naturaleza hidrofóbica implica una serie de ventajas para los recubrimientos como la facilidad para adherirse a la superficie del producto y la alta resistencia al vapor de agua; así mismo mejora las propiedades organolépticas de productos secos ya que genera barreras contra la humedad natural, proporcionando brillo y otorgando una apariencia deseada.⁷⁶

Los lípidos más empleados para el refuerzo de películas son las ceras, las resinas y los ácidos grasos. Estudios previos relacionan el uso de estos con el fin de incrementar las propiedades de barrera y apariencia de coberturas; la Universidad

⁷²BONILLA, P. Formación y caracterización de nanosistemas terapéuticos con alginato. 2016. Universidad Barcelona. Disponible en: <https://www.tesisenred.net>

⁷³REINOSO. S. Los polímeros Plásticos: Todo en polímeros. 2017. Disponible en www.todoenpolimeros.com

⁷⁴VARGAS, M. PASTOR, C. CHIRALT, A. MCCLEMENTS, D. y GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Recent advances. Edible coatings for fresh and minimally processed fruits. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2008. Vol 48: 496–511

⁷⁵GENDE, L.B. NIERA, L.M. ALVAREZ B. EGUARAS, M. RUSECKAITE, R.A. MARTUCCI, J. 2010. Películas activas para el envasado de alimentos.

⁷⁶MORILLON, V. DEBEAUFORT, F. BLOND, G. CAPELLE, M. AND VOILLEY, A. Factors affecting the moisture permeability of lipid based edible films: a review. Crit. Rev. Sci. Nutr. 2002. Vol 42, 67–89

de Nariño relaciona la cera de abeja junto a proteínas de lactosuero para elaborar un recubrimiento comestible para la conservación de la uchuva obteniendo una pérdida de peso bajo, lo que son resultados favorables contra el deterioro de la fruta, influyendo la buena resistencia a la humedad de la cera de abeja por su alta hidrofobicidad⁷⁷.

1.4.4 Compuestos activos. Son sustancias que se incorporan en las películas con el fin de lograr una interacción con el alimento creando un ambiente interno ideal para conservar y/o impulsar las propiedades obteniendo una prolongación de la vida útil. El mecanismo de acción de los compuestos activos se basa en emigrar de manera parcial y controlada de la película al alimento, o también puede agregarse de forma directa a la superficie del producto, una de las desventajas que presentan las aspersiones directas es que pueden alterar la funcionalidad del empaque y las características sensoriales. Los compuestos activos empleados en películas se pueden clasificar según su función en: antioxidantes, antimicrobianos, aditivos alimenticios y nutraceuticos.

La mayoría de los empaques que implementan compuestos activos como antioxidantes presentan algunas afectaciones a la calidad organoléptica y sensorial de los alimentos, las vitaminas C y E que son los antioxidantes más populares, registran pérdidas de sabor en el alimento y opacidad en el color de la superficie; por otro lado los aditivos alimenticios y nutraceuticos potencian la calidad del alimento mejorando su sabor, textura y frescura mediante tecnologías de recubrimientos comestibles que contienen sustancias como colorantes y potencializadores de sabor⁷⁸. En un estudio realizado por Mehyar se evidencia el uso de goma guar adicionadas con sorbato de potasio en películas de almidón para la preservación de los nutrientes en los vegetales, este es el objetivo principal de sustancias como las vitaminas, los péptidos bioactivos y cultivos probióticos que con sus componentes dietéticos mantienen la cantidad determinada de un nutriente durante el proceso de almacenamiento, asegurando la conservación activa del compuesto en el consumo⁷⁹.

Entre los compuestos activos más implementados, no solo en la industria alimenticia, sino también en la farmacéutica se encuentran los antimicrobianos, sustancias empleadas para inhibir el crecimiento de bacterias, hongos y otros microorganismos patógenos, que disminuyen la vida útil de los productos y que

⁷⁷LÓPEZ, D. CUATIN, L. ANDRADE J. Y OSORIO, O. Evaluación de un recubrimiento comestible a base de proteínas de lactosuero y cera de abeja sobre la calidad fisicoquímica de uchuva (*Physalis peruviana* L.). 2015. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v65n4/v65n4a02.pdf>

⁷⁸RAMOS, O., *et al.* Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2012. Vol 52, pp 533-552.

⁷⁹MEHYAR, G. AL-QADIRI, H. ABU-BLAN, H. Y SWANSON, B. Antifungal effectiveness of potassium sorbate incorporated in edible coatings against spoilage molds of apples, cucumbers, and tomatoes during refrigerated storage. *Journal of Food Science*. 2011. Vol 76(nº 3):210-217

bien han popularizado el uso de aceites esenciales y sustancias como el ácido sórbico, ácido benzoico, benzoato de sodio, ácido cítrico y sorbato de potasio.⁸⁰

Dichos compuestos se respaldan gracias a su clasificación como compuesto GRAS, acrónimo de la frase Generalmente Reconocido como Seguro, y los prometedores resultados mostrados por Khan en su artículo Functional biopolymers produced by biochemical technology considering applications in food engineering, Ozdemir y Floros en la revista Journal of Food Engineering donde estudian el control microbiológico desarrollado por el sorbato de potasio, Quintavalla y Vicini con su estudio para implementar los antimicrobianos en el empaque industrial de carne⁸¹.

1.5 PELÍCULAS ACTIVAS

Un empaque activo es definido como un sistema en el cual un producto, el empaque y el ambiente interactúan de manera positiva para extender la vida útil en la etapa de almacenamiento o para lograr características beneficiosas que no son de la naturaleza del producto⁸². El término de empaque activo ha evolucionado, debido al aumento en las exigencias por parte de los consumidores por obtener un producto con calidad, manteniendo las propiedades y principalmente su seguridad, ocasionando así, mejoras en los empaques convencionales.

Los empaques activos pueden desglosarse en múltiples tipos, uno de los más demandados dada su alta implicación en el almacenamiento de alimentos y su popularidad entre los consumidores al ser moldeables, duraderos y transparentes, son las películas y recubrimientos plásticos, estos se caracterizan por ser delgadas capas que protegen e interactúan con el producto de forma beneficiosa, mejorando la calidad y seguridad; las películas se diferencian de los recubrimientos por el método en que se aplican ya que requieren de un secado anexo con el fin de obtener materiales de empaque, mientras los recubrimientos son directamente adicionados a la superficie del fruto.

⁸⁰RAMOS, O. L. Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2012. Vol 52, 533-552.

⁸¹KHAN, T., PARK, J. K. Y KWON, J. H. Functional biopolymers produced by biochemical technology considering applications in food engineering. Korean Journal of chemical Engineering. 2007. Vol 24(nº5):816- 826.

⁸²GENDE L., NEIRA L., ALVAREZ B., EAGUARAS M. Películas activas para el envasado de alimentos. Revista de Investigación y desarrollo, Ingeniería alimentaria, Ed julio- agosto. 2013. pp 32-44

La eficiencia de las películas activas frente a diferentes condiciones se basa principalmente en los compuestos formadores, varios de estos actúan como barreras capaces de controlar o bloquear ciertas sustancias como gases (oxígeno, metano, dióxido de carbono, etc) y vapor de agua para regular el porcentaje de humedad dentro del empaque, otros tiene como finalidad transportar sustancias como lo son conservantes, antioxidantes, antimicrobianos o aromatizantes con el fin de beneficiar el alimento; estos últimos dependen de dos modos de acción: la eliminación de sustancias u organismos que aceleran el deterioramiento del producto o la liberación de estas para beneficio del mismo.⁸³

Las condiciones que determinan el uso de películas activas pueden clasificarse de la siguiente manera. Fisiológicas: Donde se tiene obtiene un equilibrio entre el ambiente interno y externo del empaque controlando la respiración de vegetales y frutas. Físicas: Controlando la humedad del ambiente interno por medio la PVA para el fenómeno del secado del alimento. Químicas: Controlando la oxidación, gracias a la propiedad de permeabilidad de oxígeno. De infestación: Brindando protección evitando ataques de insectos. Microbiológicas: Controlando el crecimiento de bacterias o algún patógeno por acción del compuesto activo.

Muchas investigaciones recientes muestran el uso de matrices poliméricas no convencionales para el encapsulamiento de componentes, no solo en los procesos alimenticios sino también en aquellos relacionados con la farmacéutica, posibilitando el estudio de materiales biodegradables, funcionales y limpios para el uso eficiente de los alimentos y el refuerzo de la naturaleza ecológica de las industrias dedicadas a la fabricación de plásticos.⁸⁴. Algunos ejemplos se recopilan en la tabla 5.

⁸³NETTLES, C. 2002. Microbial Control by Packaging: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol 42(nº 2):151–161.

⁸⁴ANDRADE, J., ACOSTA. D., BUCHELI, M., Y LUNA, G. Elaboración y evaluación de un recubrimiento comestible para la conservación postcosecha del tomate de árbol. *Revista de Ciencias Agrícolas*, Julio - Diciembre 2013, págs. 60-72

Tabla 5. Estudios realizados en la evaluación de películas activas a base de diferentes matrices y componentes activos.

Matriz polimérica	Componente activo	Aplicación	Resumen
Almidón de yuca	Capsaicina	Alimentos	Artículo publicado en el 2014 por la revista `Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustria`; Se enfoca en la producción de películas a partir de almidón nativo y modificado, este último con la adición de ácido poliláctico y policaprolactona para la evaluación de propiedades mecánicas, de barrera y ópticas para cada película en referencia al tiempo de almacenamiento. Los resultados que obtuvieron para las pruebas mecánicas representadas en el esfuerzo y la elongación fueron favorables para la película producida con almidón modificado, los autores infieren esta ventaja debido a la modificación que permitió retardar el proceso de retrogradación durante el tiempo de almacenamiento, por otro lado, se presentan resultados prometedores en la permeabilidad al vapor de agua frente a películas producidas por otros polisacáridos pese al impacto negativo que tuvo el tiempo de almacenamiento, sumado a la permeabilidad al oxígeno la cual se mantuvo en todo el experimento; finalmente no evidenciaron cambios significativos en las propiedades ópticas.
Proteínas de suero	Cera de abeja	Para la conservación de la uchuva	Investigación realizada en la Universidad de Nariño, facultad de ingeniería agroindustrial en el año 2016 en Colombia, dicho estudio se orientó en la elaboración de un recubrimiento comestible a base de proteínas de lactosuero y cera de abeja para la conservación de la uchuva, evaluando su efecto con respecto a las propiedades fisicoquímicas de la fruta en dos condiciones de almacenamiento distintas: ambiente y refrigeración. Para la determinación de la cantidad de cada compuesto formador los autores se soportan en la variable respuesta pérdida de peso en uchuva, fundamentados en la reducción de la transpiración y la perduración de las características fisicoquímicas y sensoriales al evitar la pérdida de agua en el fruto. El recubrimiento indicó una disminución de la pérdida de peso en almacenamiento ambiente y refrigeración de 36,2% y 41,5% respectivamente, por otra parte, evitó en condición ambiente un 3,76% de sólidos solubles y en refrigeración 2,27%, cabe mencionar que la acidez se mantuvo y el pH y la firmeza no obtuvieron cambios significativos.
Almidón del maíz	Quitosano	Productos hortofrutícolas frescos, como las frutillas (fresas)	Artículo publicado en el 2018 por la revista <i>matéria</i> , desarrollado en PLAPIQUI Argentina, con el objetivo de desarrollar una película termoplástica biodegradable proveniente del almidón de maíz, con actividad antimicrobiana por parte del quitosano de bajo peso molecular para productos frutihortícolas frescos. En este estudio degradaron por oxidación el quitosano para obtener oligoquitosanos, con el fin de realizar una comparación, aplicando directamente como spray a la fresa frente a la película activa con los compuestos ya mencionados. Obtuvieron una disminución del 76 % de hongos en el fruto con respecto al método de spray, este efecto según los autores se podría atribuir a la liberación controlada de los derivados desde la película a la fruta asegurando una distribución gradual.
Zeina	Monohidrocloreuro de éster etílico de Na-lauroil-L-arginina (LAE) y Catequina	Alimentos perecederos envasados	Tesis desarrollada en junio de 2014 por la Universidad Politécnica de Valencia España, sustentado en la elaboración de películas mediante el método de casting, como material de envase ácido poliláctico y zeina con la incorporación de LAE como agente antimicrobiano y catequina como agentes antioxidantes para la protección bioactiva de alimentos. Se concluyó por parte de los autores, una alta eficiencia antimicrobiana de el LAE frente a las cepas <i>L. innocua</i> y <i>S. enterica</i> , aludiendo una mayor eficiencia en bacterias Gram positivas, por otro lado, al usar las películas como empaque para el zumo de naranja se percibió la capacidad antioxidante por la presencia de la catequina.

Tabla 5. (continuación)

Harina de plátano	Aceites esenciales de Eucalipto y Geranio	En frutas, como el banano	Tesis realizada por el estudiante Gabriel Alejandro Moreno Toasa en el año 2015 en la Universidad de Ambato, Ecuador. Con el objetivo de evaluar películas biodegradables activas a partir de harina plátano con presencia de aceites esenciales de eucalipto y geranio. Se determinó el efecto del aceite esencial concluyendo a concentraciones bajas de aceite esencial mejora la interacción con la matriz, paralelamente disminuyó el contenido de agua de la película entre un 15 % y 18 %, así mismo Moreno concluyó que las películas con adición de aceite de eucalipto poseen mejores características fisicoquímicas y antimicrobianas, finalizando con la degradación de las mismas en condiciones normales alrededor de 14 días.
-------------------	---	---------------------------	--

Fuente. Elaboración propia con base a los estudios anteriormente mencionados.

1.5.1 Incorporación de compuestos activos. La encapsulación de compuestos activos en los empaques alimenticios es una tecnología relativamente nueva, la elaboración de materiales bio-desarrollados con potenciales de transportar partículas activas presenta la ventaja más competitiva de las nuevas tecnologías para el envasado.

En este sentido la industria alimenticia ha implementado la incorporación de compuestos activos para fomentar la conservación y mejorar las cualidades organolépticas, funcionales y protectoras; la inserción de este tipo de compuestos dentro de la matriz polimérica se puede dar por varios métodos, entre los más reconocidos se encuentra la aspersion, cuya acción se basa en rociar el agente activo directamente sobre el producto, este es usado con frecuencia cuando se requiere aplicar más de una capa en la superficie; sin embargo, presenta una desventaja frente a los demás ya que produce una activación temprana de las características protectoras y/o funcionales reduciendo el tiempo de acción.

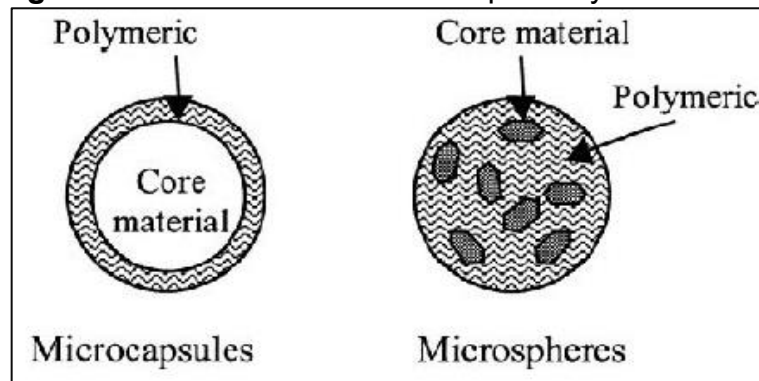
Otro de los métodos estudiados para prolongar el efecto del compuesto es la emulsión la cual se fundamenta en la mezcla homogénea de dos líquidos inmiscibles, uno polar denominado fase oleosa como los aceites esenciales o ceras y otra la fase acuosa resumida en la película polimérica, este método promueve la formación de gotas en el interior de la matriz que contienen la primera fase mencionada, para facilitar su formación se acude al emulsificante capaz de reducir la tensión superficial entre las fases⁸⁵. Como principal desventaja de este proceso se encuentra la afectación que tiene la película con respecto a la permeabilidad al vapor de agua, ya que no logra una distribución uniforme total.

Finalmente está la encapsulación técnica usada para incorporar una sustancia comúnmente llamada material activo en otra denominado agente encapsulante, este método se elige teniendo en cuenta diferentes factores como el material activo, el agente encapsulante, las cantidades de sustancia, el tamaño de cápsula

⁸⁵ MUÑOZ, J. ALFARO, M. Y ZAPATA, I. Avances en la formulación de emulsiones. Grasas y aceites. 2007. Ed 58, Enero – Marzo. Pp,64-73.

y las condiciones de almacenamiento⁸⁶; la encapsulación se clasifica en procesos químicos, generada por compuestos altamente filicos hacia sustancias activas como las ciclodextrinas (CDs), los carbohidratos, las ceras, las proteínas y las gomas con el propósito de desarrollar micrócapsulas dentro de la película polimérica, y los métodos mecánicos como el ultrasonido o la homogeneización a alta velocidad que proporciona una emulsión permitiendo la formación de microesferas que permita una liberación o migración del empaque al producto⁸⁷; la diferencia entre estos métodos se evidencia en la figura 9.

Figura 9. Diferencia entre micrócapsulas y microesferas



Fuente: HERRANZ, G. 2013. Estudio de los mecanismos de reticulación en la obtención de micrócapsulas de gelatina goma-arábica. Proyecto final de grado. UPC. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu>

La implementación a nivel investigativo de la encapsulación por homogeneización puede mezclarse directamente con un agente emulsificante que garantice la perdurabilidad del compuesto dentro de la matriz polimérica, esto sobre todo cuando se cuenta con compuestos activos altamente volátiles que pueden perderse en el paso del tiempo; entre los principales compuestos para encapsular se encuentran los lípidos, usados comúnmente para aumentar la estabilidad del alimento y favorecer su funcionalidad debido a que son sustancias que promueven la actividad antimicrobiana de la cubierta y dan sabor eliminando compuestos amargos; por otra parte, los carbohidratos pueden implementarse como agentes encapsulantes por su baja viscosidad a altas concentraciones, alta solubilidad y disponibilidad al formar parte de muchos sistemas alimenticios.

⁸⁶ MINEMOTO, Y., ADACHI, S., MATSUNO, R. Comparison of oxidation of menthyl linoleate encapsulated with gum arabic by hot air-drying and freeze drying. J agric Food Chem. 1997. vol 45, 4530-4534.

⁸⁷ MATSUNO, R. Y ADACHI, S. Lipid encapsulation technology-techniques and applications to food. Trends in food Science and Technology. 1993. Vol 4. Pp 256-261.

1.6 ANTIMICROBIANOS NATURALES

El uso de antimicrobianos es una práctica común en la industria de alimentos, la capacidad de conservación que presentan incrementa el valor y la resistencia de los productos de interés, proveyendo de características nutricionales y extensivas de la vida útil; en los últimos años se ha evaluado la posibilidad de sustituir las sustancias sintéticas por antimicrobianos de origen natural que representan una mejor aprobación del consumidor y mejores índices en la seguridad alimentaria. La obtención de antimicrobianos naturales generalmente se hace de plantas, especias y hierbas, las cuales atribuyen su capacidad antifúngica a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos y aceites. Estos aditivos no solo han tomado popularidad en la industria alimenticia si no que han demostrado su capacidad como bactericida y fungicida en productos farmacéuticos y agrícolas⁸⁸.

Ejemplos concretos demuestran resultados favorables en la inhibición de microorganismos causantes de la pudrición de frutas y verduras, carnes, lácteos y demás productos altamente degradables; la Universidad del Quindío demuestra uno de estos al evaluar la producción de un empaque biodegradable activo a base de gelatina-PVA para la conservación de lomos de bovino gracias a las propiedades activas de la oleoresina de pimienta negra⁸⁹. Por otro lado la Universidad Nacional de Colombia en apoyo a la estudiante Nathalia Valderrama evaluó el comportamiento de películas comestibles de quitosano y su efecto combinado agregando aceites esenciales de romero y tomillo para el control de cepas como *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* y *B. Cereus*⁹⁰.

Internacionalmente la Revista Mexicana de Ingeniería Química publicó un artículo en el cual se evalúan dos agentes antimicrobianos distintos para el control de *Listeria innocua* y *Staphylococcus aureus*, el sorbato de potasio demostró una inhibición menor contra el aceite de canela en películas de almidón oxidado de plátano, incrementando también la solubilidad del material cuya incorporación del aceite de canela favoreció las permeabilidad al vapor de agua⁹¹; en Ecuador se evaluó el efecto antifúngico de los aceites esenciales de hojas y pericarpio de *Citrus sinensis* y *Citrus nobilis* sobre el crecimiento de los hongos *Rhizopus Stolonifer* y *Colletotrichum gloeosporioides* aislados de papaya Maradol revelando

⁸⁸ COOK, C. M., LANARAS, T. Essential Oils: Isolation, Production and Uses. Encyclopedia of Food and Health. 2016.

⁸⁹ GONZÁLEZ, A. FIGUEROA, K. GARCÍA, A. Y ARIZA, H. Empaques biodegradables inteligentes y activos basados en gelatina-PVA y oleoresina de pimienta negra para la conservación de lomos de bovino. 2015. Disponible en: blade1.uniquindio.edu.co

⁹⁰ VALDERRAMA, N. Evaluación del comportamiento de películas comestibles de quitosano almacenadas bajo condiciones controladas. 2014.. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co>

⁹¹ ROMERO, C. ZAMUDIO, P. Y BELLO, L. Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano: efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructura, propiedades mecánicas y de barrera. 2011. Vol. 10, No. 3, 445-453.

que el aceite esencial de *Citrus sinensis* obtenido de las hojas fue el mejor controlando la proliferación de las dos cepas⁹²; las menciones anteriores son algunos de los estudios realizados donde se pueden observar la diversidad de dichos agentes y el papel vital que tienen en las películas activas. Cabe resaltar que el uso de aceites o extractos esenciales como antimicrobianos naturales se avala bajo el uso de sustancias GRAS (Generally Recognized As Safe) reconocidas por la FDA (*Food and Drug Administration*), las cuales no representan en cantidades pequeñas y controladas ningún tipo de riesgo para el contacto con alimentos o el ser humano⁹³.

1.6.1 Aceites esenciales. Son una mezcla compleja de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas, formándose en las partes verdes del vegetal. Son bastante variables, pertenecientes a dos grupos caracterizados según su origen genético, el grupo de los terpenoides y el grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano los cuales son menos frecuentes⁹⁴.

Su extracción depende del lugar donde se encuentre, ya sea pétalos, hojas, flores, cortezas o frutos, los principales métodos utilizados son: la destilación con agua que lleva a estado de ebullición una suspensión acuosa de un material vegetal aromático, de tal manera que los vapores generados pueden ser condensados y el aceite separado debido a su inmiscibilidad en agua; la destilación arrastre de vapor, que se basa en extraer los componentes volátiles haciendo uso de vapor de agua, para posteriormente separar por medio de un decantador los productos inmiscibles, o bien el método de expresión que es aplicado a los cítricos, se basa en romper las glándulas secretoras del aceite para recolectar de forma inmediata la esencia.⁹⁵

La gran mayoría de especies vegetales producen aceites esenciales, usados frecuentemente como fungistáticos gracias a su capacidad de inhibición en el crecimiento y reproducción de hongos sin recurrir a agentes químicos, actuando sobre las enzimas a nivel de la célula fúngica interrumpiendo el desarrollo metabólico de este, gracias a los antioxidantes que contienen⁹⁶. El mecanismo de

⁹² BAQUE, F. BARZOLA, S. VÁSQUEZ, F. CHÁVEZ, M. MOSQUERA, J. LLAGUNO, S. Potencial antifúngico de *Citrus sinensis* y *Citrus nobilis* sobre el crecimiento de *Rhizopus Stolonifer* y *Colletotrichum gloeosporioides* en papaya. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ciencias de la Ingeniería. 2017. Quevedo, Ecuador.

⁹³ PRAKASH, B. SINGH, P. KEDIA, A. DUBEY, N. Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activities and in vivo efficacy in food system. 2012.

⁹⁴ BRUNETON, J. Farmacognosia, fotoquímica, plantas medicinales. Editorial Acribia. 2001. 2a Edición.

⁹⁵ BANDONI, A. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. 2000. 1ª Edición. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.

⁹⁶ VIVES, F. VENTRIGLIA, D. MEDVEDOVSKY M. Drogas antimicóticas. 2004. Disponible en www.slideshare.net

acción que poseen estas sustancias también ha reportado acción bactericida debido a la degradación de la pared celular, la modificación de proteínas de la membrana citoplasmática, las alteraciones en la permeabilidad de la membrana, la fuga de contenidos celulares y la reducción de ATP intracelular⁹⁷.

Los aceites esenciales son compuestos por aproximadamente 200 constituyentes, de los cuales el 95% tienden a ser volátiles, dicha fracción posee monoterpenos, hidrocarburos sesquiterpénicos y sus derivados; varios autores resaltan que la eficacia de los aceites esenciales recae en la sinergia de sus compuestos, la cual genera “efectos inhibitorios sobre diferentes etapas de la misma vía bioquímica”⁹⁸ que incrementan la sensibilidad hacia otros compuestos, un ejemplo claro se evidencia en la actividad de la mezcla Timol- Eugenol, donde el timol interrumpe y desintegra la membrana externa celular y permite que el eugenol acceda al citoplasma y destruya las enzimas⁹⁹.

1.6.1.1 Aceite esencial de *Thymus Vulgaris*. El tomillo es una planta aromática, vivaz, leñosa, poliforma, perteneciente a la familia Lamiaceae, de clima templado resistente a las heladas y sequías, originaria en los países del mediterráneo occidental, posee una altura que oscila entre los 10 y 40 cm, sus hojas lineares, oblongas, sentadas tienen de 3 a 8 mm, por otra parte, sus flores son pequeñas, de color blanco o rosado, dispuestas en cabezuelas densas y compactas que normalmente aparecen a mediados de primavera, su fruto es un tetraqueno, lampiño, de color marrón.

Este líquido se caracteriza por exhalar un olor agradable y penetrante a timol¹⁰⁰. El aceite esencial de tomillo puede extraerse de las flores, el fruto o las hojas y sus características activas se deben a su composición terpenoide. En la tabla 6 se especifican los componentes que se encuentran en mayor cantidad según el quimiotipo en el aceite esencial de tomillo.

⁹⁷ RADAELLI, M., PARRAGA, B., WEIDLICH, L., HOEHNE, L., FLACH, A. MIRANDA, Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. Brazilian Journal of Microbiology; 2016. Vol 47: pp 424-430.

⁹⁸ YUE, X., SHANG, X., ZHANG, Z. ZHANG, Y. Phytochemical composition and antibacterial activity of the essential oils from different parts of *Hippophae rhamnoides* L. Journal of Food and Drug Analysis; 2017. Vol 25:pp 327-332.

⁹⁹ MARCHESE, A., BARBIERI, R., COPPO, E., ORHAN, I., DAGLIA, M. AJAMI, M. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. Critical Reviews in microbiology. 2017. Vol 34. Pp 56-63

¹⁰⁰ GIL, P. Productos naturales. Universidad Pública de Navarra. 2002. España

Tabla 6. Porcentaje de los principales componentes encontrados en diferentes quimiotipos de *Thymus vulgaris*.

COMPUESTO	QUIMIOTIPO		
	QUIMOL	CARVACROL	LINALOL
Y-TERPINENO	9,9	11,9	0,2
P-CIMENO	18,9	20,8	1,5
LINALOL	3,2	4,1	79
TIMOL	49,8	0,8	0,9
CARVACROL	2	43,9	1,1

Fuente. ZURITA, J., J.C. BARRIENTOS Y L. CHAPARRO. Perspectivas del agronegocio de hierbas aromáticas culinarias y medicinales. Proyecto hierbas aromáticas. 2012. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

En su composición química se puede encontrar ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico en porcentaje alrededor del 1%, ácido caféico y rosmarínico como también triterpenos cercanos a un 3%, saponinas, clorogénico, entre otros componentes con porcentajes irrelevantes como p-cimeno, terpinenos, linalol, borneol, cineol, geraniol y cariofileno ¹⁰¹. El aceite esencial que se logra extraer de las hojas contiene de 20 a 70% de carvacrol y timol componentes vitales en el control de bacterias, en este sentido el quimiotipo predominante no es siempre el mismo como consecuencia al clima donde se encuentran y la composición química del aceite, se han detectado hasta siete quimiotipos.¹⁰²

El uso del aceite de tomillo como agente antimicrobiano y antioxidante se reporta en varias investigaciones relacionadas al control de hongos y bacterias; la Revista Internacional de Microbiología de Alimentos investigó, durante el 2012, el uso de aceites esenciales de *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* y *Thymus vulgaris*, en la preservación de alimentos frescos, concluyendo que el efecto del aceite esencial de tomillo presenta mejores resultados que el sorbato de potasio en la inhibición de la especie *Penicillium*¹⁰³; su uso se extiende también a la conservación de carne bovina¹⁰⁴, antioxidación de pan por medio de nanocápsulas de ceína¹⁰⁵, cuidado microbiológico del queso¹⁰⁶ y con mayor relevancia para esta

¹⁰¹LATORRE, B. Enfermedades de las plantas cultivadas. Alfaomega grupo editor. México 2004. Vol 37, 731-738.

¹⁰²FONNEGRA, R Y JIMÉNEZ S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2006. Editorial Universidad de Antioquia.

¹⁰³ NGUEFACK, J., LEKAGNE, J., DAKOLE, C., LETH, V., VISMER. NKENGFACK, A. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. International Journal of Food Microbiology; 2012 . vol 131: 151-156.

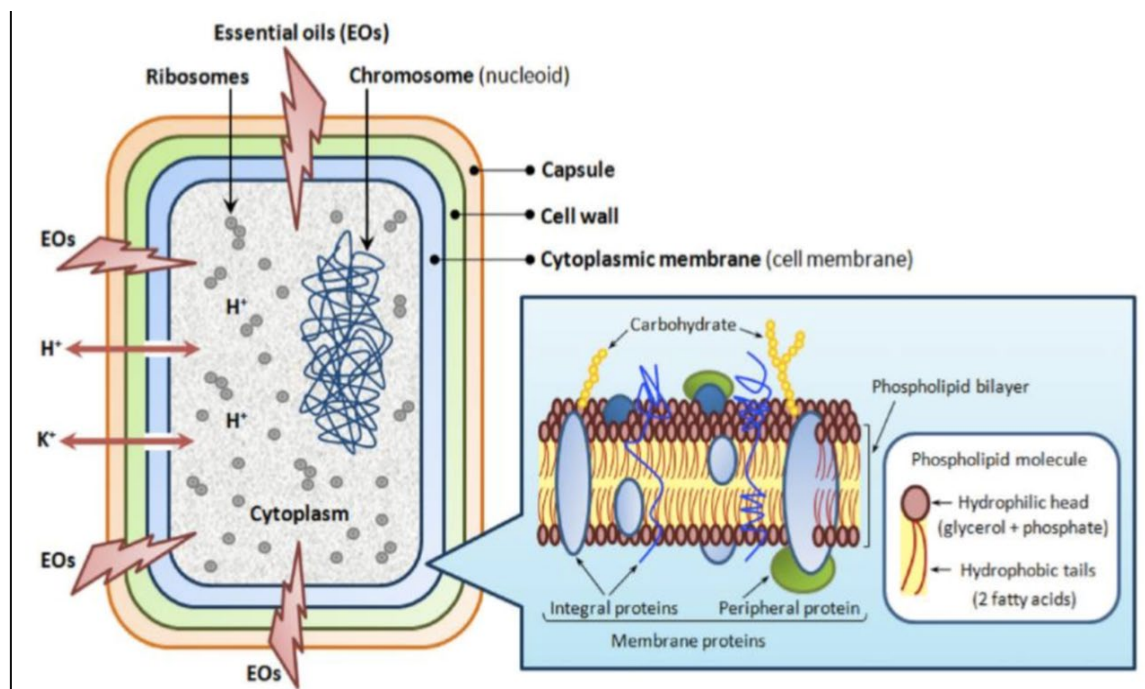
¹⁰⁴Pallabi, B. Shuvam, M. 2019. Polysaccharides from *Thymus vulgaris* leaf: Structural features, antioxidant activity and interaction with bovine serum albumin. International Journal of Biological

¹⁰⁵GONÇALVES, C. ZAPELINI, A. SGANZERL, W. MACHADO, M. RAMOS, M. OLIVEIRA, M. FABIANO, B. Y MANIQUE, L. Aplicación in situ de nanocápsulas de zeína cargadas con *Origanum vulgare* Linneus y *Thymus vulgaris* como conservante en el pan. Hidrocoloides alimentarios. 2020. Vol 99. Disponible en www.Science Direct.com

investigación la actividad antifúngica que presenta contra las especies *Botrytis Cinérea* y *Rhizopus Stolonifer* evaluada por la revista Pergamon en la sección Fotoquímica, cuyos resultados demuestran porcentajes de inhibición de 26.5 a 63.5% y 5.5 a 50.5% respectivamente en concentraciones de 50 a 200 ppm¹⁰⁷.

Por otro lado varios autores como Tongnuanchan (2014), Gameda (2014), Hernández (2014) y Abdalbasit (2016) resaltan que el porcentaje de carvacol contenido en el aceite esencial de tomillo, que ronda por un porcentaje de 45%, tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana contra las bacterias gram-positivas y gram-negativas, las cuales al entrar en contacto con el compuesto presentan una desintegración de las membranas liberando lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática al ATP y diferentes cationes como se muestra en la figura 10.

Figura 10. Efecto de los aceites esenciales en la célula bacteriana.



Fuente: TONGNUANCHAN, P., BENJAKUL, S. Essential Oils: Extraction, Bioactives, and Their Uses for Food Preservation. Journal of Food Science; 2014. Vol 79 (nº7). Pp 1231-1249

¹⁰⁶ LÓPEZ, A. HERRERA, B. SALAZAR, M., ROJAS, F., GAVÍN, V. ESCOBAR, J. Tomillo (*Thymus vulgaris*) como agente antimicrobiano en la producción de queso fresco. Revista Amazónica Ciencia y Tecnología. 2017. Vol. 6, Nº. 1. págs. 45-54

¹⁰⁷ REDDY, M. ANGERS, P. GOSELIN, A. ARUL, G. Caracterización y uso de aceite esencial de *Thymus vulgaris* contra *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* en frutos de fresa. Department of Food Science and Nutrition and Horticultural Research Center, Laval University, Sainte-Foy, Quebec. Bioquímica Ecológica. Fitoquímica. 1997. Vol 47 nº 8. Pp 1515-1520. Disponible en www.Science Direct.com

1.6.1.2 Aceite esencial de *Syzygium aromaticum*. El clavo o también llamado clavero son los capullos sin abrir de la planta que lleva popularmente el mismo nombre, se cosechan cuando las hojas verdes externas han cambiado a un color amarillo-rosa, con una altura que ronda entre los 10 a los 20 cm, es originario de Indonesia y naturalmente florece dos veces al año.

El aceite esencial de clavo es un líquido incoloro o de color amarillo-marrón claro; tiene un aroma característico y sabor pungente, es miscible en etanol y en dietil éter, es ligeramente miscible en agua y adquiere un color marrón con el envejecimiento o en contacto con el aire¹⁰⁸. Este aceite ha sido ampliamente estudiado por su alto rendimiento y eficacia contra los mohos, levaduras y bacterias; es considerado como un aceite que posee actividad antioxidante, mostrando resultados de antioxidación directamente proporcionales a la concentración añadida¹⁰⁹. Uno de los métodos más utilizados para la extracción del aceite de clavo es la destilación por arrastre de vapor puesto que se logra extraer la mayor parte de todos los componentes volátiles de la especie.

La actividad antimicrobiana del aceite esencial de clavo se debe a los compuestos fenólicos presentes, de este modo a mayor cantidad de compuestos fenólicos en el aceite esencial la actividad antimicrobiana será mayor. El quimiotipo presente en este aceite es el eugenol en una cantidad alrededor del 50 al 98% de la composición total del aceite¹¹⁰. Otros componentes con actividad antimicrobiana que se pueden encontrar en el aceite de clavo son: β -cariofileno, α -humuleno y acetato de eugenol.¹¹¹

La actividad antifúngica del aceite esencial de clavo, no sólo se ha probado *in vitro*, también ha sido estudiada en alimentos, con el fin de probar su eficacia como conservador o antimicrobiano, por ejemplo, Omid Beygi emplea los aceites de tomillo, ajedrea y clavo en pasta de tomate como conservante alternativo; los resultados de inhibición después de la adición de 500 ppm de cada aceite fueron de 87%, 59% y 48% para tomillo, ajedrea y clavo respectivamente¹¹², su uso también se ha implementado en la conservación de carne picada como formulación encapsulada para controlar el fuerte aroma característico que despide, cuyos resultados de inhibición de bacterias patógenas demuestra efectividad alta a

¹⁰⁸ REDACCIÓN LOZANO. Clavo: *Syzygium aromaticum*. Esencias Martinez Lozano S.A. Productor de aceites esenciales. 2012. Disponible en www.esenciaslozano.com

¹⁰⁹BUGNO, A. ALMODOVAR, T. CALDAS, T. PINTO, M. SABINO. Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. *Microbiol.* 2006. vol 37 nº 1, pp. 317-326

¹¹⁰DAVIDSON, P.M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. 1997 en: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington D.C., EE.UU., 520-556.

¹¹¹REGNAULT-ROGER, C., PHILOGÉNE, B. J.R., VICENT, C. 2004. *Biopesticidas de origen vegetal*. 1ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

¹¹²OMID BEYGI, M. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 2007. Vol 18, 1518–1523.

comparación del nitrito tradicionalmente utilizado¹¹³. También se ha relacionado como agente antioxidante de las leches fermentadas demostrando efectividad y buena aceptación sensorial¹¹⁴.

En la industria hortofrutícola el aceite de clavo se implementa en recubrimientos para la conservación de berenjena, melón y frutas de bajo pH, cuya actividad fúngica es altamente sensible, generando pudrición de los tejidos¹¹⁵. El comportamiento registrado en la evaluación de aceites destinados a la conservación de frutas en post cosecha demuestra el uso efectivo de eugenol presente en el aceite de clavo para el control de especies fúngicas como *Rhizopus Stolonifer* y *Mucor racemosus*¹¹⁶.

El método de acción para el aceite de clavo se relaciona directamente con la cantidad de eugenol presente; estudios previos demuestran que este compuesto actúa mediante el aumento de permeabilidad no específica de la membrana del microorganismo afectando el transporte de iones y ATP, también se reconoce la capacidad de desencadenar la citotoxicidad celular debido a la producción de oxígeno reactivo intracelular que induce en el crecimiento de la célula, la disrupción de la membrana celular y el daño del ADN¹¹⁷.

1.6.2 *Rhizopus stolonifer*. Es un hongo saprofito o parásito altamente infeccioso que se propaga en su mayoría en frutas con alto contenido de azúcar, carnosas y alta humedad como las fresas, los duraznos, las cerezas y una gran parte de las cucurbitáceas, causando el ablandamiento y la deshidratación de los tejidos externos e internos del fruto hasta que se arrugan y se momifican¹¹⁸.

Su clasificación taxonómica se desglosa en la figura 11; al inicio del crecimiento de la hifa se evidencia una textura blanca algodonada que cubre las heridas o partes húmedas produciendo grupos de esporangioforos filamentosos de color gris que con el tiempo desarrollan esporangios blancos cuya maduración resulta en puntos negros capaces de transportarse por medio del aire para infectar otros productos.

¹¹³RADÜNZ, M. MARTINS, M. CAMARGO, T. RADÜNZ, A. BORGES. AVILA, G. HELBIG. Actividad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial de clavo sin encapsulado y encapsulado (*Syzygium aromaticum*, L.). Química de alimentos. 2019. Vol 276. Pp 180-186

¹¹⁴RODRIGUES, L. RAMOSA. SANTOS, S. ANDRESSA, H. VALESEC, C. GOMES, D. Analytical optimization of a phenolic-rich herbal extract and supplementation in fermented milk containing sweet potato pulp. Food chemistry. 2017. Vol 221. Pp 950-958

¹¹⁵ GUYENOT, A.J. RAMOS, L. SETO, P. PURROY, V. SANCHIS, S. MARIN. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. Appl. Microbiol., 2003. vol 94, pp. 893-899

¹¹⁶ MARCHESI, ANNA & BARBIERI, et al. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. Critical reviews in microbiology. 2017. Vol 43. 1-22.

¹¹⁷TORO, V. GIRALDO, L. Aceites esenciales en la conservación de alimentos. Programa de Microbiología. Universidad Libre Seccional Pereira Microciencia. 2017. Vol 6. Pp 38-50.

¹¹⁸ FARRERA P, R.E; ZAMBRANO V, A.E y ORTIZ M, F.A. Op cit. Pag 24

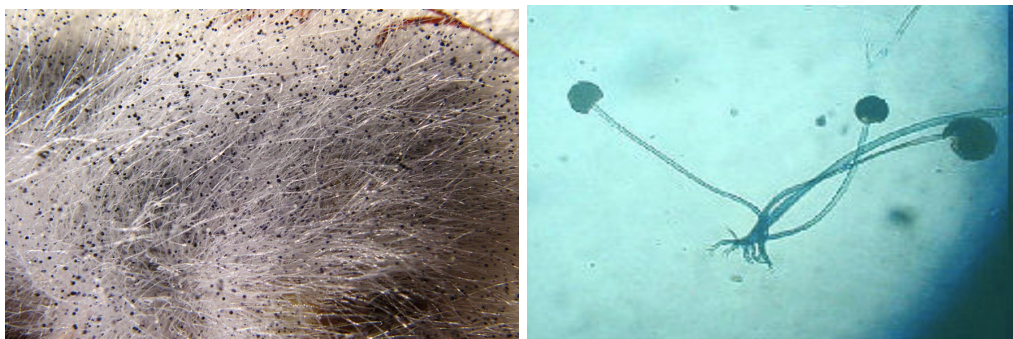
Figura 11. Clasificación taxonómica de *Rhizopus Stolonifer*

Reino	Mycetae
División	Eumycota
Subdivisión	Zygomycotina
Clase	Zygomycetes
Orden	Mucorales
Familia	Mucoraceae
Genero	<i>Rhizopus</i>
Especie	<i>Stolonifer</i>

Fuente. ALEXOPOULUS, C. C, W MIMS y BLACKWELL, M. Introductory micology. John Wiley Sons, Inc. 1996. Cuarta edición, New York, USA. Pp 865

Este microorganismo es capaz de reproducirse de forma sexual y asexual, distinguido por su apresurado crecimiento colonizando la superficie de productos hortofrutícolas provoca la infección conocida como pudrición blanda. Este desarrolla un micelio aéreo con esponjas en sus extremos para hospedar las esporangiosporas, las cuales se diseminan en el aire hasta encontrar condiciones propicias como humedad relativa alta para germinar y extenderse produciendo una aglomeración de color gris con blanco¹¹⁹, dichas esporas tienden a subsistir sin agua y tolerar temperaturas altas durante largos tiempos. Su supervivencia en el suelo es de manera saprófita, soporta temperaturas alrededor de 10 °C a 33 °C siendo afectado por temperaturas bajas menores a 5°C, su aspecto se puede describir como un algodón de coloración gris como se muestra en la figura 12.

Figura 12. Micelio, esporangióforos y esporangios de *Rhizopus stolonifer*.



Fuente: FARRERA P, R.E, ZAMBRANO V, A.E, & ORTIZ M, F.A. Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 2007. vol 24(nº2), pp 269-281. Disponible en <http://ve.scielo.org/scielo.p>

¹¹⁹ HERNÁNDE, A.N. BAUTISTA, S. VELÁZQUEZ, M.G. y TREJO, J.L. Identification of *Rhizobium stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, causal agent of *Rhizopus* rot disease of fruits and vegetables. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2006. Vol 24: 65–69.

El *Rhizopus stolonifer* degrada y disuelve las pectinas de la membrana celular por acción de la excreción de enzimas pépticas¹²⁰, macerando los tejidos hasta invadir el fruto y los cercanos estableciendo una pudrición total en un tiempo corto de 4 días; este microorganismo ataca con mayor facilidad a frutos maduros o dañados. Estas lesiones ocurren debido a un mal manejo en las etapas de cosecha y transporte, siendo fases susceptibles para la infección del hongo.

Este hongo fitopatógeno es bastante evidente en la infección de fresas postcosecha por el alto contenido de humedad y azúcar que se encuentran en el, así mismo la recolección y el medio de transporte generan daños en el tejido superficial creando medios perfectos para la germinación de las esporangiosporas transportadas por el viento.

En una amplia escala, este hongo se ha tratado con fungicidas como Diclorano, Fludioxonil y Benomil, pero a lo largo del tiempo estudios han demostrado una evolución de la cepa desarrollando una resistencia a productos químicos, problemas ambientales y reacciones de salud que ocasionan en las personas alergias y problemas gástricos; por lo tanto muchos de los productores se han visto obligados a recurrir a otros controles como soluciones de ácido peracético, gases con características antimicrobianas como óxido nitroso y alternativas naturales como antagónicas microbianas y productos vegetales como quitosano o aceites esenciales¹²¹.

1.7 PROPIEDADES DE BARRERA

La estructura y composición química del polímero, está relacionada en gran medida con las especificaciones mínimas que requieren los productos para su comercialización, muchas veces los materiales poliméricos deben cumplir con la capacidad de enfrentar cualquier ataque químico, biológico y físico a los que sean expuestos; las barreras más importantes para garantizar la frescura de productos mínimamente procesados recaen en las propiedades de barrera frente a la humedad y la permeabilidad frente a los gases como: oxígeno, dióxido de carbono y metano, que afectan a la frutas y hortalizas en el proceso de maduración¹²².

¹²⁰ BAUTISTA, S., HERNÁNDEZ, M. y BARRERA, L. Antifungal screening of plants of the State of Morelos, México against four fungal postharvest pathogens of fruits and vegetables. Revista Mexicana de Fitopatología. 2000. Vol 18:36–41.

¹²¹ NORTHOVER, J. y ZHOU, T. Control of *Rhizopus* rot of peaches with postharvest treatments of tebuconazole, fludioxonil, and *Pseudomonas syringae*. Canadian Journal of Plant Pathology . 2002. Vol 24:144–153.

¹²² LIN, D. y ZHAO, Y. Innovations in the development and applications of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2007. Vol 6 (nº3): 60-71

Las permeabilidades de un material está directamente relacionadas con el espesor y la solubilidad de la misma; la alta degradación en agua puede traducirse en barreras pobres a la humedad y espesores muy pequeños que llevan a materiales con porosidades altas.

1.7.1 Solubilidad en agua. Las películas derivadas de residuos industriales, con matrices poliméricas lignocelulósicas se caracterizan por su buena permeabilidad a los gases; sin embargo, al poseer compuestos polisacáridos y dada la naturaleza hidrofílica de los mismos, la degradación por acción del agua es bastante rápida y pueden presentar valores de solubilidad bastante altos¹²³. Una de las desventajas más problemáticas en este tipo de materiales recae en la afinidad de los compuestos formadores y el plastificante los cuales influyen notablemente en las propiedades de solubilidad al poseer alta miscibilidad en agua y solventes polares.

1.7.2 Permeabilidad al vapor de agua (PVA). La Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA por sus siglas) es un fenómeno de difusión que se presenta en los materiales con porosidades o imperfecciones poliméricas; se define como la cantidad de vapor de agua que atraviesa un material de espesor, cuya transmisión es provocada por la diferencia de presión en ambos lados del material, bajo ciertas condiciones de temperatura y humedad relativa¹²⁴.

Existen dos mecanismos para la transferencia de vapor de agua, el primero es el transporte de flujo laminar que implica el paso de moléculas a través de poros o bien, defectos propios del material de envase y segundo es el proceso de permeabilidad por difusión¹²⁵.

La medición de la cantidad de vapor de agua que puede atravesar un material es de las variables más importantes en la conservación de humedad natural del producto y su resistencia al paso del tiempo, la disminución en el valor del PVA representa una de las metas más ambiciosas en el mejoramiento de los recubrimientos; valores pequeños de permeabilidad son indicativos del tiempo de frescura y crocancia de muchos productos secos, así mismo representan larga vida de anaquel para productos mínimamente procesados¹²⁶. La PVA se ve afectada por las propiedades intrínsecas al polímero como la estructura química, el método de preparación de los polímeros, el volumen libre del polímero, el

¹²³VARGAS, M., *et al.* Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. Critical reviews in food, science and nutrition. 2008. Vol 48 (nº6).496-511

¹²⁴KESTER, J.J. y FENNEMA, O.R. Edible films and coatings; a review. Food Technology. 1986. Vol 40(nº 12):47-59

¹²⁵LACROIX, M. Mechanical and permeability properties of edible films and coatings for food and pharmaceutical applications. 2009. En: Embuscado M.E. y Huber, K.C. (Ed). Edible films and coatings for food applications. Springer, New York. P. 347-366.

¹²⁶QIU, PING, Z. Y WEN SHUI X. Physicochemical properties of edible and preservative films from Chitosan/Cassava Starch/gelatin blend plasticized with glycerol. Food technology and biotechnology. 2008. Vol 46 (nº3). 262-269

porcentaje de cristalinidad, la polaridad, la reticulación e impresión, orientación y la presencia de aditivos.

Para evitar alteraciones en el alimento como cambio de textura indeseable, crecimiento microbiano, reacciones deteriorativas química y enzimáticas donde el principal culpable son los niveles críticos de agua, se debe garantizar que el material posea características de permeabilidad bajas; la resistencia a la humedad puede considerarse como la propiedad más importante de los empaques activos, resaltando la necesidad de involucrar materias primas que sean insolubles en agua, para evitar el daño en los tejidos del alimento, su oxidación, pudrición y demás.¹²⁷

1.7.3 Permeabilidad a los gases. En términos generales los alimentos requieren condiciones específicas en su ambiente para mantener la calidad y seguridad con la que son dispuestos para consumo, para ello es necesario un empaque que desarrolle un límite en el paso de gases como el oxígeno, dióxido de carbono y metano, o bien permita la respiración controlada del producto.

Por lo tanto una película que genera una permeabilidad selectiva de gases, favorece el control en el intercambio respiratorio, desarrollo microbiano y la generación de reacciones no deseadas ya sean de tipo químico o enzimático (según el alimento a proteger), asimismo permeabilidades bajas al oxígeno son utilizadas para aquellos alimentos que pueden sufrir oxidaciones fácilmente, por otra parte, el producto pertenece al grupo de hortofrutícolas frescas necesita una permeabilidad relativamente alta para facilitar la transpiración¹²⁸.

1.8 PROPIEDADES MECÁNICAS

Los polímeros más demandados en el mercado se caracterizan por cumplir con características de resistencia tensil altas, uno de los retos más sobresalientes en la industria de los nuevos plásticos se evidencia en replicar las propiedades de los materiales convencionales sin requerir de las fuentes tradicionales de estos; los biopolímeros desarrollados a partir de fuentes renovables como los polisacáridos y las proteínas presentan pobreza en dichas características por lo tanto en la producción de películas se recomienda la combinación de monómeros de las

¹²⁷GUARDA, A, *et al.* (2001) Propiedades físicas de materiales plásticos. Editorial, Acribia. España. Pp 285- 308.

¹²⁸GUILBERT, S., GONTARD, N. Y CUQ, B. Technology and applications of edible protective films. Packaging Technology and Science. 1995. vol 8: 339-346

diferentes matrices con el fin de aprovechar las propiedades de cada compuesto y la sinergia entre los componentes implementados¹²⁹.

El estudio de propiedades mecánicas es recomendado en la caracterización de los materiales porque permite predecir la respuesta de un cuerpo cuando se somete a fuerzas externas que generan relaciones de tipo tensorial con la deformación que sufre el material; de las pruebas internacionalmente aceptadas, la más empleada es el ensayo de tracción uniaxial, el cual permite recolectar datos relevantes para un primer estudio de materiales y se rige bajo las normas internacionales de la American Society for Testing and Materials.

Las principales propiedades mecánicas que permiten al biopolímero adaptarse a los requerimientos comerciales son: la resistencia a la tensión, la cual refiere a la fuerza máxima aplicable por unidad de área antes que la película tenga rupturas; el porcentaje de elongación, el cual mide la capacidad de estiramiento que tiene una empaque antes de su fractura y por último el módulo elástico que permite saber la flexibilidad o fragilidad del material, los valores de modulo de young grandes indican que el material es frágil y valores pequeños indican que es flexible¹³⁰.

Dichas propiedades son sumamente importantes para garantizar la vida en anaquel del producto; en general, un envase para alimentos debe ser un material no excesivamente deformable, para proveer integridad estructural o reforzar la estructura alimenticia o, por el contrario, una película altamente deformable para aplicaciones tales como envoltura de alimentos.¹³¹

En el desarrollo de películas se establecen normalmente valores pequeños de módulo elástico con el fin de desarrollar un material flexible, delgado y con altas resistencias de estiramiento de tal manera que se puedan cubrir los alimentos y garantizar su cuidado; sin embargo, muchas de las formulaciones que se desarrollan en las películas extraídas de la biomasa se ven limitadas por las fuertes redes moleculares cohesionadas por una alta interacción entre sus moléculas generando materiales rígidos con facilidad de quiebre, para lo cual se implementan cadenas lipídicas o aditivos como los plastificantes que logran mejorar gracias a la plastificación de la red polimérica la flexibilidad del material¹³².

¹²⁹ALTENHOFEN, M. KRAUSE, A. C. GUENTER, T. Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca⁺² ions: Effect of the plasticizer concentration. Carbohydrate polymers. 2009. Vol 77, 736 - 742.

¹³⁰NINNEMANN, K.W. Measurement of physical properties of flexible films. The Science and Technology of Polymer Films. Interscience: Londres, Inglaterra. 1968. P. 546-646.

¹³¹MALI, S, *et al.* Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. Carbohydrate Polymers. 2004. Vol 56: 129-135.

¹³²FRANSSEN L. KROCHTA J. Edible Coatings containing natural antimicrobials for processed foods. En S. Soller, Naturals antimicrobials for the minimal processing of foods. Boca Ratón, Florida: CRC Press. 2003.

Así pues, teniendo en cuenta estos requerimientos, se pueden realizar modificaciones a la red del polímero abarcando una plastificación interna en donde se pueden implementar dos métodos para modificar la estructura química del polímero ya sea por la co-polimerización, hidrogenación selectiva o transesterificación o el segundo método que se refiere a una plastificación externa mediante la adición de agentes plastificantes modificando la organización y la energía involucrada en la formación de la estructura tridimensional de la película polimérica.¹³³

1.8.1 Espesor. La medición del espesor es un factor importante en la resistencia y la permeabilidad de los materiales poliméricos, se presenta como un valor limitante en la caracterización de los films. Según la norma ASTM D882 el espesor nominal máximo de las películas debe ser de 0,25 mm¹³⁴. Según la norma mexicana NMX-E-114. las unidades de dicho espesor para las películas plásticas tienen que ser de 0,10 mm, 0,15 mm o 0,20 mm.

1.8.2 Módulo de Young o elasticidad. Un material se caracteriza como película si posee características de flexibilidad elasticidad, ductilidad y bajo espesor; la norma internacional para la caracterización de materiales define un límite de 0,250 mm para el espesor de materiales plásticos denominados películas y especifica que dichos materiales deben presentar capacidades elásticas con el fin de adaptarse al producto de empaque. Así pues, se determina el módulo de Young o módulo de elasticidad para materiales lineales con el fin de determinar la capacidad elástica y la relación entre la fuerza aplicada y la deformación del material definida en unidades de presión (Pa, MPa, GPa); los valores altos en el módulo de elasticidad indican un nivel superior de rigidez, mientras los valores pequeño son indicativos de elasticidad.

¹³³GUILBERT, S. GONTARD, N. Y CUQ, B. Technology and applications of edible protective films. Packaging Technology and Science. 1995. Vol 8: 339-346

¹³⁴American Society for Testing and Materials (ASTM). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D 882 .Annual book of ASTM standards, Philadelphia, USA. 1995. 182-189

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Establecer adecuadamente el método de síntesis y sus variables dependientes e independientes de proceso es sumamente vital en la elaboración de un material con calidad y propiedades adecuadas; a continuación se expone de manera detallada el procedimiento metodológico a seguir en la experimentación de este trabajo de investigación con el fin de establecer de manera clara cada etapa, su procedimiento, las normas vigentes que los rigen y los materiales, métodos, equipos e instrumental requerido, recopilado de manera estricta en el cuadro 1.

Cuadro 1. Materiales, Reactivos, Equipos e Instrumental

Materiales y Reactivos	Equipos e instrumental
<ul style="list-style-type: none">• Cáscaras y albedo de naranja valencia en etapa de maduración.• Pectina de alto metoxilo marca Thermo Fisher Scientific• Colágeno bovino hidrolizado marca Johnson• Agua destilada grado II conductividad de menos de 1.0 μS / cm a 298 K• Ácido Acético marca Glacial al 100%• Glicerol grado alimenticio al 98% marca RVR• Cloruro de calcio deshidratado marca Chemical• Aceite esencial de <i>Thymus Vulgaris</i> marca Green Andina Colombia (53,7% Timol)• Aceite esencial de <i>Syzygium aromaticum</i> marca esenciales de Colombia. (62% Eugenol)• Agar, papa, dextrosa (PDA) marca Microgen.• Tweed 80• Alcohol Etilico al 98 %	<ul style="list-style-type: none">• Horno de convección forzada• Molino de discos marca Corona• Tamices 20, 40, 100 marca Standard• Placa de calentamiento y agitación magnética.• Seda de tramado 55 puntos• Micropipeta marca Boeco• Homogeneizador UltraTurrax T-10 Basic• Placas de vidrio liso 30x30x1 cm• Micrómetro digital marca blue point• Recipientes de vidrio (Celda de control)• Placa de agitación continua• Balanza analítica• Papel filtro cualitativo• Cámara ambiental• Termo higrómetro digital (Temperatura- Humedad)• Máquina universal de ensayos marca Shimadzu• Placas Petri con medio PDA• Cámara de desinfección ultravioleta• Asas de siembra palatina

Fuente. Elaboración propia

2.1 PRETRATAMIENTO MATERIA PRIMA

La extracción de los compuestos lignocelulósicos de la cáscara de la naranja se realiza mediante la disminución de partícula en método seco con el fin de facilitar la homogeneización del residuo en el solvente; este pretratamiento de la materia prima es un paso fundamental para la extracción y aprovechamiento de todos los compuestos presentes en la biomasa y la facilidad para esparcir y recolectar las soluciones filmógenas.

Un pretratamiento efectivo requiere de tres pasos principales: el lavado para eliminar impurezas y contaminantes, el secado para la reducción de la humedad natural del material y por último la molienda para generar una harina capaz de homogeneizar de manera rápida y no afectar críticamente la opacidad y características visuales de las películas. En la tabla 7 se presentan las composiciones de la biomasa a implementar como matriz en la película, con el fin de garantizar la presencia de compuestos lignocelulósicos.

Tabla 7. Caracterización química de las cáscaras de naranja valencia.

Componente	Cantidad (g/100 g)
Humedad	9,9 ± 0,0
Cenizas	2,6 ± 0,0
Proteínas	4,0 ± 0,0
Lípidos	0,6 ± 0,5
Fibra dietética total	41,5 ± 0,0
Fibra dietética soluble	18,6 ± 0,8
Fibra dietética insoluble	22,9 ± 0,6
Almidón total	7,1 ± 0,4
Fracción total no digerible	59,1 ± 0,2
Fracción indigerible soluble	20,2 ± 0,2
Fracción indigerible no soluble	38,9 ± 0,2

Fuente. HA, M, JARVIS, MC, MANN, JL. A definition for dietary fibre. Eur J Clin Nutrition .2000. vol 54:861-864

Los compuestos como la celulosa y la lignina se encuentran comprendidos dentro de la fibra dietética total, la cual está conformada en su mayoría por hidratos de carbono complejos y lignina e involucra biomasa lignocelulósica presente en la materia de las paredes celulares vegetales¹³⁵.

¹³⁵HA M, JARVIS MC, MANN JL: A definition for dietary fibre. Eur J Clin Nutr 2000; 54:861-864

2.1.1 Lavado, secado y trituración. Se recolecta la materia prima seleccionada de la variedad de naranja valencia en etapa de maduración en la central de abastos de Bogotá, Colombia. Estos residuos son lavados y desinfectados con agua a 70 ± 5 °C y despojados de las partes internas como las vesículas oleíferas, las semillas, el tabique y el endocarpio, dejando como materia prima el exocarpo y el albedo; estos últimos se lavan con agua fresca y se secan a radiación solar durante 48 horas. Una vez se obtiene el residuo limpio y seco se realiza una trituración manual de las cáscaras para facilitar el proceso de molienda y se disponen dentro de un molino de discos para la reducción del tamaño a un máximo de 900 µm. El procedimiento indicado es una modificación de Aguilar¹³⁶.

2.1.2 Tamizaje. El proceso de cribado se realiza con el fin de separar y clasificar el resultado de la molienda por tamaños de partícula, la selección de este tiene una fuerte influencia en la estructuración de las películas, valores pequeños permiten encadenar redes más homogéneas de manera que la superficie de la película sea más lisa y la estructura interna más fuerte, esto se ve reflejado en materiales con menor opacidad, más brillantes, con mejores propiedades mecánicas y permeabilidad a los gases¹³⁷. Los tamices implementados en este cribado son los ASTM cuyo marco de precisión asegura la capacidad de anidación constante bajo las normas dispuesta vigentes ISO 3310-1 y ASTM E11¹³⁸.

2.2 OBTENCIÓN DE LA SOLUCIÓN FILMÓGENA

Posteriormente al pretratamiento de la materia prima se disponen los materiales formadores y aditivos, especificados en la tabla 8. en aproximaciones porcentuales para las formulaciones¹³⁹.

Tabla 8. Compuestos formadores y aditivos para la formulación base.

Componente	Porcentaje
RAI	7- 25 %
Solvente	50-70%
Plastificante	13-60%
Reticulante	2-5%
Agente gelificante	5-8%

Fuente. Elaboración propia

¹³⁶AGUILAR. Op cit . pag 45

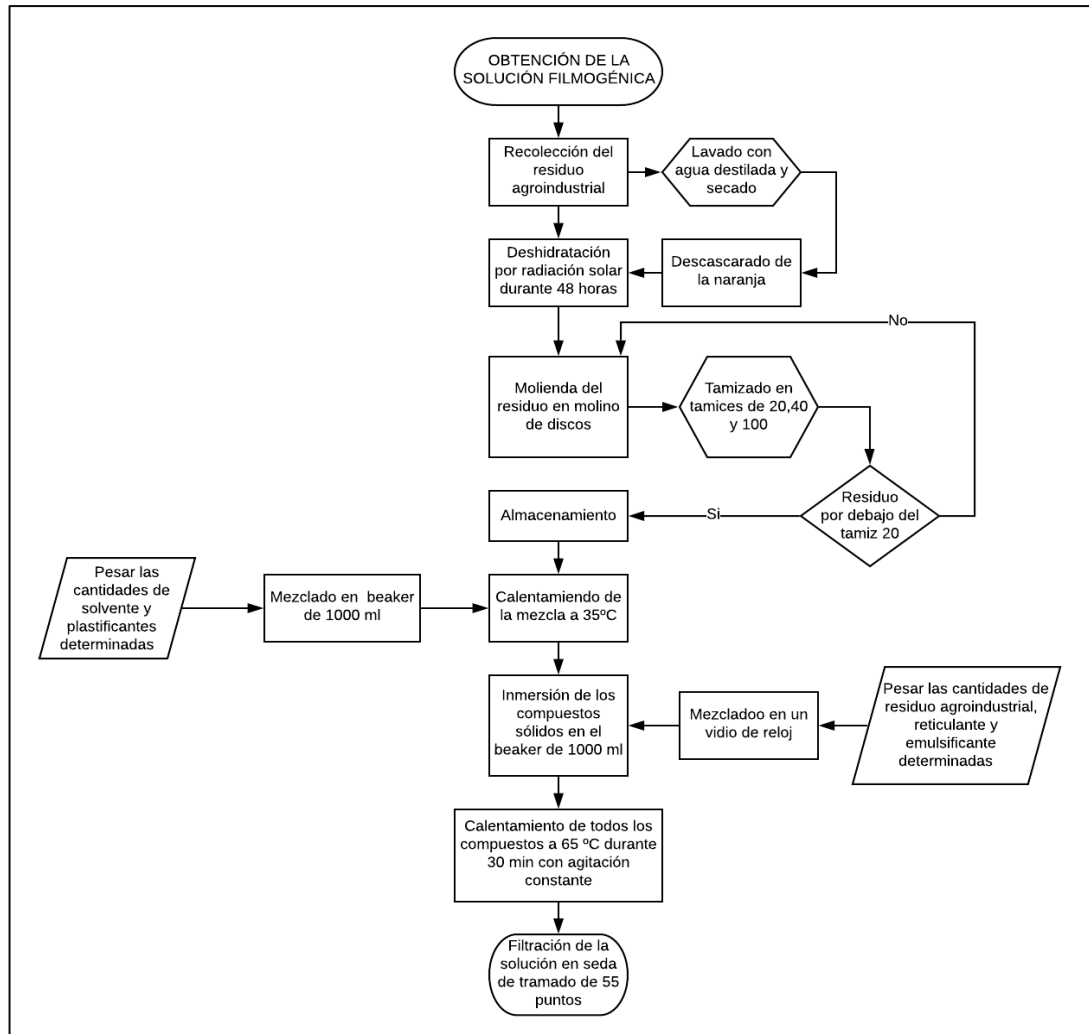
¹³⁷ODIAN, George. Mechanical Properties of Polymers. 1991. 3 ed., J. Wiley N.Y (USA)

¹³⁸ASTM E11-20. 2020. Standard Specification for Woven Wire Test Sieve Cloth and Test Sieves, ASTM International, West Conshohocken, PA, Disponible en www.astm.org

¹³⁹ M. F. Domínguez-Courtney y M. T. Jiménez-Munguía. Películas comestibles formuladas con polisacáridos: propiedades y aplicaciones. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 6 - 2 (2012): 110 - 121

la polimerización se lleva a cabo por la reticulación de las cadenas polisacáridas presentes en el residuo como estipula Rutiaga en su tesis doctoral para la elaboración de películas¹⁴⁰, así mismo se añade un compuesto emulsificante con el fin de crear una solución densa que permita el atrapamiento del compuesto activo y la elaboración de películas más gruesas al momento de la extensión. El procedimiento para la obtención de la SF se resume en el diagrama 5.

Diagrama 5. Obtención de la solución filmógena por método húmedo.



Fuente. Elaboración propia

La biomasa lignocelulosa obtenida se pesa en una cápsula de vidrio junto con el agente gelificante y el aditivo reticulante; paralelamente se disponen en un Beaker

¹⁴⁰RUTIAGA QUIÑONES, Olga Miriam. Elaboración de películas plásticas flexibles a partir de polímeros naturales como una alternativa de empaque y la evaluación de sus propiedades. 2002. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León.

de 500 mL el solvente y el plastificante y se precalientan a 35°C con el fin de facilitar la inmersión de los compuestos secos; se mezclan el RAI, el agente reticulante y el gelificante con la solución precalentada y mediante agitación constante de 900 rpm se lleva a una temperatura máxima de $65 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 30 minutos. Una vez obtenida la solución filmógena tratada se filtra con seda de tramado de 55 puntos para retirar posibles sólidos, aglutinamientos y obtener una solución homogénea clarificada que se enfría a una temperatura no menor a 15°C para evitar la desintegración térmica presente en las cascarras de naranja y agregar la concentración predeterminada de los aceites esenciales sin generar la volatilización de los compuestos activos presentes en estos.

2.3 SÍNTESIS DE LA FORMULACIONES PRELIMINARES

El método implementado para la elaboración de las películas se denomina método *casting*¹⁴¹, comúnmente utilizado para la formulación de películas ya que garantiza propiedades con gran valor, por ejemplo la transparencia del material por la dispersión de la SF en películas finas, la adaptación al residuo agroindustrial de interés, la uniformidad en la superficie de las películas poliméricas, la eliminación del solvente orgánico de la formulación a temperatura y humedad controladas y la fácil y económica recolección de las películas. El método se basa en la obtención de soluciones filmógenas y posterior extensión sobre moldes limpios, desinfectados y predeterminados con el fin de volatilizar el solvente implementado para generar films delgados y de espesor apto para películas (menor a 250 micrómetros); es importante controlar la viscosidad de las soluciones, ya que se han registrado dificultades en la volatilización del solvente, la espesura y la dispersión del material.

2.4 HOMOGENEIZACIÓN DEL COMPUESTO ACTIVO EN LA SF

El método de encapsulación para los compuestos activos del tipo oleicos como los aceites esenciales recae en la homogenización a altas velocidades, el cual se consigue una vez la solución filmógena clarificada y la concentración de aceite determinada para la formulación se homogeniza mediante un UltraTurrax a 10000 rpm durante 3 minutos según indica Gende et al¹⁴².

2.5 SÍNTESIS DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS

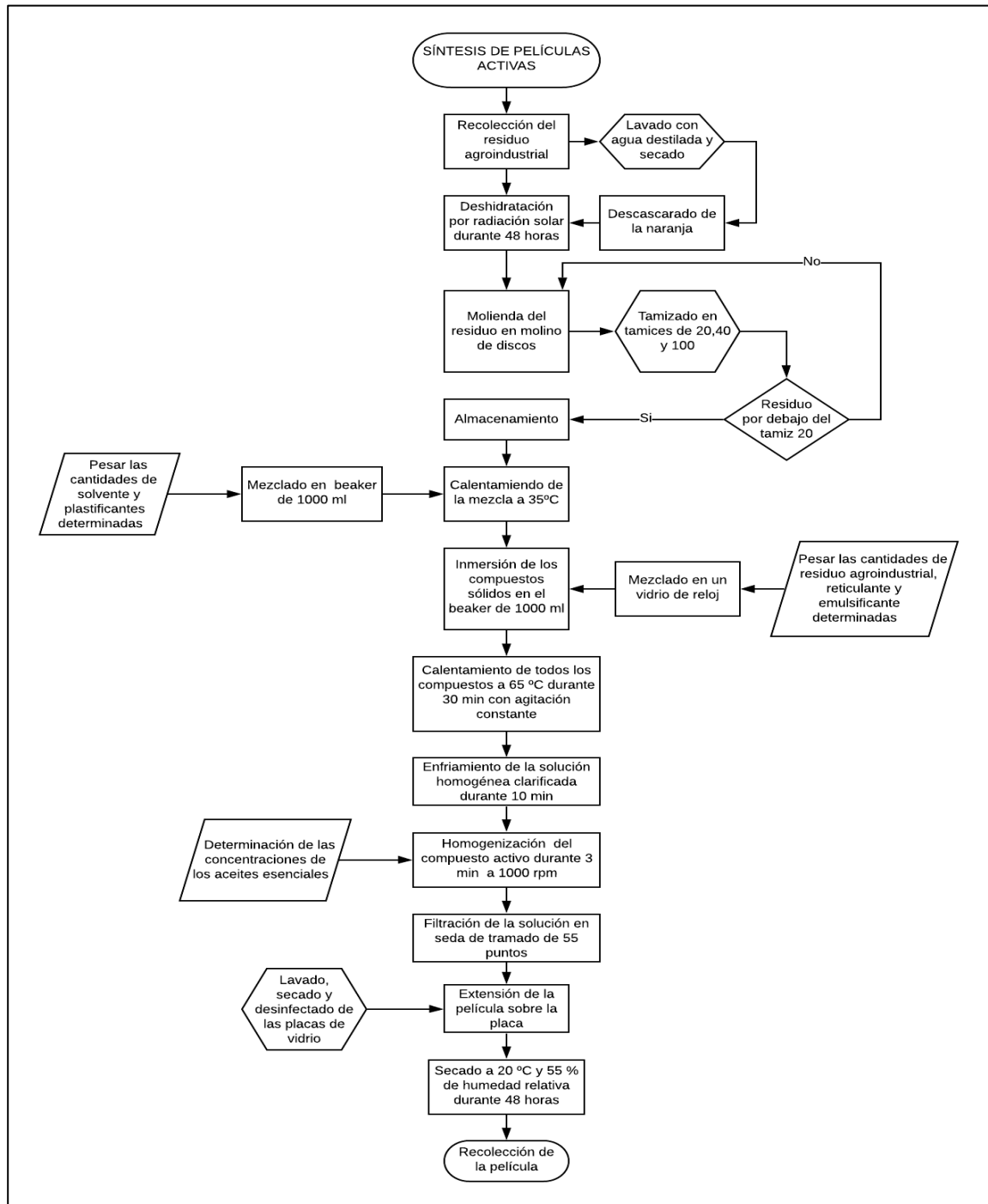
Replicando la metodología del numeral 2.2, se integra el compuesto activo mediante la homogenización a altas velocidades y la incorporación de un agente

¹⁴¹ LENCETA. Op cit. Pag 56

¹⁴² GENDE. Op cit. Pag 40

emulsificante; el procedimiento correspondiente a la síntesis de las películas activas se especifica en el diagrama 6.

Diagrama 6. Metodología para la síntesis de películas activas derivadas de cáscara de naranja con aceites esenciales como compuesto activo.



Fuente. Elaboración propia

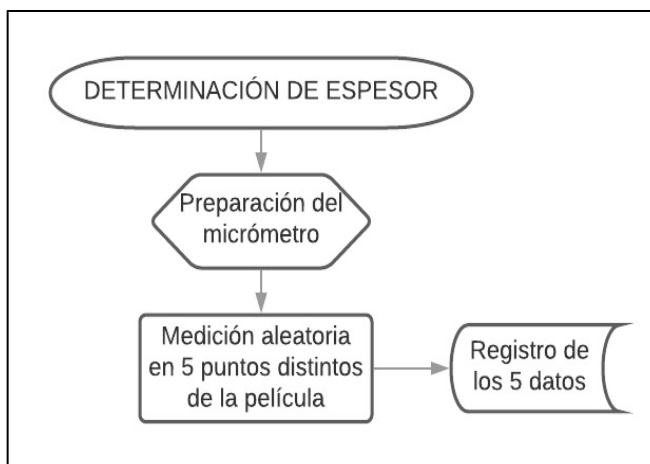
2.6 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE BARRERA

La implementación de películas poliméricas en el mercado se debe en su mayoría a las capacidades que presentan como barrera de gases y/o vapores, ya que estos factores afectan directa y en gran medida los procesos de oxidación, cambios de textura, pérdida de aromas, crecimiento bacteriano, entre otras; por lo tanto se hace rigurosamente necesario evaluar dichas propiedades.

Cabe destacar que durante el transporte de gases y vapores existen dos mecanismos de difusión; la capilaridad se presenta en materiales porosos con imperfecciones donde el gas atraviesa directamente el empaque por medio de los poros y la activa que se da por la solubilización del gas en la matriz polimérica, su paso a través del material y posterior liberación al ambiente¹⁴³.

2.6.1 Espesor. La medición del espesor de las películas se determina bajo el método propuesto por CAO¹⁴⁴, resumido en el diagrama 7; se determina la medición aleatoria en 5 puntos mediante un micrómetro digital de la marca Blue Point con rangos de operación máximo de 1 pulgada (2,54 cm) dispuesto por la Fundación Universidad de América.

Diagrama 7. Metodología para la determinación del espesor.



Fuente. Elaboración propia

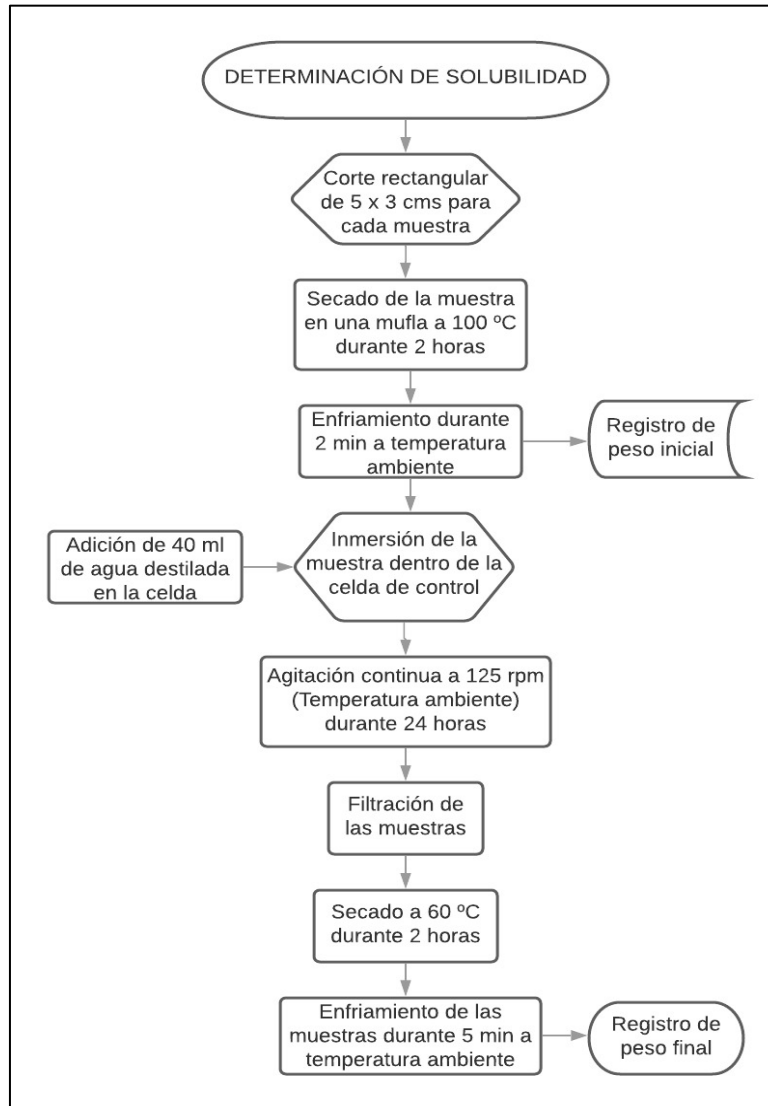
Los datos obtenidos serán de suma importancia en los cálculos de permeabilidad al vapor de agua y la determinación de las propiedades mecánicas, cuyo valor promedial será usando en los respectivos cálculos de dichas propiedades.

¹⁴³CAYOT, N. Measurement or transport phenomena of volatile compounds: A review. Food research International. 2008. vol 41 (nº4). Pp 349-362

¹⁴⁴CAO. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. Food Hydrocolloids. 2007. vol 21. pp1153-1662 p

2.6.2 Solubilidad. Para la determinación de la solubilidad de las películas formuladas se implementa el método dispuesto por Gontard en su estudio para el mejoramiento de películas derivadas de gluten¹⁴⁵ Ilustrada en el diagrama 8.

Diagrama 8. Metodología para determinar la solubilidad en agua.



Fuente. Elaboración propia

Se corta en piezas rectangulares de 5 por 3 centímetros las muestras y se secan durante 2 horas en una mufla a 100°C con el fin de remover la humedad contenida en las formulaciones y homogenizar el peso de la muestra, se registra el peso inicial después del enfriamiento de las muestras para posteriormente sumergirlas en un recipiente con 40 mL de agua destilada y exponerlas a condiciones de

¹⁴⁵ GONTARD et al. Op cit. Pag 6

desgaste con agitación continua de 125 rpm y temperatura ambiental por 24 horas; terminada la agitación, las piezas de las películas se filtran mediante papel filtro cualitativo y se secan en una estufa de aire forzado a 60 °C por 2 h¹⁴⁶.

La determinación del material soluble se lleva a cabo por diferencia de pesos después del tratamiento, así pues, una vez secas las muestras finales se pesan para determinar mediante la ecuación 1 el porcentaje de materia soluble (%).

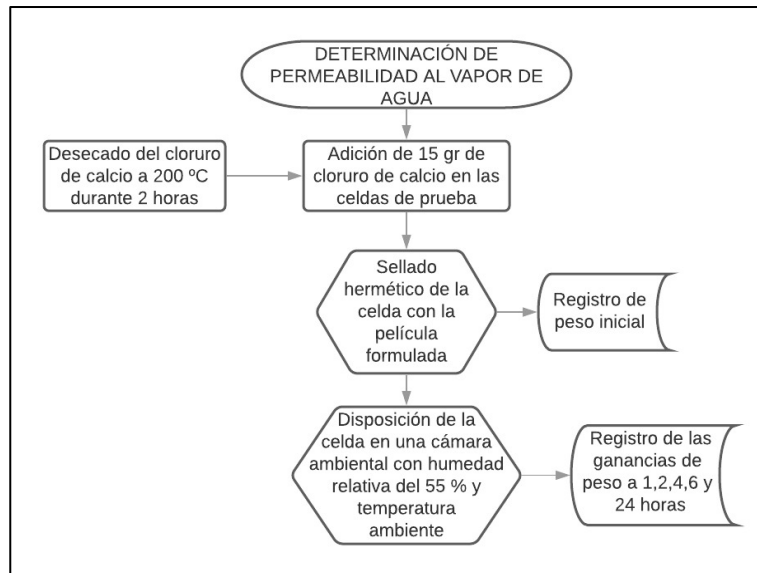
Ecuación 1. Determinación del porcentaje de solubilidad.

$$Solubilidad (\%) = \frac{peso\ inicial\ seco - peso\ final\ seco}{peso\ inicial\ seco} * 100$$

Fuente. Guilbert, S. Cuq B, and Gontard N. Recent innovarions in edible and/ biodegradable packaging material.¹⁴⁷

2.6.3 Permeabilidad al vapor de agua (PVA). El método dispuesto por la norma ASTM E 96/ E 96 M-05 describe los pasos para determinar PVA por tratamiento desecante, resumidos en el diagrama 9.

Diagrama 9. Metodología para determinar la permeabilidad al vapor de agua de películas plásticas.



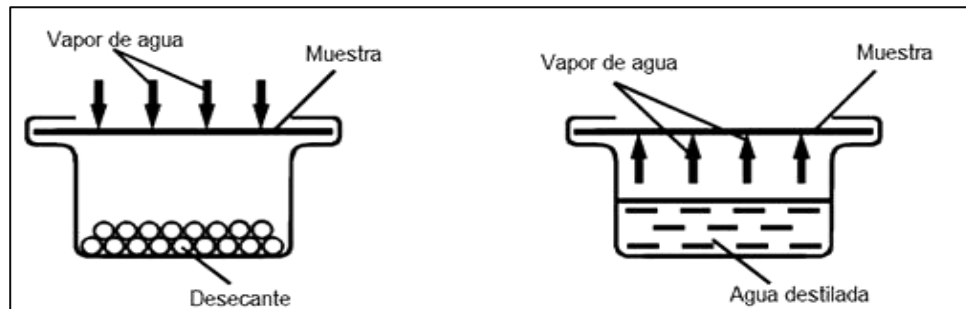
Fuente. Elaboración propia

¹⁴⁶MÜLLER, C. M. O., Yamashita, F., & Laurindo, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. Carbohydrate Polymers, (2008). Vol 72(1), 82-87

¹⁴⁷ GUILBERT, S.CUQ B, y GONTARD N. Recent innovarions in edible and/ biodegradable packaging material. Food Additives and Contaminants. 1997. Vol. 14. pp.741-751

Las muestras se disponen en cámaras de prueba que serán recipientes de vidrio con aproximadamente 7 cm de altura y 15 gramos de cloruro de calcio previamente desecado a 200°C durante 2 horas para garantizar una humedad relativa de 0% dentro del recipiente; las celdas anteriormente mencionadas son selladas de manera hermética por la película como se muestra en la figura 13.

Figura 13. Celda para la determinación de permeabilidad de vapor de agua.



Fuente. HERNANDEZ. H. Utilización de lignina de olote de maíz como componente de películas de almidón.¹⁴⁸

Posteriormente se llevan las celdas de prueba a una cámara ambiental preparada a 55% de humedad relativa y temperatura ambiental; se realiza un monitoreo en ganancia de peso a los 30 minutos y las 1,2,4,6 y 24 horas.

A partir de la pendiente de la curva peso vs. tiempo (J) se calcula la velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) mediante la Ecuación 2. A continuación con las presiones parciales de vapor de agua en ambas caras de la película y la Ecuación 3 se calcula la PVA¹⁴⁹.

Ecuación 2. Determinación de la velocidad de transmisión de agua.

$$VTVA = \frac{J}{t * A}$$

Fuente. American Society for Testing and Materials (ASTM) E96 (2000)¹⁵⁰.

Donde VTVA es la velocidad de transmisión de agua ($\frac{g}{h * m^2}$), J/t es la pendiente de la curva peso vs tiempo y A es el área de transmisión (m^2).

¹⁴⁸ HERNANDEZ. H. Utilización de lignina de olote de maíz como componente de películas de almidón. Tesis de grado para maestría en ing. Química. 2013. Universidad Iberoamericana. Ciudad de México.

¹⁴⁹ American Society for Testing and Materials (ASTM) E96 (2000). Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, USA. 491-496

¹⁵⁰ ASTM E96. Op cit. Pag 5.

Ecuación 3. Determinación de la permeabilidad de vapor de agua.

$$PVA = \frac{VTVA}{P_W * (RH_1 - RH_2)}$$

Fuente. American Society for Testing and Materials (ASTM) E96 (2000)¹⁵¹.

Donde VTVA es la velocidad de transmisión de agua ($\frac{g}{h * m^2}$), Pw es la presión de vapor de saturación del agua a la temperatura del experimento expresada en unidades del sistema internacional (Pa) y finalmente RH₁ y RH₂ son respectivamente las humedades relativas de la cámara ambiental y de la celda de prueba expresadas en fracción.

2.7 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES MECÁNICAS

La norma internacional que rige la medición arbitraria de parámetros como la velocidad de prueba, el tipo de agarres utilizados y la forma de medición en ensayos de tracción para películas de plástico delgado es la American Society for Testing and Materials (ASTM) D 882-02¹⁵². Dicha norma establece con claridad los métodos a seguir de acuerdo a la medición de resistencia a la tensión, el porcentaje de elongación, el módulo de elasticidad, entre otras.

2.7.1 Ensayo de tracción. Las pruebas se realizan en una máquina universal de ensayos dispuesta en las instalaciones de la Fundación Universidad de América como se muestra en la figura 14.

Figura 14. Imagen representativa para máquina universal de ensayos marca shimadzu



Fuente. Mas precisa S.A. Maquinas de ensayo universales. Disponible en <https://www.masprecisa.com/maquina-de-ensayos-universales>

¹⁵¹ ASTM E96. Op cit. Pag 5.

¹⁵² American Society for Testing and Materials (ASTM) D 882-02. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, USA

De acuerdo con la norma se utilizan probetas de 160 mm por 20 mm, de tal manera que la medición efectiva se realiza en 80 mm de longitud, dejando el restante para el agarre de las respectivas mordazas; la velocidad de testeo (A) se calcula a partir de la tasa de deformación inicial (C) y la distancia entre las mordazas (B).

Así pues, se establece mediante la tabla 9 la tasa de deformación inicial en $\frac{mm}{mm * min}$ y se calcula mediante la ecuación 4 la velocidad de testeo.

Tabla 9. Relación de velocidad de testeo y tasa de deformación inicial.

Porcentaje de alargamiento en la rotura	Tasa de deformación unitaria (mm/mm*min)	Separación inicial de las mordazas (mm)	velocidad de testeo (mm/min)
Menor a 20	0,1	125	12,5
Entre 20 -100	0,5	100	50
Mayor a 100	10,0	50	500

Fuente. American Society for Testing and Materials (ASTM) D 882-02¹⁵³.

Ecuación 4. Determinación de la velocidad de testeo.

$A = B * C$

Fuente. American Society for Testing and Materials (ASTM) D 882-02¹⁵⁴.

La disposición de las muestras en las mordazas se realiza de forma manual, ajustándose en el centro de la mordaza y alisando el material antes de empezar la respectiva medición, se toman datos de muestreo por triplicado para cada formulación teniendo en cuenta el espesor de cada película.

2.7.2 Cálculo del módulo de Young o módulo de elasticidad (ME). Bajo el estudio de propiedades mecánicas mediante ensayos de tracción se obtienen graficas linealizables donde el eje de las abscisas muestra la deformación unitaria del material y en el eje de las ordenadas la tensión requerida en relación al área transversal, con el fin de independizarse de las dimensiones de cada probeta se determina mediante la ecuación 5 un esfuerzo real, referido a la tensión obtenida en el eje de las ordenadas.

¹⁵³ ASTM D882-02. Op cit. Pag 4.

¹⁵⁴ ASTM D882-02. Op cit. Pag 4.

Ecuación 5. Esfuerzo real.

$$\sigma = \frac{F}{A(t)}$$

Fuente. CASTAÑEDA, H. Análisis del Modulo Elástico y Resistencia a la Ruptura en Mezclas de Nanocompuestos de ABS/TPU¹⁵⁵.

Donde F es la fuerza axial que se presenta en el momento de ruptura y A(t) se refiere al área transversal a la deformación con el fin de mostrar explícitamente la dependencia del área con la deformación que sufre el material con el tiempo de estiramiento. Una vez se obtiene el esfuerzo real se determina mediante la ecuación 6 la deformación axial o unitaria, presentada como valor máximo en el eje de las abscisas.

Ecuación 6. Deformación axial o unitaria.

$$\varepsilon = \frac{l-l_0}{l_0} = \frac{\Delta l}{l_0}$$

Fuente. CASTAÑEDA, H. Análisis del Modulo Elástico y Resistencia a la Ruptura en Mezclas de Nanocompuestos de ABS/TPU¹⁵⁶.

Donde l representa la longitud final y l₀ la longitud inicial de la probeta ensayada, finalmente se calcula el módulo de Young (E) que relaciona la zona elástica-lineal, el esfuerzo de tensión con la deformación¹⁵⁷.

Ecuación 7. Constante de módulo de Young.

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

Fuente. CASTAÑEDA, H. Análisis del Modulo Elástico y Resistencia a la Ruptura en Mezclas de Nanocompuestos de ABS/TPU¹⁵⁸.

El módulo de young o elasticidad es determinante en la rigidez de los materiales poliméricos, y depende de factores formadores como la cantidad de plastificante, el porcentaje de polisacáridos y los aditivos que posea la formulación.

¹⁵⁵ CASTAÑEDA, H. REYES. GÓMEZ, ZITZUMBO, R. SÁNCHEZ, J. ALONSO, S. Análisis del Módulo Elástico y Resistencia a la Ruptura en Mezclas de Nanocompuestos de ABS/TPU. Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Conciencia Tecnologica. 2010. Vol 39.

¹⁵⁶ CASTAÑEDA, H. Op cit. Pag 7.

¹⁵⁷ODIAN, George, (1991), Mechanical Properties of Polymers, 3ed., J. Wiley N.Y (USA)

¹⁵⁸ CASTAÑEDA, H. Op cit. Pag 7.

2.8 DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO

Muchos de los empaques y películas funcionales son desarrollados bajo requerimientos específicos para los productos que se pretenden proteger, las películas que cuentan con propiedades antifúngica se destinan a la preservación de alimentos de bajo procesamiento o con alta tasa de transpiración, que usualmente se relaciona con el crecimiento de mohos y proliferación de los mismos.

Así pues, se definen para la evaluación del empaque formulado con emulsión de aceites esenciales dos pruebas cualitativas, clasificadas bajo escalas diagramáticas cuantitativas, en las que se pretende determinar la funcionalidad del material frente al crecimiento de *Rhizopus Stolonifer* y el porcentaje de cumplimiento del empaque relacionado a un porcentaje de inhibición en pruebas in vitro. Previo al desarrollo de las pruebas se requiere aislar de una fruta infectada el cultivo fúngico que se presenta comúnmente en frutas como las fresas, tomate y el melón, productos que en su postcosecha se enfrentan a pérdidas de entre el 5 y el 25% de la producción¹⁵⁹.

2.8.1 Preparación del inóculo de *Rhizopus stolonifer*. Para la obtención del aislado requerido en la determinación de las propiedades antifúngica de las películas se recolecta el hongo directamente de una fruta infectada y se aísla en placas Petri con nutrientes según señala Shiva (2007)¹⁶⁰. Inicialmente se obtienen los cultivos aislados retirando de la fruta infectada con un asa estéril una porción significativa del moho y cultivando en una solución Agar de Patata y dextrosa (PDA) esta misma, se deja incubar durante 5 días a 25°C y 55% de humedad relativa o hasta que se presente una coloración grisácea lo que es indicativo de esporulación.

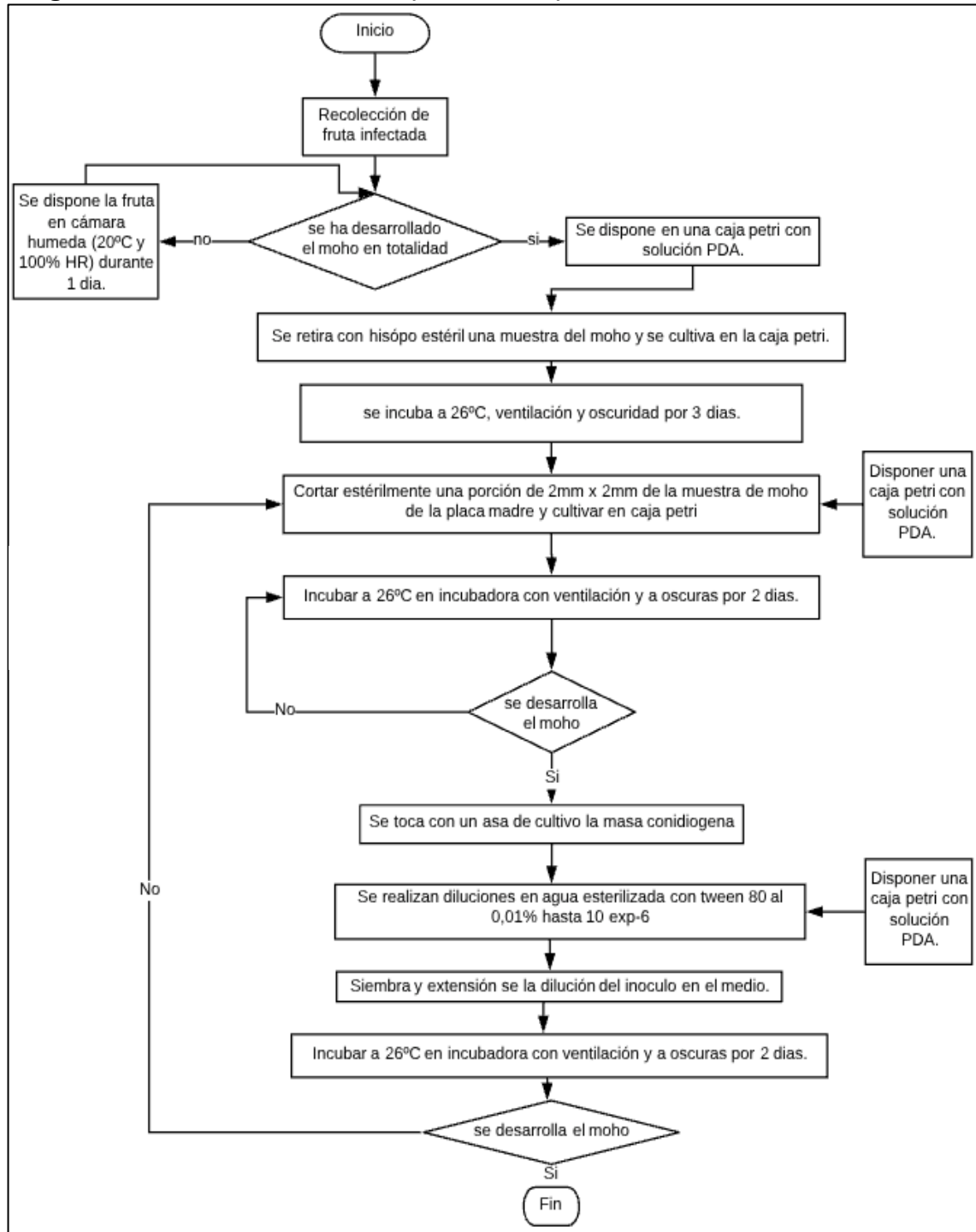
Una vez obtenida la placa madre se corta una porción de 2 mm x 2 mm y se siembra nuevamente en placas Petri con solución PDA generando el primer aislado que estarán en incubación a condiciones ambientales y hasta el desarrollo del hongo, finalmente para garantizar pureza, se realiza un cultivo monospórico en donde se toma con un asa una porción de masa conidiógena para realizar una dilución en agua destilada tratada con tween 80 (0.01%) hasta los 10^{-6} y posteriormente realizar siembras de dicha dilución (0,2 ml) sobre placas con PDA, estas siembras se extienden con el asa de siembra de punta redonda para

¹⁵⁹FARRERA P, R.E, ZAMBRANO V, A.E, & ORTIZ M, F.A. Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira. Revista de la Facultad de Agronomía, 2007. Vol 24(nº 2), 269-281. Disponible en: <http://ve.scielo.org/scielo>

¹⁶⁰ SHIVA R.C.M. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Tesis Doctoral. Facultad de veterinaria.2007. Universidad Autónoma de Barcelona. España.

dispersar el inóculo sobre el medio y se incuban a condiciones ambientales. El diagrama 10 representa el procedimiento anteriormente descrito.

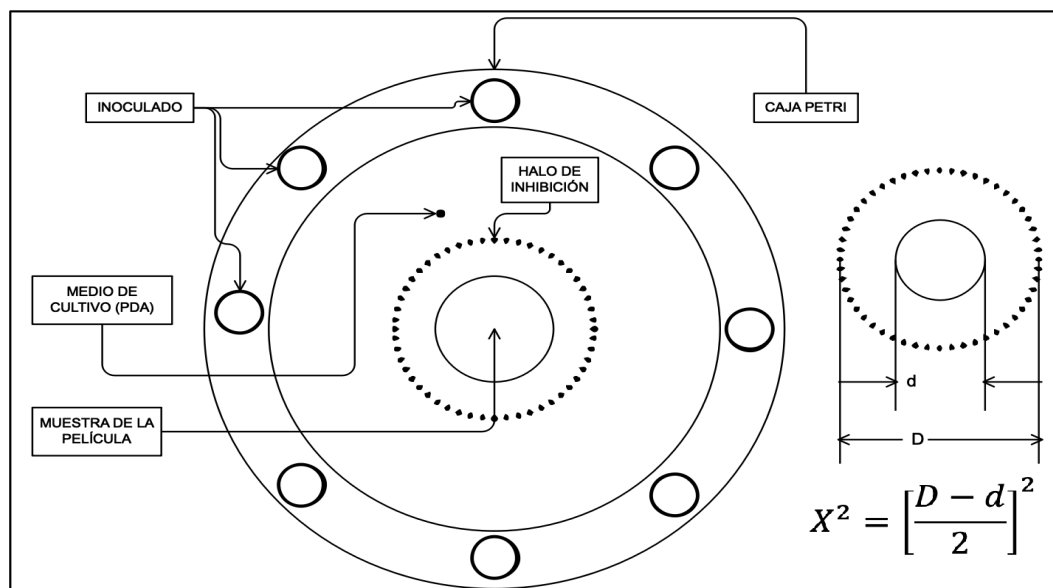
Diagrama 10. Obtención de la cepa de *Rhizopus stolonifer*



Fuente. Elaboración propia

2.8.2 Ensayo in vitro de la efectividad de la película activa contra el crecimiento de *Rhizopus stolonifer*. Previamente al ensayo in vitro se realiza una esterilización del material mediante la exposición a luz ultravioleta por 4 horas en una cámara de desinfección. Las probetas desinfectadas y cortadas en círculos son puestas en el centro de cajas Petri con medio PDA preparado con tween 20 al 50 % (2 mL/100 mL de agar) e inoculado por la cepa limpia de *Rhizopus stolonifer* por todo el diámetro externo de la placa para su incubación durante 5 días condiciones ambientales; la medición del halo de inhibición se determina bajo el esquema modificado para antibiogramas expuesto por Kirby Bauer como se muestra en la figura 15.

Figura 15. Esquema para los halos de inhibición formados.



Fuente. Elaboración en base a: OLIVEIRA, A. M. Evaluation of toxicity and antimicrobial activity of an ethanolic extract from leaves of *Morus alba* L. (Moraceae)¹⁶¹.

Las placas selladas y listas para la prueba son dispuestas en una cabina a condiciones climáticas normales, lejos de fuentes hídricas y exposición a luz directa del sol; en las primeras 12 horas de evaluación se mide con una regla de precisión el área de la placa que no ha sido colonizada y se determina el halo de inhibición; posteriormente se registra fotográficamente cada 24 horas el progreso en el crecimiento micelial de la cepa y el comportamiento del ambiente interno de la placa.





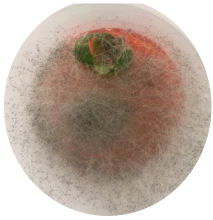
¹⁶¹ OLIVEIRA, A. M. MESQUITA, M. S. DA SILVA, G. DE OLIVEIRA LIMA, E. DE MEDEIROS, P. L. PAIVA, P. M. *et al.* Evaluation of toxicity and antimicrobial activity of an ethanolic extract from leaves of *Morus alba* L. (Moraceae). *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2015

2.8.3 Ensayo in vivo de la efectividad de la película activa en el cuidado de fresas con alto grado de maduración. Para realizar el ensayo in vivo de la efectividad de la película sobre el control de RS se dispone como fruta patrón fresas listas para consumo en etapa de maduración 5 según la tabla descriptiva de color de los estados de maduración de la Fresa (Anexo A), las cuales serán previamente esterilizadas mediante lavado con solución de hipoclorito de sodio y exposición a luz ultravioleta de 24 horas; paralelamente se fabrica una bolsa con la película activa cuyo porcentaje de inhibición in vitro sea el más alto, otra con vinipel convencional y una más con bolsa de polietileno y se procede a envasar las fresas desinfectadas e inoculadas con RS mediante una herida de 0,5 mm y una concentración de esporas del cultivo puro.

Dichos envases son expuestos a condiciones ambientales de temperatura y húmedas por 5 días registrando fotográficamente el progreso diario. Al finalizar el lapso de tiempo de estudio diario se realiza la comparación del aspecto de la fruta mediante una escala comparativa, descrita en la tabla 10 bajo el modelo propuesto por Alvarado¹⁶².

¹⁶² ALVARADO HERNANDEZ A.M., LAURA L. BARRERA ,N, ANA N. HERNÁNDEZ, L Y VELÁZQUEZ DEL VALLE, M .Antifungal activity of chitosan y essential oils on Rhizopus stolonifer (Ehrenb.: Fr.) Vuill causal agent of soft rot of tomato. Revista Colombiana de Biotecnología. 2011. Vol 13: 127-134

Tabla 10. Escala diagramática para índice de severidad y porcentaje de infección

Aspecto visual	Nivel	Porcentaje de infección	Diámetro de infección (mm)	Grados Brix (Valor aproximado)
	A	0%	0	16
	B	15%	4,9	10
	C	45%	14,7	6
	D	75%	24,6	4
	E	100%	32,7	2

Fuente. Elaboración propia

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

A continuación, se expone el desarrollo para la metodología propuesta, presentando los datos más significativos obtenidos durante las etapas previas a la homogeneización del compuesto activo, la síntesis de las películas activas y la caracterización del material; por otro lado se realiza el análisis de los datos obtenidos y el registro fotográfico de la experimentación propuesta.

3.1 PRETRATAMIENTO

La reducción de la humedad natural mediante el secado por radiación solar influye en notablemente en el procedimiento de granulometría, el cual se genera con el fin de adaptar el residuo agroindustrial al requerimiento del material; la reducción del tamaño de partícula es radical en el tratamiento térmico de la materia prima facilitando el fenómeno de hidratación, homogeneización y extracción de compuestos orgánicos. En la tabla 11 se detalla la distribución del tamaño de las partículas de la harina de cáscara de naranja.

Tabla 11. Distribución granulométrica de la harina de cáscara de naranja.

Número de tamiz	Abertura de tamiz	Peso del tamiz	Peso total	Peso del residuo	Porcentaje de retención
	(μm)	(g)	(g)	(g)	
20	850	458	567	109	19,5
40	425	414	624	210	37,6
100	150	383	604,5	221,5	39,7
BASE	BASE	300	317	17,5	3,1

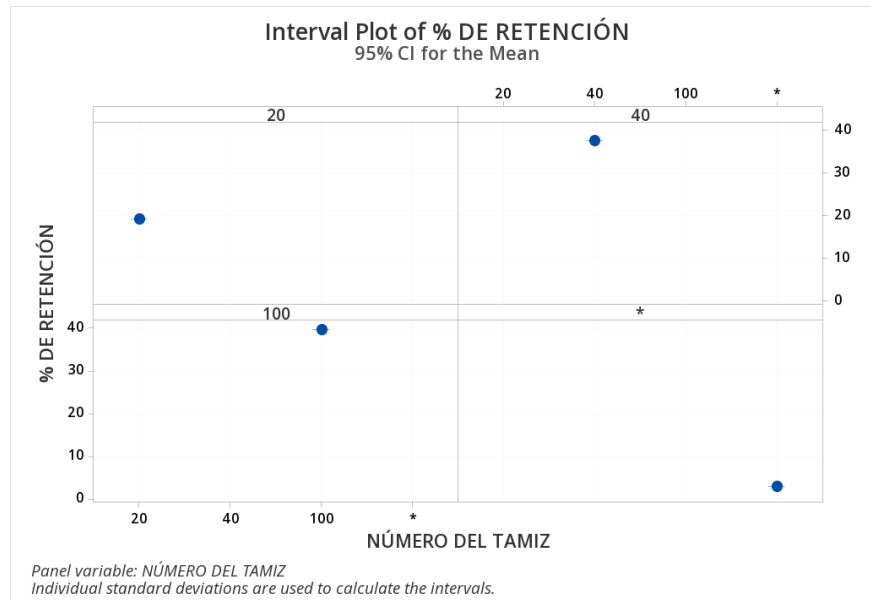
Fuente. Elaboración propia

La molienda que se dio al RAI no fue suficiente para hacer la harina de cáscara de naranja similar al tamaño de partícula de un almidón, el mayor porcentaje de retención se encuentra entre la malla 40 y 100 cuyos rangos de partículas están entre los 425 y las 150 micras (μm); sin embargo, se reportan en varias investigaciones el uso de residuos biomásicos en rangos de 106 a 300 μm .¹⁶³.

¹⁶³ALVES, T. Caracterización física y química de bioplásticos elaborados por extrusión termoplástica reforzados con cáscara de maracuyá. 2013 tesis PhD. Tecnología de alimentos. Brasil, Universidad de Rio de Janeiro.

Según Munive el almidón de maíz tiene un tamaño de partícula de 300 μm representando el 97,14% y el 2,86% restante tiene una granulometría mayor a 300 μm ¹⁶⁴. El almidón de yuca el 98,1% presenta un tamaño de partícula de 212 μm y el 1,9% presenta un tamaño de partícula de 425 μm ¹⁶⁵.

Gráfica 3. Porcentaje de retención de las partículas de harina de cáscara de naranja en cada tamiz.



*Porcentaje de materia prima que queda en base, denominado FINOS.

Fuente. Elaboración propia

Con base en la distribución para el tamaño de partícula se decide utilizar la harina obtenida en las mallas 40,100 y base con la finalidad de reducir los grumos en la solución filmógena y garantizar la uniformidad de la superficie; el porcentaje de la malla 20 no cumple con los estándares para el tamaño de partícula por lo tanto se regresa al proceso de molienda para no incurrir en pérdidas del 19,1% de la materia pretratada e incluir el mayor porcentaje de aprovechamiento.

3.2 FORMULACIONES PRELIMINARES

Durante el desarrollo de la metodología se hace necesario determinar mediante un diseño experimental previo, una película preliminar con el fin de no desperdiciar el

¹⁶⁴MUÑOZ, J. Evaluación, caracterización y optimización de un bioplástico a partir de la combinación de almidón de maíz, yuca y glicerol en sus propiedades físicas y de barrera. 2014. Tesis Ina. Agroindustria Alimentaria, Teguciglapa. Escuela Agrícola Panamericana. 30 p.

¹⁶⁵ALVARADO, L. Obtención de harina de yuca para el desarrollo de productos dulces destinados para la alimentación de celíacos. 2009. Tesis Ing. En Alimentos. Guayaquil, Ecuador, Escuela Superior Politécnica del Litoral. 40 p

compuesto activo y generar una formulación base para el encapsulamiento del aceite esencial.

Todas las formulaciones base obtenidas son fieles a la metodología expuesta en los numerales 2.1, 2.2 y 2.3, donde se omite la homogeneización del CA; cabe resaltar que las materias primas para el desarrollo de estas películas poseen denominación alimenticia y el método de extensión se rige por estrictas medidas de limpieza. La experimentación preliminar hace posible evaluar diferentes factores y su influencia dentro de la estructuración polimérica, su aspecto visual y sus características en cuanto a la facilidad de recolección.

3.2.1 Diseño experimental. Posterior a la evaluación de los factores representativos en la formulación de películas poliméricas derivadas de biomasa lignocelulósica, se establece un diseño experimental bifactorial para determinar la mejor formulación en blanco que pueda encapsular el compuesto activo; dicho desarrollo evalúa el efecto de dos factores en dos niveles distintos.

Los factores a evaluar en el proceso de obtención de la película son el tipo de solvente para generar la solución filmógena y el agente emulsionante para la encapsulación de aceite en soluciones acuosas, estos dos factores determinan importantes propiedades ópticas vitales en la demanda por el consumidor.

Como se muestra en la tabla 12 se determinan el ácido acético y el agua como tipos de solvente, y la pectina y el colágeno como compuesto emulsificante.

Tabla 12. Diseño experimental preliminar.

Factor	Tipo de solvente(α)		
	Niveles	Ácido acético (α_1)	Agua(α_2)
Tipo de agente emulsificante(β)	Pectina (β_1)	$\alpha_1\beta_1$	$\alpha_2\beta_1$
	Colágeno (β_2)	$\alpha_1\beta_2$	$\alpha_2\beta_2$

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo con el uso de solventes se determinan dos tipos dependientes del pH, para el ácido acético se establece una acidez de 4,5 y para el agua destilada de 6,2; así mismo el uso de emulsificantes como la pectina y el colágeno se relacionan con el desarrollo de películas gracias a su clasificación como sustancia generalmente segura (GRAS). Acorde a los factores se describe la matriz de diseño en la tabla 13.

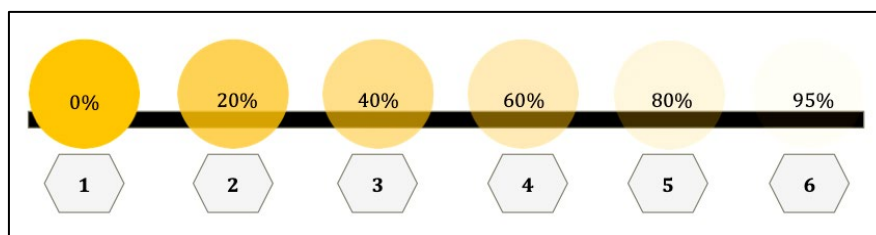
Tabla 13. Matriz del diseño bifactorial 2²

	Factor α	Factor β
<i>Experimento</i>	<i>Solvente</i>	<i>Emulsificante</i>
1	A. Acético	Pectina
2	Agua	Pectina
3	A. Acético	Colágeno
4	Agua	Colágeno

Fuente: Elaboración propia

El análisis de los efectos de los diferentes factores sobre la transparencia de las películas y la facilidad de recolección son estudiados mediante la plataforma de MINITAB; cabe mencionar que la primera variable de respuesta es definida mediante caracterización visual en niveles diferenciales relacionados al porcentaje de transparencia, descritos en la figura 16 de forma diagramática y en la tabla 14 con rangos de transparencia.

Figura 16. Escala diagramática de transparencia para películas plásticas.



Fuente. Elaboración propia.2020

Tabla 14. Porcentaje de transparencia para caracterización de niveles de translucidez.

Nivel de translucidez	Porcentaje de transparencia
1	0 - 20 %
2	21 -40 %
3	41 - 60%
4	61 - 80%
5	81 - 94 %
6	95 - 100 %

Fuente. Elaboración propia

La segunda variable, relaciona la facilidad de despegue de la película de la placa y se define por la figura 17 según la caracterización manual al momento de retirar la película de la placa de secado

Figura 17. Niveles cualitativos de facilidad de recolección.

NIVEL 1	Fácil desprendimiento, no presenta resistencia
NIVEL 2	Dificultad media de desprendimiento, no presenta resistencia
NIVEL 3	Dificultad alta de desprendimiento, presenta resistencia
NIVEL 4	Requiere de instrumento para su desprendimiento.

Fuente. Elaboración propia

3.2.2 Selección de la formulación base. Basados en la determinación de los factores y sus niveles de efecto en la variable de respuesta se genera la tabla 15 donde se evidencia en la primera columna el orden definido en la matriz de diseño bifactorial, en la segunda columna el orden de corrida generado en la plataforma MINITAB, en la quinta y sexta columna los factores evaluados y por último las dos variables de respuesta.

Tabla 15. Datos generados para el diseño factorial.

StdOrde	RunOrder	Center Pt	Solvente	Emulsificante	Nivel de Transparencia	Facilidad de recolección
1	1	1	A. Acético	Pectina	4	2
4	2	1	Agua	Colágeno	3	4
3	3	1	A. Acético	Colágeno	2	2
2	4	1	Agua	Pectina	5	1

Nota: Los niveles de transparencia y facilidad de recolección se establecen mediante escalas diagramáticas.

Fuente. Elaboración propia

El aspecto de las películas formuladas y la caracterización cualitativa de las mismas son expuestas a continuación en el cuadro 2.

Cuadro 2. Descripción cualitativa para las formulaciones preliminares de la formulación base.

Aspecto formulación $\alpha_1\beta_1$	Descripción cualitativa
	<p>La película que se obtuvo de la mezcla pectina-acido acético presenta poco brillo, alta opacidad y alta dificultad de despegue, la coloración amarilla es opaca y presenta pequeñas aglomeraciones de material, al momento de desprenderse de la placa es altamente sensible al quiebre y con el paso de los días pierde humedad tornándose seca y quebradiza.</p>
<p data-bbox="302 632 753 684">Aspecto formulación $\alpha_1\beta_2$</p> 	<p>La formulación de colágeno-acido acético presenta una viscosidad alta por lo tanto se obtienen películas de alto espesor y bajo nivel de transparencia, la coloración es un amarillo fuerte y su despegue es relativamente fácil; presenta buenas propiedades de flexibilidad y es resistente al estiramiento manual, al paso de los días pierde humedad y se torna rígida y vítrea.</p>
<p data-bbox="302 900 753 953">Aspecto formulación $\alpha_2\beta_1$</p> 	<p>El material sintetizado de pectina-agua, es el de mayor nivel de transparencia y homogeneidad, presenta un color uniforme amarillo claro y una superficie brillante y lisa; la recolección es bastante sencilla ya que se desprende de la placa sin necesidad de instrumentos. Es resistente al estiramiento manual y presenta un agradable olor a cítrico.</p>
<p data-bbox="302 1173 753 1226">Aspecto formulación $\alpha_2\beta_2$</p> 	<p>El tratamiento de agua-colágeno presenta buenas características ópticas ya que se obtiene una solución filmógena bastante homogénea, su desprendimiento por otro lado es difícil, esta se adhiere a la superficie de la placa durante la volatilización del solvente requiriendo de instrumentos para recolectarla. Su capacidad de elongación es la mejor de todas sin embargo pierde humedad muy rápido tornándose rígida y quebradiza.</p>

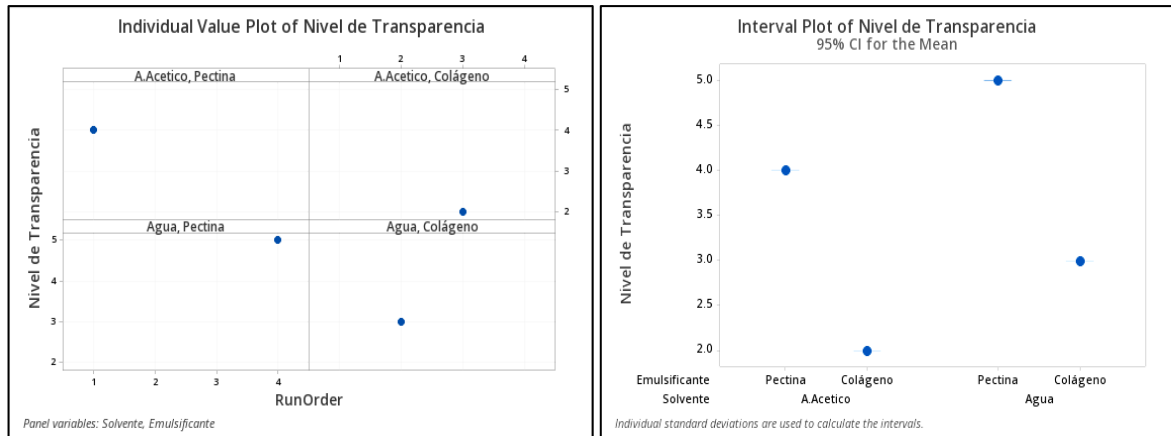
Fuente. Elaboración propia

Las formulaciones se caracterizan por presentar variabilidades en cuanto a la viscosidad de las soluciones, la facilidad de extensión y la sensación al tacto; aquellas formuladas de pectina tienen una superficie seca y un espesor bajo a comparación de aquellas con colágeno, las cuales presentan propiedades más elásticas y superficie adherible; el uso de ácido acético como solvente presenta algunas desventajas relacionadas a la degradación de los tejidos, que influye de

manera radical en la agitación y la extensión de la película¹⁶⁶; el agua por otro lado genera soluciones con mejores viscosidades y mejor tiempo de secado. El comportamiento de las formulaciones con respecto a la transparencia visual de las películas se refleja en la gráfica 4, cuyo eje de ordenadas determina el nivel de transparencia y el eje de las abscisas los tratamientos.

Gráfica 4. Efecto del emulsificante y el solvente en las películas formuladas.

A) Reporte individual de transparencia. B) Reporte de intervalo para transparencia.



Fuente. Elaboración propia

De acuerdo al comportamiento de las formulaciones con respecto a la transparencia visual de las películas se refleja que el mejor nivel de translucidez se obtiene con la película formulada a partir de agua - pectina, esto se atribuye a la baja viscosidad de la SF lo que mejora la extensión sobre la placa y permite obtener películas más finas. así pues, aunque el colágeno presente propiedades de transparencia notables según la bibliografía, las soluciones que se obtienen presentan altas viscosidades y requieren de remover la placa para lograr extender en su totalidad la solución sobre la superficie.

El uso de solventes de naturaleza polar también fue de gran importancia en la caracterización visual de las películas; muchas investigaciones previas que usan soluciones de ácido acético mencionan la capacidad de este para influir en la extracción de compuestos orgánicos presentes en la biomasa, así mismo se refieren a la efectividad en cuanto al contacto de este con alimentos, relacionado a la clasificación de soluciones con porcentaje menores al 10 % v/v como compuestos generalmente seguros. El ácido acético se ha implementado también para evaluar la influencia en el mejoramiento de permeabilidad a vapores, una de las desventajas más grandes se presentan por el olor característico que pueden desarrollar las películas que implementan soluciones de AA, en el presente

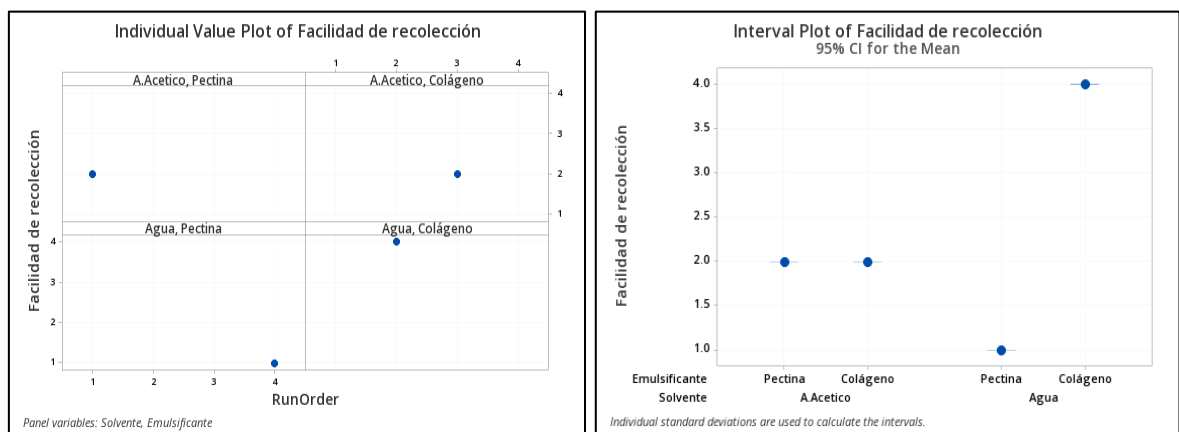
¹⁶⁶J. ARANAZ, M. Mengibar, R. Harris, I. Paños, B. Miralles, N. Acosta, G. Galed, A. Heras, Functional Characterization of Chitin and Chitosan, Current Chemical Biology 3, 2009; 2; 203-230

desarrollo se evidenció que esta particularidad no se pierde con la aireación del material y esto presenta una gran desventaja en la aceptación por el consumidor; el agua destilada por otro lado no posee olores penetrantes y es una sustancia bastante neutra, evitando que entre en contacto con el compuesto activo y pueda generar algún tipo de cambio en los componentes fenólicos de los mismos.

Aunque el solvente puede influir en el aspecto de las películas su efecto más drástico se evidencia en el proceso de secado, para este desarrollo el uso de ácido acético como solvente genera requerimiento de secado por convección forzada, ya que al finalizar las 48 horas de secado se tienen películas con una ligera sensación grasosa, característica que no se ve en el uso de agua destilada como solvente. Cabe resaltar que, aunque la mayor parte del solvente se volatilice gracias al método casting, existe un porcentaje de humedad que queda dentro del material y el cual puede interactuar no solo con el alimento sino también con el compuesto encapsulado; en la gráfica 5 se evidencia el efecto de los diferentes factores evaluados en la facilidad de recolección del material de forma similar a la gráfica 4.

Gráfica 5. Efecto del tipo de solvente y emulsificante en la facilidad de recolección.

A) Reporte individual de recolección. B) Reporte de intervalo para la recolección.



Fuente. Elaboración propia

Nuevamente la película con mejor nivel de facilidad de recolección es la formulación de agua-pectina ($\alpha_2\beta_1$), esta se desprende con suma facilidad de la placa de secado y se evidencia alta homogeneización a simple vista, así mismo en la superficie de contacto con la placa desarrolla brillo notorio y sobre la superficie al ambiente se obtiene un tacto suave; las formulaciones que contienen colágeno presentan un desprendimiento más complicado, estas son más adheribles a la superficie de la placa lo que dificulta la obtención del material sin romper o rasgar el mismo.

De acuerdo con los resultados expuestos con anterioridad se concluye que la mejor formulación, de las desarrolladas, para evaluar el encapsulamiento del aceite esencial es agua - pectina; los porcentajes de formación para esta son replicados en las películas con encapsulación de compuesto activo.

3.3 OBTENCIÓN DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS

Al culminar la experimentación preliminar la formulación base con mejores variables de respuesta es seleccionada para replicar la metodología del diagrama 5 con el fin de obtener películas cuya única variable es el tipo de compuesto activo que se evalúa. La experimentación propuesta es llevada a cabo en las instalaciones de Tecnoparque nodo Bogotá DC sección de nano y biotecnología, en la ciudad de Bogotá a condiciones ambientales promediadas de 22°C y 65% de humedad relativa. La tabla 16 presenta los porcentajes que se implementan en la elaboración de la formulación final.

Tabla 16. Composición para la formulación base representada en porcentaje.

FORMULACIÓN	RAI* (%)	SOLVENTE (%)	PLASTIFICANTE (%)	RETICULANTE (%)	PECTINA (%)	TOMILLO	CLAVO
						(ppm)	(ppm)
1	10	75%	5%	2%	8%	0	500
2	10	75%	5%	2%	8%	500	0
3	10	75%	5%	2%	8%	250	250
4	10	75%	5%	2%	8%	0	0

*RAI: residuo agroindustrial. **Solvente: Agua. *** plastificante: glicerol. ****Reticulante: cloruro de calcio. Los valores representados están referidos en bases másicas.

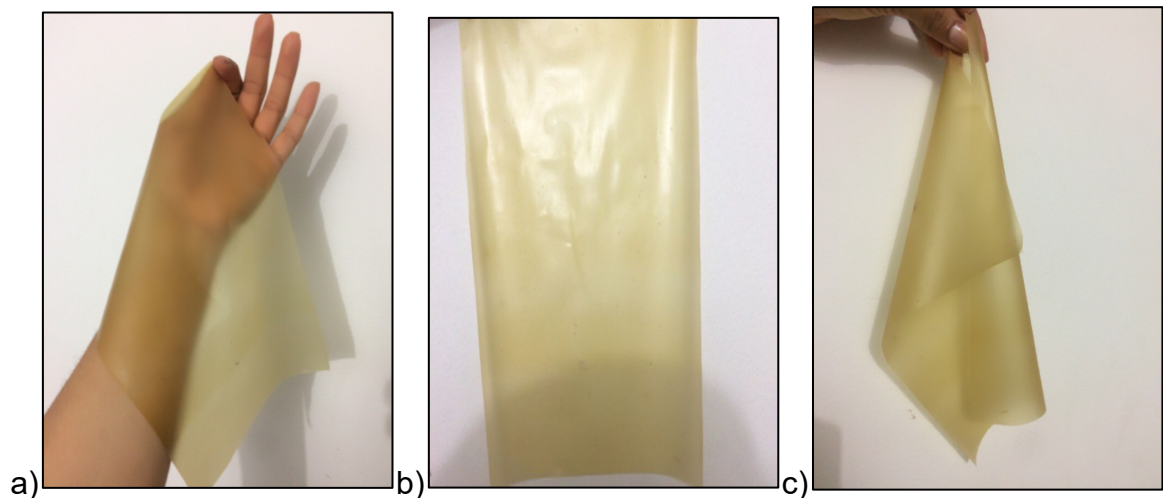
Fuente. Elaboración propia

Cada una de las películas que se obtienen son elaboradas con materiales de denominación alimenticia; desde el residuo agroindustrial el cual está sujeto a un pretratamiento hasta los materiales como el plastificante (glicerol al 99,7%), agua como solvente, reticulante como cloruro de calcio y pectina como emulsificante.

3.3.1 Caracterización visual de las películas. El resultado final en la elaboración de las películas es similar visualmente a la formulación preliminar obtenida en el numeral 3.2, sin embargo, debe aclararse que, durante la generación de la SF, al incluirse el paso de homogenización a altas velocidades para la inclusión del compuesto activo en la matriz, se evidencia la formación de burbujas dentro de la solución. La agitación mediante UltraTurrax generar cápsulas de aire en la solución que en el proceso de secado dejan puntos débiles en la superficie de la película permitiendo grietas y rupturas por puntos de menor espesor consecuencia de los vacíos en la red polimérica; por lo tanto, se desgasifican las soluciones en una cámara de vacío por un par de minutos.

El resultado final de la elaboración de las películas sometidas al encapsulamiento de compuestos activos se muestra en la figura 18 donde se reflejan características favorables de preferencia en el consumidor; el brillo, la transparencia, el espesor y el color son algunas de ellas.

Figura 18. Apariencia visual de las películas activas formuladas. a) transparencia, b) Brillo, c) ductilidad



Fuente. Elaboración propia

Los tratamientos y sus réplicas, denominados de ahora en adelante como formulaciones, serán referidas durante el proceso de evaluación por las referencias: B01-B02 para el blanco sin compuesto activo, T01-T02 para 500 ppm de aceite esencial de tomillo (53,7 % de timol - 32% carvacrol, cimeno, pineno, trazas de borneol, acetato de bornilo y linalool), C01-C02 para 500 ppm de aceite esencial de clavo (Eugenol al 62%, acetil eugenol, cariofileno, pineno, cariofilina y salicilato de metilo) y M01-M02 para una mezcla equimásica de aceites de tomillo y clavo a un máximo de 500 ppm.

3.4 CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL

Las películas activas sintetizadas a partir de harina de cáscara de naranja y con encapsulación de compuesto activo son evaluadas mediante propiedades representativas para materiales plásticos con el fin de caracterizar el material de acuerdo a aquellos requisitos más valorados en el mercado; la determinación de dichas cualidades se rige bajo las normas vigentes para películas plásticas o laminas de plástico delgadas.

3.4.1 Determinación del Espesor. Es una variable de suma importancia en la determinación de las propiedades y las aplicaciones del material; se entiende como la distancia perpendicular entre las dos superficies del plástico, la espesura es crítica al momento de obtener información sobre las propiedades reológicas y de barrera a los gases y vapores¹⁶⁷.

La síntesis de polímeros por el método casting, donde el secado se lleva a cabo por medio de la volatilización del solvente, hace un tanto complicado el control del espesor para las películas cuando las soluciones filmógenas no poseen viscosidades aptas para auto expandirse por las placas de secado; la incorporación de celulosa en la matriz del polímero dificulta la estandarización de este parámetro; sin embargo, refuerza las propiedades mecánicas del material¹⁶⁸. Las mediciones aleatorizadas en 5 puntos permiten promediar los valores para un área controlada del material con el fin de obtener datos con certeza estadística para cálculos posteriores, en la tabla 17 se evidencian los valores para las mediciones realizadas en los 5 puntos aleatorios.

Tabla 17. Datos medición aleatorizada de espesura.

Formulación	Espesor (mm)					Media (mm)	Desviación estándar
	<i>Punto 1</i>	<i>Punto 2</i>	<i>Punto 3</i>	<i>Punto 4</i>	<i>Punto 5</i>		
B01	0,153	0,148	0,175	0,146	0,176	0,1596	0,0147
B02	0,168	0,164	0,158	0,147	0,166	0,1606	0,0084
T01	0,153	0,166	0,153	0,152	0,170	0,1588	0,0085
T02	0,164	0,156	0,152	0,167	0,164	0,1606	0,0063
C01	0,171	0,143	0,162	0,148	0,154	0,1556	0,0111
C02	0,150	0,174	0,143	0,161	0,141	0,1538	0,0137
M01	0,173	0,160	0,140	0,148	0,171	0,1584	0,0143
M02	0,141	0,149	0,144	0,177	0,149	0,1520	0,0143

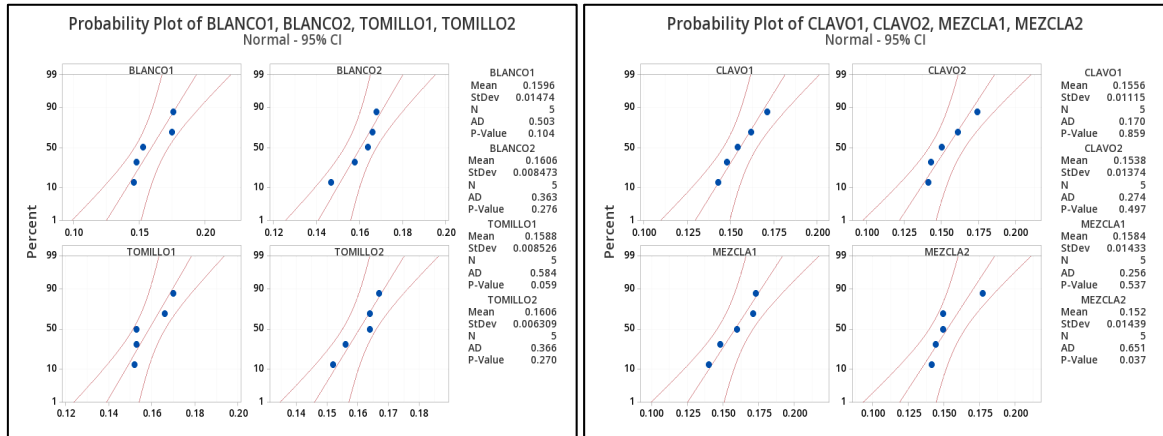
Fuente. Elaboración propia

¹⁶⁷Centro de Tecnología de Embalagenes (CETEA).1996. Ensaio para avaliacao de embalagens plásticas flexiveis. Campinas. 219 p.

¹⁶⁸Bayer, E. A., Lamed, R. 1992. the cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource. Biodegradation, 3(2-3):171-188

Los datos representados se someten a un análisis de distribución normal con el fin de estandarizar las mediciones obtenidas en la espesura, dicho comportamiento se ve reflejado en la gráfica 6 de acuerdo al compuesto activo que se encuentra encapsulado expresado en gráficas individuales para la muestra y su réplica, donde los puntos azules indican los valores tomados y las líneas rojas el área de aceptación de los datos a un comportamiento lineal estandarizado.

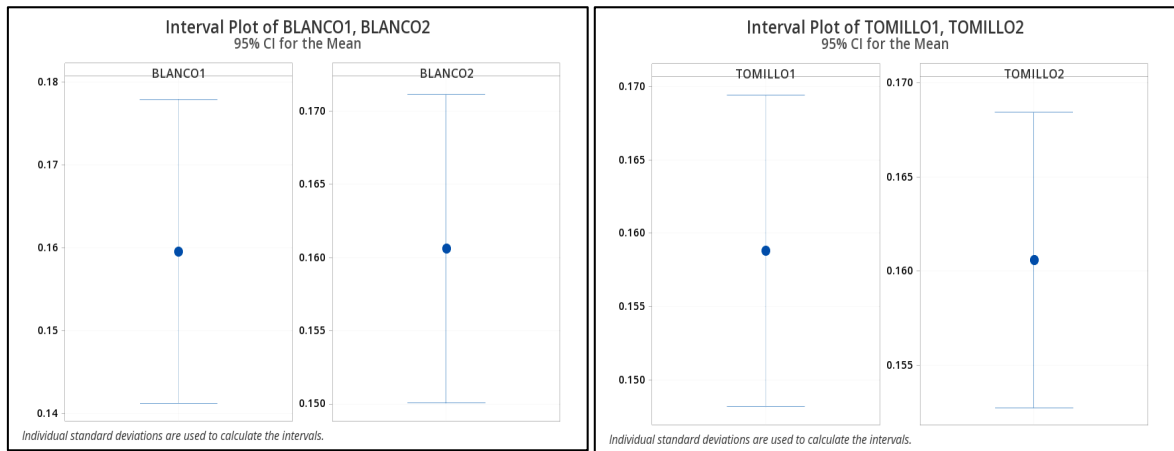
Gráfica 6. Distribución normal de los datos recopilados para la espesura de las películas. A) Blanco y Tomillo. B) Clavo y Mezcla



Fuente. Elaboración propia

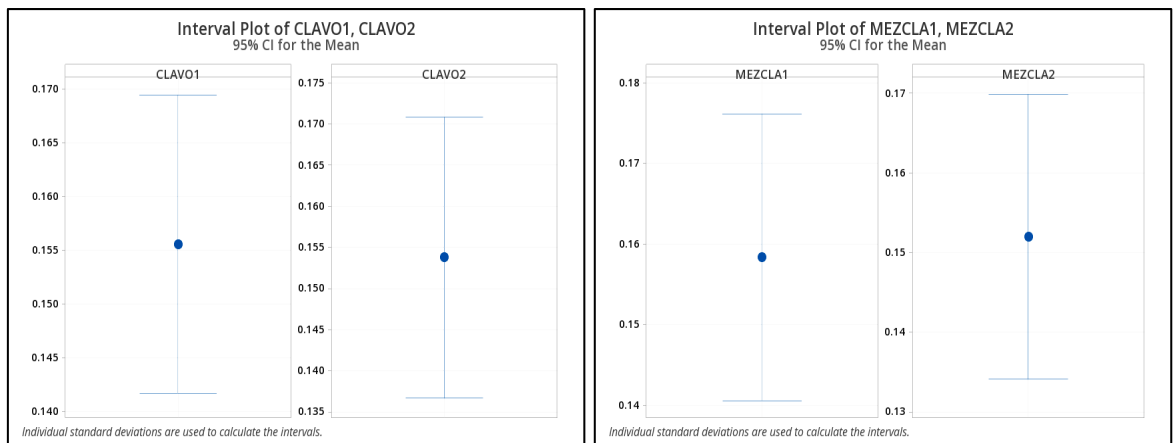
Las gráficas de probabilidad son generadas para verificar la normalidad y evaluar la distribución de los puntos obtenidos, se evidencia que los datos se encuentran relativamente cerca de la línea de distribución normal ajustada, lo que genera variabilidades bajas en cada dato y aseguran el uso de la media como dato general para los diferentes cálculos en que se involucren estos. Los valores p generados para las formulaciones son superiores al 0,05 de nivel de significancia, por lo tanto, no se rechaza que los datos siguen una distribución normal, el rango general definido para los espesores es de $0,1563 \pm 0,0043$ mm ; en la gráfica 7 y 8 se evidencia de manera unitaria los espesores promediales en punto azul y la desviación estándar de cada formulación.

Gráfica 7. Espesores promedio de las formulaciones Blanco - Tomillo y sus réplicas.



Fuente. Elaboración propia

Gráfica 8. Espesores promedio de las formulaciones clavo - mezcla y sus réplicas.



Fuente. Elaboración propia

3.4.2 Determinación de la Solubilidad

La determinación de la solubilidad se realizó midiendo el porcentaje de materia solubilizada en agua destilada a condiciones ambientales difíciles; el secado preliminar de las películas en mufla garantiza la máxima absorción de agua para posteriormente durante 24 horas ser expuestas a humedad y agitación continua en celdas de control como se muestra en la figura 19.

Figura 19. Celdas de control para la determinación de la solubilidad en agua.



Fuente. Elaboración propia.2020

La solubilidad en películas derivadas de biomasa presenta valores altos para aquellas que no se refuerzan con la adición de compuestos hidrofóbicos, bajo la formulación establecida se puede inferir en los rangos de solubilidad altos; sin embargo, la adición de aceites esenciales puede afectar esta propiedad.

Los parámetros de control para el experimento fueron 22°C y 55% de humedad relativa en las instalaciones donde se llevó a cabo la experimentación, los datos que se obtienen previo y posterior al tratamiento de las muestras se describen en la tabla 18.

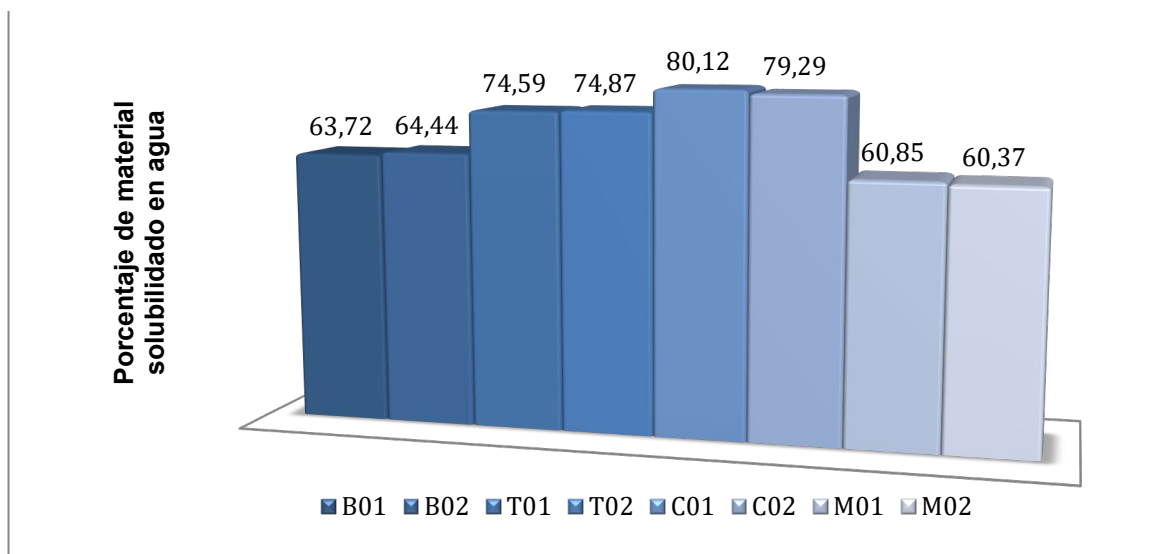
Tabla 18. Datos para la determinación de la solubilidad en agua de las formulaciones.

Formulación	B01	B02	T01	T02	C01	C02	M01	M02
Peso inicial seco (g)	0,2911	0,2950	0,2125	0,1866	0,2148	0,1381	0,1571	0,2614
Peso final seco (g)	0,1056	0,1049	0,0540	0,0469	0,0427	0,0286	0,0615	0,1036
Solubilidad %	63,72	64,44	74,59	74,87	80,12	79,29	60,85	60,37

Fuente. Elaboración propia

La gráfica 9 describe de manera visual el comportamiento de las películas activas en cuanto a la solubilidad presentada en agua.

Gráfica 9. Solubilidad en agua para los tratamientos.



Fuente. Elaboración propia

De acuerdo con la gráfica 9, los resultados obtenidos evidencian que las películas son altamente solubles en agua a pesar de la adición de aceite esencial cuya baja concentración no actúa a favor de la hidrofobicidad; los compuestos formadores de la red polimérica también juegan un papel vital en este comportamiento ya que el residuo agroindustrial y la pectina son ricos en hidrocoloides los cuales refuerzan la naturaleza hidrofílica disminuyendo la resistencia a la humedad¹⁶⁹, varios estudios registran que la pectina también influye en la solubilidad de las películas gracias a su capacidad gelificante y espesante¹⁷⁰.

Por otro lado, el glicerol es una sustancia altamente polar e higroscópica lo que afecta la solubilidad de la matriz al disminuir las fuerzas cohesivas estructurales permitiendo una mayor absorción de moléculas polares¹⁷¹. Valores tan altos de solubilidad se han presentado en estudios previos para películas comestibles formuladas con este tipo de plastificantes en matrices de HPMC¹⁷².

Varios investigadores describen también la relación directa entre la cantidad de humedad y la temperatura, autores como Gómez y Aguilera indican que el índice de solubilidad incrementa a bajo contenido de humedad del material y altas

¹⁶⁹ VARGAS, P. O. Estudio preliminar del contenido de pectina en cítricos de la estación experimental a diferentes estados de madurez. Tesis test jellies. Rev. Food Tech.1983 Vol 3:18-22

¹⁷⁰ FLORES J. Mermeladas y jaleas, las pectinas como materia prima y el fenómeno de gelificación. Rev. de Agroquím. y prima para la elaboración de mermelada. Tecnol. Aliment. 1996. vol 6: 6-11.

¹⁷¹ LA FUENTE, A. Glicerol, síntesis y aplicaciones. Master universitario en ciencia y tecnología química. Modulo de Química orgánica. Universidad Nacional de Educación a Distancia. 2017.

¹⁷² RIVERA, S. Elaboración y caracterización de películas comestibles con HPMC. Tesis gradual. Químico en alimentos. Universidad autónoma del estado de México. Nov del 2016.

temperaturas de exposición¹⁷³, lo que explicaría el alto porcentaje de solubilidad para las películas cuya humedad al inicio de la prueba es cercana al 0% y se trata con agua a temperatura ambiente de 22°C y cuya desintegración del material genera una solución viscosa gracias al rompimiento de los enlaces en la estructura y la migración al cuerpo acuoso.

Finalmente, el aceite de tomillo posee una miscibilidad en agua menor a la de aceite esencial de clavo lo que se representa en una disminución considerable en la solubilidad de las películas que poseen aceite de tomillo con respecto a aquellas formuladas de aceite de clavo, para las que la solubilidad es la más alta en comparación del resto de los tratamientos.

3.4.3 Determinación de la Permeabilidad al vapor de agua (PVA). La permeabilidad al agua es de las propiedades más importantes al momento de formular un empaque, generalmente cada tipo de alimento requiere de condiciones específicas para prolongar su vida en anaquel y la resistencia a condiciones ambientales.

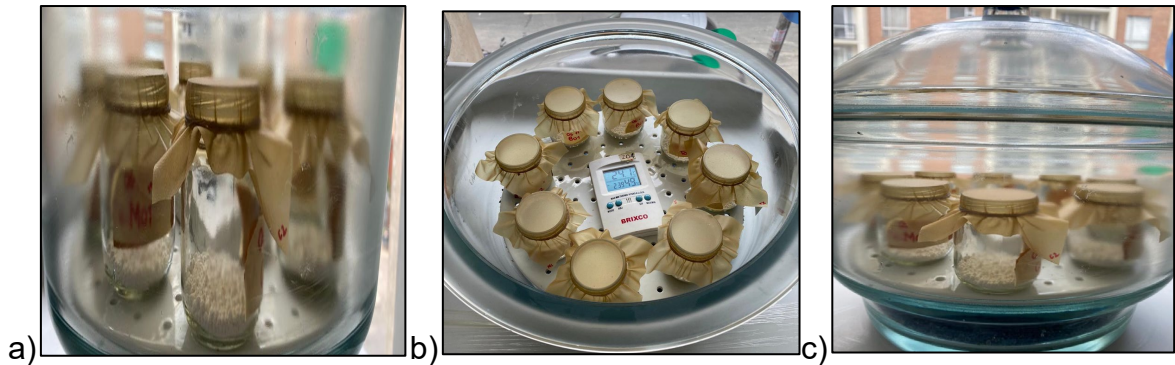
Los alimentos hortofrutícolas, en su mayoría, exigen materiales con buenas permeabilidades al vapor de agua ya que poseen tasas de transpiración altas que crean condensados capaces de afectar la firmeza de los tejidos y las características del alimento.

El uso del método desecante¹⁷⁴ dispuesto en esta investigación evalúa los tratamientos mediante la cuantificación de la cantidad de agua que puede atravesar la barrera que crea el empaque; inicialmente se determina la velocidad de transmisión de agua que representa la masa de vapor de agua transmitida de una de las superficies de la película a la otra, bajo condiciones predeterminadas; así pues mediante un material higroscópico colocado al interior de una cápsula se crea una atmósfera seca con humedad relativa cercana a cero, la cual es sellada de manera hermética por la película formulada y expuesta a condiciones ambientales controladas de 24°C y 55% HR en una cámara ambiental como se muestra en la figura 20.

¹⁷³ GUARAD, G., GALOTTO, M. G. 2001. Propiedades físicas de materiales plásticos. pág. 285.

¹⁷⁴ ALATA. Op cit. Pag 68

Figura 20. Montaje para permeabilidad al vapor de agua por el método desecante. a) celda individual, b) cámara de humedad con termo higrómetro, c) montaje completo



Fuente. Elaboración propia

Las celdas implementadas son de vidrio, este material impermeable garantiza el paso de vapor de agua únicamente por el área de control con las películas debidamente rotuladas y selladas usando como bastidor una banda de caucho de 13,5 cm de longitud con refuerzo, el material higroscópico es cloruro de calcio desecado en mufla durante 2 horas a 200°C previas al tratamiento.

La diferencia de humedad dentro de la cámara y la celda genera un incremento de peso a través del tiempo que se refleja en una pendiente gráfica cuyo valor determina los gramos de agua por metro cuadrado por unidad de tiempo o velocidad de transmisión de agua, véase la gráfica 11. El registro de datos para la ganancia de humedad a través del tiempo se muestra en la tabla 19.

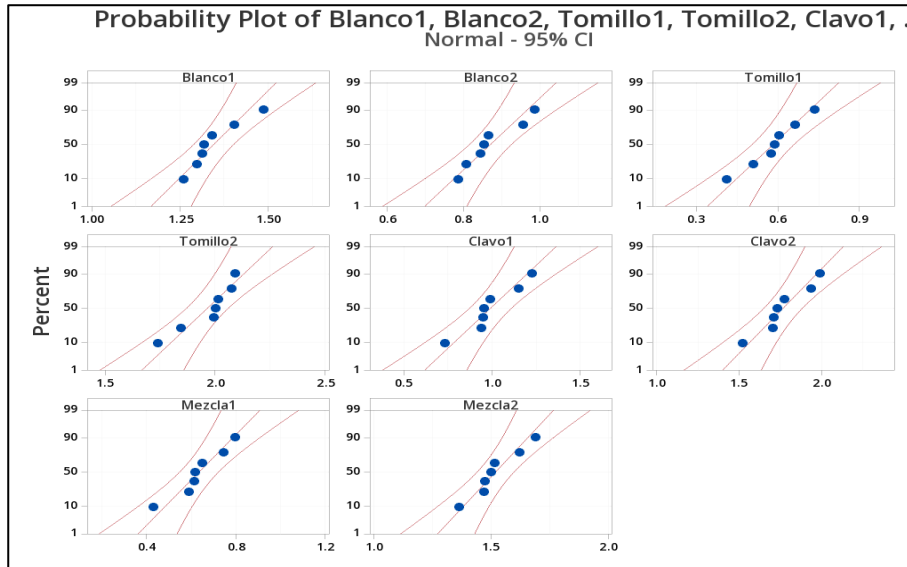
Tabla 19. Datos para ganancia de humedad de la celda de control a los 30 minutos y 1,2,5,6,22 y 30 horas de experimentación.

Formulación	B01	B02	T01	T02	C01	C02	M01	M02
Peso del recipiente	76,828	76,242	76,041	77,591	76,490	77,372	78,133	77,463
Peso del cloruro	15,030	15,005	15,069	15,057	15,017	15,037	15,019	15,011
Tiempo (Horas)	Ganancia de humedad de la celda (gramos)							
0,5	93,120	92,034	91,522	94,389	92,240	93,933	93,586	93,841
1	93,157	92,055	91,620	94,494	92,449	94,116	93,745	93,948
2	93,172	92,092	91,685	94,645	92,456	94,121	93,767	93,951
5	93,178	92,103	91,699	94,652	92,465	94,146	93,772	93,977
6	93,201	92,113	91,715	94,666	92,501	94,184	93,801	93,992
22	93,264	92,204	91,773	94,725	92,661	94,351	93,899	94,099
30	93,347	92,235	91,846	94,740	92,736	94,405	93,952	94,166
	Ganancia neta (peso en gramos)							
0,5	1,262	0,787	0,412	1,741	0,733	1,525	0,434	1,366
1	1,299	0,808	0,510	1,845	0,942	1,707	0,593	1,473
2	1,313	0,845	0,575	1,997	0,949	1,712	0,615	1,477
5	1,320	0,856	0,589	2,004	0,958	1,737	0,621	1,502
6	1,342	0,866	0,605	2,018	0,994	1,775	0,649	1,517
22	1,406	0,956	0,663	2,077	1,154	1,942	0,748	1,624
30	1,489	0,988	0,737	2,092	1,229	1,996	0,800	1,691

Fuente. Elaboración propia

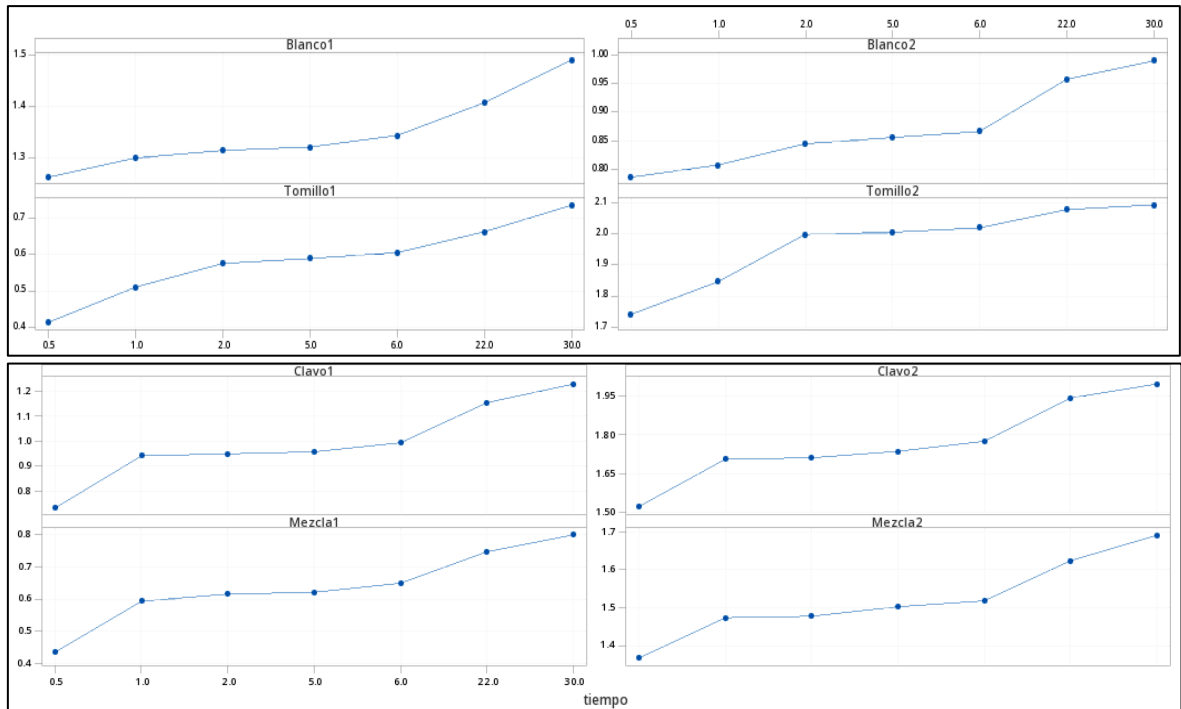
Los datos obtenidos se ajustan a un análisis para distribución normal como se muestra en la gráfica 8 donde se presenta la normalidad en la distribución de los puntos obtenidos, se evidencia que los datos se encuentran relativamente cerca de la línea de distribución normal ajustada, lo que garantiza la utilidad de los datos y su ajuste a un comportamiento ideal.

Gráfica 10. Distribución normal para la ganancia de humedad de la celda de control de todos los tratamientos.



Fuente. Elaboración propia

Gráfica 11. Ganancia de humedad en gramos de la celda de control vs tiempo expuesto, para todos los tratamientos y su réplica.



*Ecuación para las linealizaciones de las gráficas. B01: $y = 0,0064 x + 1,2869$; B02: $y = 0,0062 x + 0,8137$; T01: $y = 0,0076 x + 0,5119$; T02: $y = 0,0079 x + 1,893$; C01: $y = 0,0124 x + 0,8768$; C02: $y = 0,0123 x + 1,6533$; M01: $y = 0,0087 x + 0,5546$; M02: $y = 0,0086 x + 1,44$.

Fuente. Elaboración propia

Realizando la linealización de las gráficas expuestas anteriormente se establece un comportamiento directamente proporcional en ganancia de humedad para los diferentes materiales, cuya pendiente determina la velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA) relacionada al área de transmisión de la celda de control. Posteriormente se determina la presión de saturación del vapor de agua a las condiciones de experimentación mediante tablas referenciadas (ver anexo D) para el cálculo de la permeancia, cuyo valor determina “la cantidad de agua que pasa por unidad de superficie de una muestra de espesor conocido dado un tiempo unitario y cuando sus paredes establecen una diferencia de presiones unitarias”¹⁷⁵. Dichos valores se recopilan en la tabla 20.

Tabla 20. Datos para el cálculo de la permeabilidad al vapor de agua de los tratamientos y sus réplicas.

Formulación	Pendiente ($\frac{g}{h}$)	Área de transmisión (m^2)	VTVA ($\frac{g}{h * m^2}$)	Presión de vapor de saturación a 24 °C (Pa)	HR de la celda	HR de la cámara
B01	0,0063	0,0038	1,661	2.985,777	0	0,55
B02	0,0062	0,0038	1,634	2.985,777	0	0,55
T01	0,0076	0,0038	2,003	2.985,777	0	0,55
T02	0,0079	0,0038	2,082	2.985,777	0	0,55
C01	0,0124	0,0038	3,269	2.985,777	0	0,55
C02	0,0123	0,0038	3,242	2.985,777	0	0,55
M01	0,0087	0,0038	2,293	2.985,777	0	0,55
M02	0,0086	0,0038	2,267	2.985,777	0	0,55

Fuente. Elaboración propia

De acuerdo con los parámetros experimentales determinados se calculó la permeabilidad al vapor de agua de las películas formuladas en relación al espesor de cada tratamiento; la medición se lleva a cabo por duplicado con valores similares entre cada uno y su réplica, finalmente se expresa un valor promedial para cada material (blanco, tomillo, clavo y mezcla) dependiendo del compuesto activo que se encapsuló. Los valores finales de permeabilidad se exponen en la tabla 21 y su PVA por formulación se visualiza en la gráfica 12.

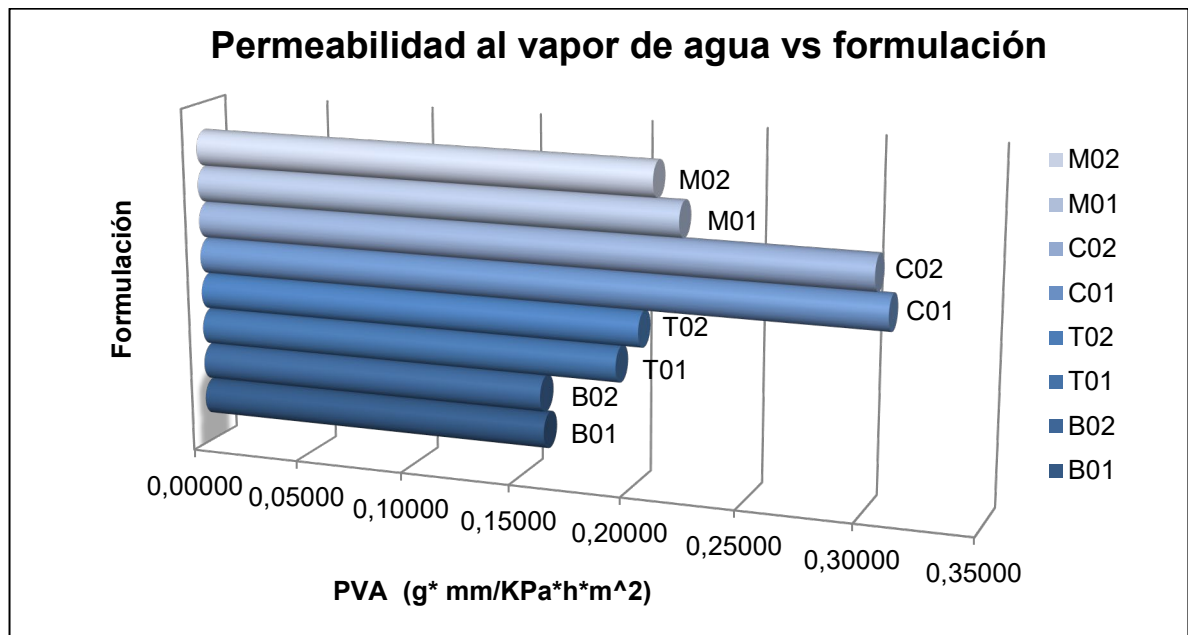
¹⁷⁵ARMACELL. Información técnica N°11:La permeabilidad al vapor de agua , la permeancia y el factor de resistencia. Ed.ARMACELL IBERIA. España. Disponible en <http://www.armacell.com>

Tabla 21. Valores de permeabilidad al vapor de agua de los tratamientos y sus réplicas.

Formulación	PVA $\left(\frac{g}{Pa \cdot s \cdot m^2}\right)$	Espesor promedio (mm)	PVA $\left(\frac{g \cdot mm}{Pa \cdot s \cdot m^2}\right)$	PVA $\left(\frac{g \cdot mm}{kPa \cdot h \cdot m^2}\right)$	PVA promedial
B01	2,80904E-07	0,1596	4,48323E-08	0,16140	0,16061
B02	2,76446E-07	0,1606	4,43972E-08	0,15983	
T01	3,38869E-07	0,1588	5,38124E-08	0,19372	0,19869
T02	3,52245E-07	0,1606	5,65706E-08	0,20365	
C01	5,52891E-07	0,1556	8,60299E-08	0,30971	0,30668
C02	5,48432E-07	0,1538	8,43489E-08	0,30366	
M01	3,87916E-07	0,1584	6,14458E-08	0,22120	0,21552
M02	3,83457E-07	0,1520	5,82854E-08	0,20983	

Fuente. Elaboración propia

Gráfica 12. Permeabilidad al vapor de agua para los tratamientos.



Fuente. Elaboración propia

Los valores obtenidos, expresados en $(\frac{g}{Pa * s * m^2})$ demuestran materiales con permeabilidades al vapor de agua similares a las presentadas en investigaciones previas por películas formuladas de gluten de trigo y proteína de soya, cuyos valores son de 1,4E-9 y 4,44E-9 $(\frac{g}{Pa * s * m^2})$ respectivamente¹⁷⁶; el material sintetizado presenta valores bajos para el cuidado de alimentos frescos con alta transpiración, cuya humedad interna pueda afectar la calidad, estructura, sabor u olor; sin embargo, investigaciones previas demuestran que las películas desarrolladas a partir de polisacáridos o proteínas presentan barreras pobres frente a la humedad que pueden reforzarse con la adición de lípidos, preferiblemente con altos puntos de fusión tales como la cera de abeja y la cera carnauba¹⁷⁷. Mchugh y Col también establecen una relación directa entre el espesor, la resistencia a la transferencia de masa y la presión parcial de vapor de equilibrio en la superficie interna del envase lo que ha demostrado que incluir múltiples superficies o capas puede generar películas gruesas capaces de reforzar la PVA¹⁷⁸.

La permeabilidad está directamente relacionada con la solubilidad del material, por lo tanto para la formulación de aceite esencial de clavo se puede evidenciar el valor más alto de todas las formulaciones en permeabilidad; en este sentido cada uno de los valores obtenidos se ve influenciado por el valor de solubilidad al agua presentado anteriormente; el tratamiento con mejor permeabilidad es el blanco, característica atribuida principalmente a la falta de homogenización, que puede influir en la porosidad del material, la solubilidad (63 ± 1) y el valor de espesor ($0,1606 \pm 0,008$). Otro punto esencial para la transferencia de humedad del material es el uso de glicerol como plastificante que aunque presenta una excelente compatibilidad con la matriz polimérica también incrementa la capacidad de absorción de moléculas polares como el agua, afectando las uniones cohesivas del material al disminuir las fuerzas presentes en estas, que provocan un mayor espaciado en la estructura incrementando la migración de moléculas a través de la barrera de la película.

Para reforzar las propiedades de barrera de películas poliméricas comúnmente se añaden lípidos como agentes de refuerzo a las condiciones de hidrofobicidad, de

¹⁷⁶GONZALEZ-LINARES, Jairo I; MEDINA-VIVANCO, Mari L; GARAY-MONTES, Richer y MENDIETA-TABOADA, Oscar W. Desarrollo de Películas Comestibles a partir de Proteínas Extraídas de la Torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Inf. tecnol. [online]. 2017, vol.28, n.5 pp.115-130. Disponible en: <<https://scielo.conicyt.cl/scielo>>.

¹⁷⁷MORILLON, V., DEBEAUFORT, F., BOND, G., CAPELLE, M., & VOLLEY, A. Factors affecting the moisture permeability of lipid – based edible films: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. . 2002. Vol 42 (n° 1), 67 – 89.

¹⁷⁸MCHUGH, T., KROCHTA, J. Sorbitol-vs glycerol-plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994. Vol 42, pp 841-845.

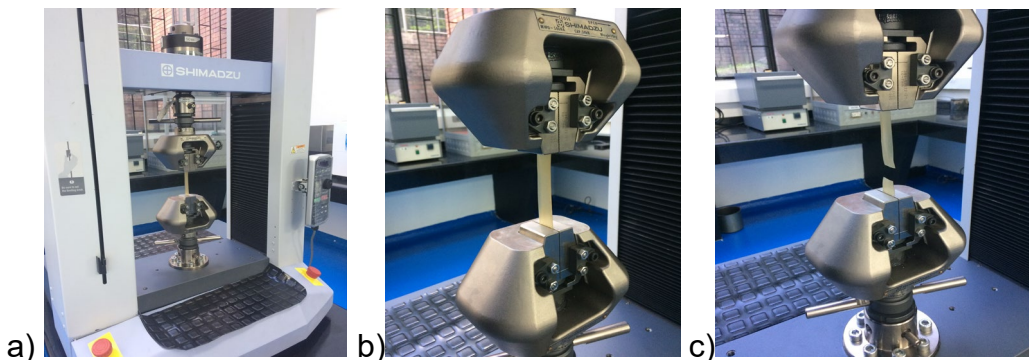
la misma manera pueden diseñarse empaques híbridos entre varios monómeros naturales con el fin de aprovechar las características de cada sustancia, otra solución para mejorar dichas propiedades es formular películas bicapa que incrementen el valor del espesor que se relaciona directamente con la barrera del empaque.

3.4.4 Ensayo de tracción para las propiedades mecánicas. La determinación de las propiedades mecánicas de las películas formuladas es fundamental en la caracterización del material ya que describen el comportamiento frente a fuerzas ajenas que se ejercen sobre la misma y responden de una u otra manera en función del tipo de polímero y el proceso de transformación por el que hayan pasado. La elección del material de embalaje tiene una fuerte relación con las propiedades mecánicas estableciendo las condiciones a las que puede exponerse el material y su resistencia.

Generalmente los materiales plásticos responden a fuerzas de tracción, torsión o estiramiento que generan en ellos deformación en relación al valor de la fuerza, estos terminan, dependiendo del caso, en la rotura del material¹⁷⁹; para evaluar las propiedades de las películas formuladas estas se exponen a condiciones extremas y controladas, según la metodología expuesta en el numeral 2.6.

Las probetas pre estipuladas bajo la norma ASTM D882 son dispuestas en las mordazas de la máquina universal de ensayos, provista en las instalaciones de la Fundación Universidad de América como se muestran en la figura 21.

Figura 21. Montaje de las probetas en la Máquina universal de ensayos. Montaje general; b) Disposición de la probeta; c) Ruptura de la película



Fuente. Elaboración propia

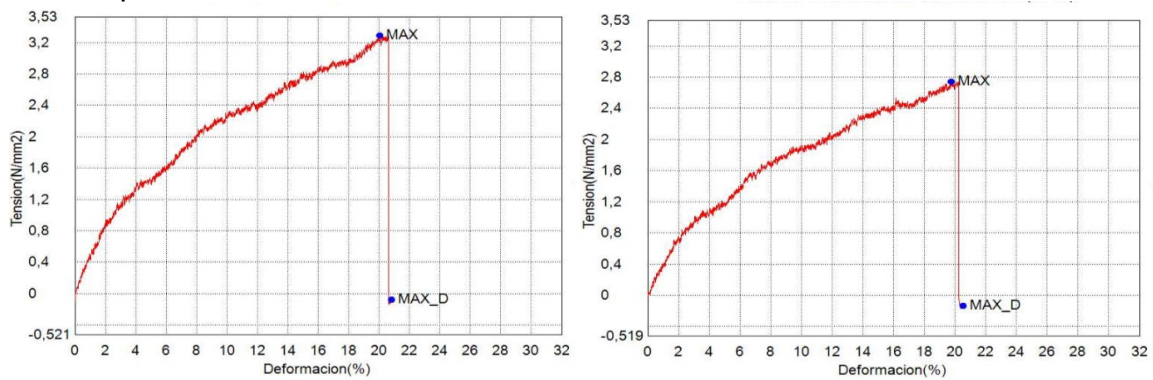
Las mordazas se desplazan a una velocidad de $8 \left(\frac{mm}{min} \right)$ separándose entre sí hasta la ruptura de la película, este ensayo permite recopilar datos de máxima

¹⁷⁹VELASQUEZ, C., BARRIOS, E. Las propiedades mecánicas de los plásticos usados en Venezuela y su relación con la estructura química. 2005. Grupo de Polímeros, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes- Mérida 5101 – Venezuela.

fuerza (N), máxima tensión ($\frac{N}{m^2}$), porcentaje de máxima deformación y un desplazamiento por cada 4,44882 N de fuerza aplicada.

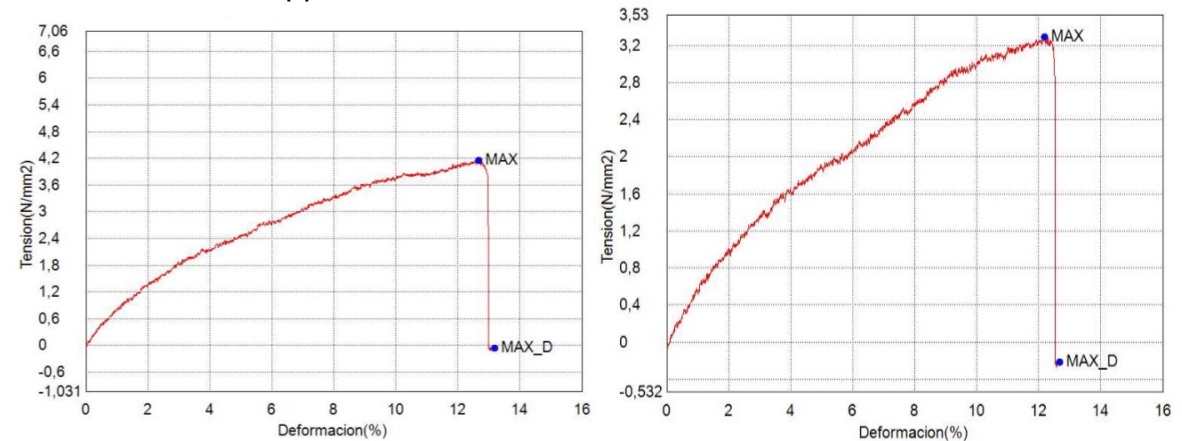
La tensión necesaria representada en el eje de las ordenadas para la deformación unitaria del material, en el eje de las abscisas, demuestra un comportamiento linealizable y directamente proporcional entre la fuerza de tensión aplicada y la deformación descrita, como se evidencia en las gráficas 13, 14, 15 y 16, la línea roja ascendente describe que las películas se consideran materiales lineales; de esta forma la relación entre la fuerza requerida para un desplazamiento en milímetros referida a la capacidad de elongación se hace similar en comportamiento como se muestra en las gráficas 17, 18, 19 y 20. Se expone de manera representativa una gráfica para cada formulación y una para su réplica.

Gráfica 13. Ensayo de Tensión ASTM 882 para la formulación blanco (B01-B02) sin compuesto activo.



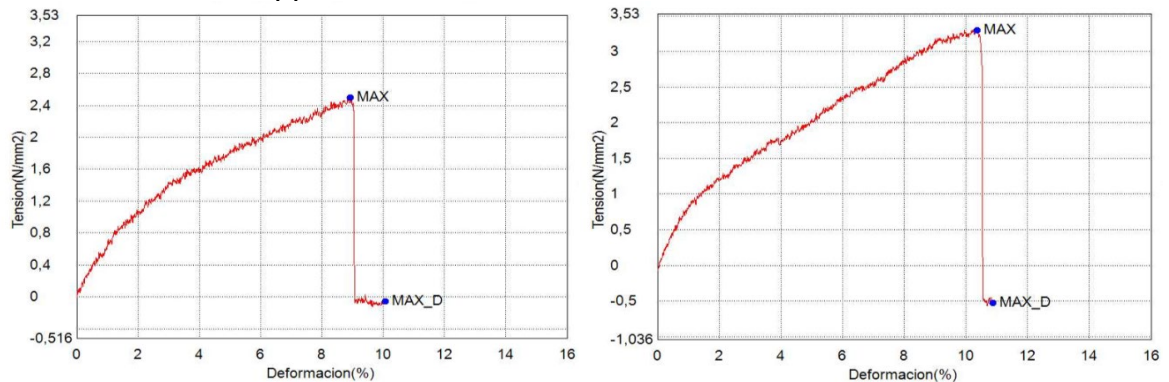
Fuente. Elaboración propia

Gráfica 14. Ensayo de Tensión ASTM 882 para la formulación T01-T02; tratamiento de 500 ppm de aceite esencial de tomillo.



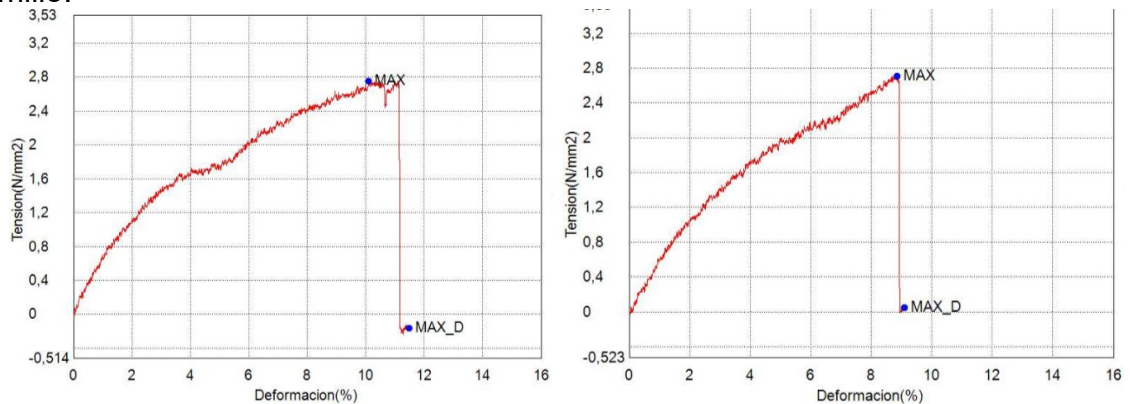
Fuente. Elaboración propia

Gráfica 15. Ensayo de Tensión ASTM 882 para las formulaciones C01-C02; tratamiento de 500 ppm de aceite esencial de clavo.



Fuente. Elaboración propia

Gráfica 16. Ensayo de Tensión ASTM 882 para las formulaciones M01-M02; tratamiento de 250 ppm aceite esencial de clavo y 250 ppm de aceite esencial tomillo.

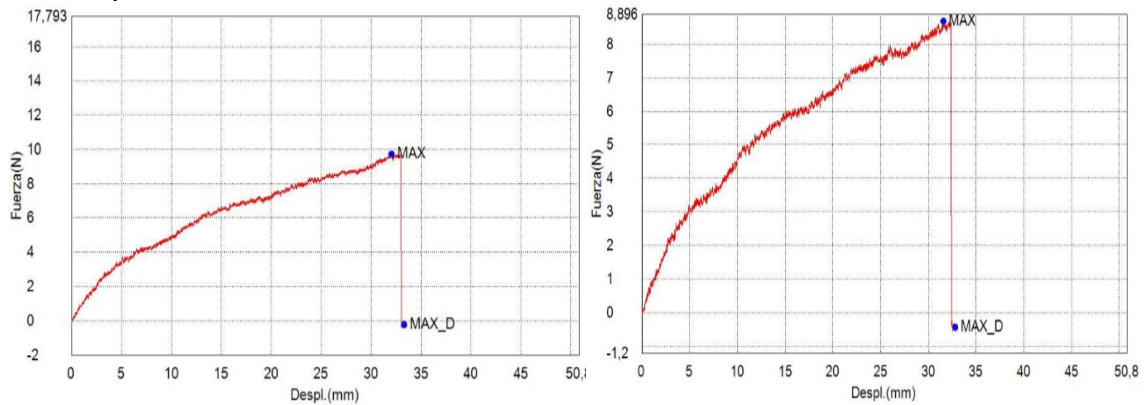


Fuente. Elaboración propia

La tensión necesaria para la ruptura del material en Mpa relaciona una fuerza aplicada por el área de evaluación de un material, las graficas obtenidas demuestran una lamina delgada capaz de resistir una fuerza en Newtons por cada mm cuadrado de área esforzada, cuyo valor es muy apreciado en la comparación de resistencia a esfuerzos externos generados por el producto para el cual se destina el material. Los gráficos de Tensión- Deformación para películas plásticas suaves y elásticas se presentan como líneas semicurvas similares a las obtenidas y son fundamentales para la caracterización del material y su aplicabilidad en las industrias de embalaje o envase.

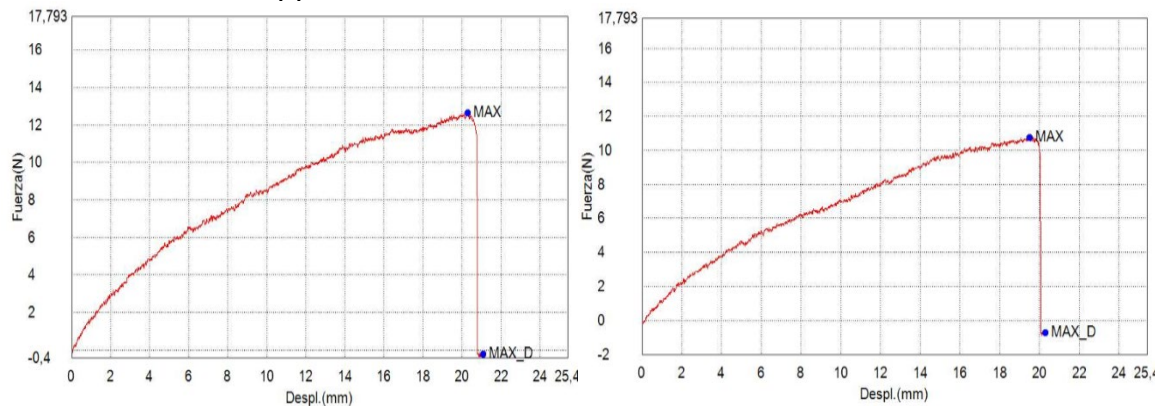
En las gráficas a continuación se evidencia la fuerza requerida para desplazar el material desde una longitud inicial hasta la ruptura de la misma, generando valores vitales para determinar la elongación.

Gráfica 17. Ensayo de fuerza-desplazamiento para la formulación blanco B01-B02 sin compuesto activo.



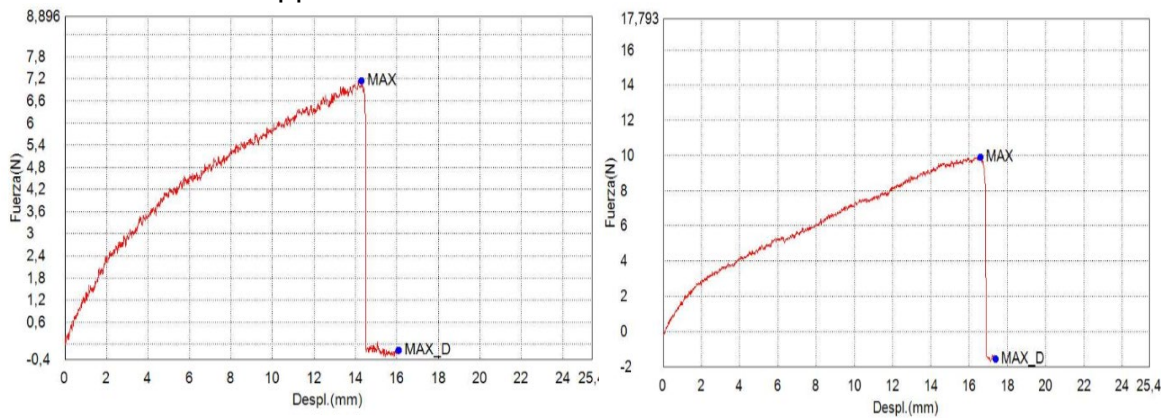
Fuente. Elaboración propia

Gráfica 18. Ensayo de fuerza-desplazamiento para la formulación T01-T02; tratamiento de 500 ppm de aceite esencial de tomillo.



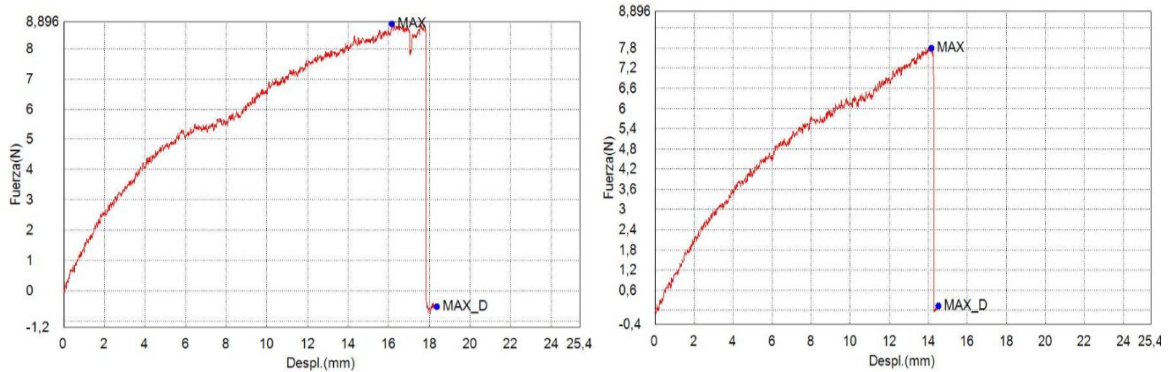
Fuente. Elaboración propia

Gráfica 19. Ensayo de fuerza-desplazamiento para la formulación C01-C02; tratamiento de 500 ppm de aceite esencial de clavo.



Fuente. Elaboración propia.2020

Gráfica 20. Ensayo de fuerza-desplazamiento para la formulación M01-M02; tratamiento de 250 ppm aceite esencial de clavo y 250 ppm de aceite esencial tomillo.



Fuente. Elaboración propia

Los datos referentes al triplicado por cada formulación se recopilan en la tabla 22 expresando los tratamientos, sus réplicas y el triplicado para cada medición.

Tabla 22. Datos arrojados por el Software en el ensayo de tracción.

Formulación	Probeta	Máxima fuerza (N)	Máxima Tensión ($\frac{N}{mm^2}$)	Máxima Deformación (%)	Desplazamiento (mm)
B01	1	8,40823	2,74779	13,6421	6,64701
	2	9,74337	3,29168	20,8256	8,48655
	3	5,2611	1,66491	17,11756	7,01302
B02	1	5,54721	1,81281	10,4628	11,3034
	2	10,1328	3,42324	28,2547	9,82904
	3	8,67049	2,74383	20,5093	9,70227
T01	1	10,5222	3,43863	13,8293	4,46139
	2	12,567	4,2398	15,896	5,8765
	3	15,6754	3,5784	13,795	5,8943
T02	1	10,7765	3,28552	12,6878	4,79038
	2	9,91821	3,17891	9,79611	4,41944
	3	12,6441	4,15925	13,1843	3,56919
C01	1	7,1764	2,09836	8,49602	4,90078
	2	7,13666	2,49534	10,0593	5,6834
	3	6,37372	2,15329	20,9254	3,4266
C02	1	9,89437	3,29812	10,8628	4,47038
	2	10,3633	1,44137	9,17139	2,18409
	3	16,7926	5,87154	12,2171	1,51988
M01	1	9,30627	2,68967	14,0342	5,25706
	2	8,81354	2,75423	11,4838	4,3623
	3	11,1421	3,97932	17,7339	3,76417
M02	1	7,63734	2,70828	8,00491	4,87007
	2	6,2863	2,1095	5,63001	4,13897
	3	7,80424	2,7098	9,08815	5,39422

Fuente. Elaboración propia

Los valores de tensión, fuerza y deformación unitaria son vitales para establecer el comportamiento elástico del material mediante el cálculo del módulo de Young

para dicho fin se ajustan los datos obtenidos mediante una distribución normal generando un valor promedial \pm su respectiva desviación estándar para describir el comportamiento de cada tratamiento cuyos valores se expresan en la tabla 23.

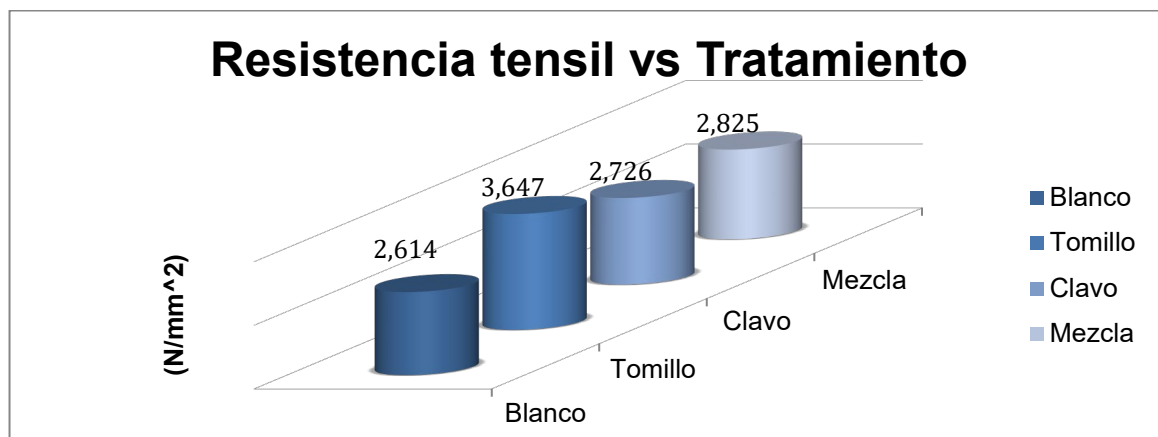
Tabla 23. Datos tratados para la resistencia a la tensión, porcentaje de máxima deformación y desplazamiento de las películas formuladas.

Tratamiento	Resistencia a la Tensión ($\frac{N}{mm^2}$)	Máxima Deformación (%)	Desplazamiento (mm)
Blanco	2,614 \pm 0,734	16,802 \pm 7,811	8,830 \pm 1,792
Tomillo	3,647 \pm 0,450	13,198 \pm 1,993	4,835 \pm 0,908
Clavo	2,726 \pm 1,801	11,955 \pm 4,583	5,364 \pm 4,266
Mezcla	2,825 \pm 0,616	10,996 \pm 4,387	4,631 \pm 0,648

Fuente. Elaboración propia

El comportamiento de los tratamientos es similar en cada uno de los ensayos de tracción para los valores obtenidos de resistencia a la tensión como figura en la gráfica 21, por lo tanto se puede definir que las películas obtenidas estiman una resistencia tensil de 2,953 \pm 0,470 MPa en rango genérico; valores similares se han reportado en los estudios para películas biodegradables de cáscaras de naranja sin encapsulación de compuesto activo cuya resistencia a la tensión para las películas formuladas de 10 y 15 % de residuo cítrico son de 2,52 y 2,84 MPa respectivamente¹⁸⁰.

Gráfica 21. Resistencia tensil de los tratamientos



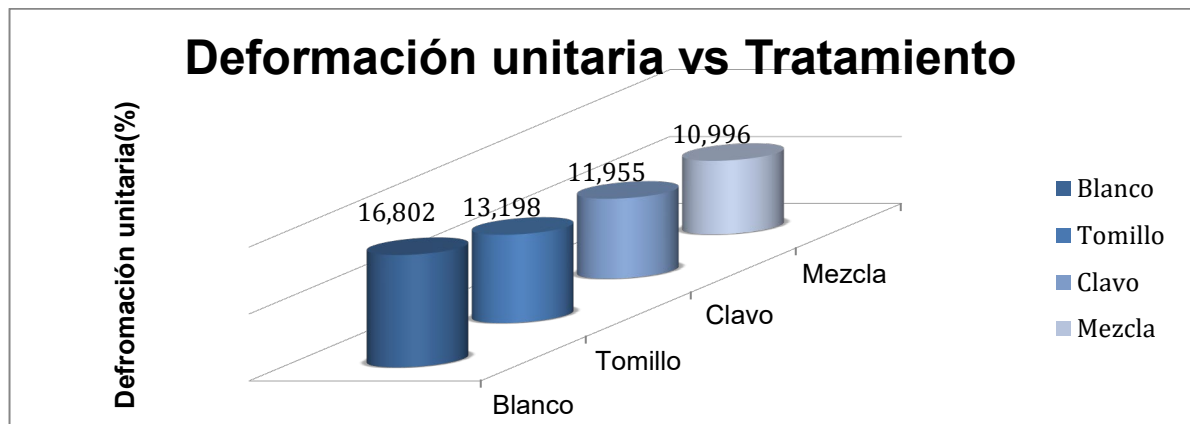
Fuente. Elaboración propia

¹⁸⁰ ALATA MAYHUIRE, E . CUADROS HUAMANI, Y. F. Formulación y evaluación físico mecánica de películas biodegradables en base a residuos cítricos y celulosa bacteriana. Tesis Gradual Ingeniero Químico, Universidad nacional San Agustín de Arequipa. Facultad de ingeniería de procesos. Escuela profesional de Ingeniería Química. 2017.

Es importante recalcar la incidencia del espesor en los resultados obtenidos, puesto que el método utilizado en la etapa de extendimiento de la película no garantiza la uniformidad de esta, provocando sectores con mayor fragilidad, investigaciones sobre el refuerzo de propiedades en películas formuladas de polisacáridos establecen que la inclusión de capa sobre capa de biopolímero refuerza las propiedades mecánicas generando materiales más resistentes.

El porcentaje de deformación por otro lado reporta valores mayores en el blanco formulado sin adición de compuesto activo como se evidencia en la gráfica 22. Este comportamiento puede atribuirse a la ausencia de burbujas de aire inmersas durante la homogeneización del aceite esencial, que interrumpen la estructura polimérica generando puntos débiles que facilitan la ruptura del material durante el ensayo, los niveles de deformación para las formulaciones que poseen interacción con el compuesto activo de tipo aceitoso presentan valores menores y desviaciones estándar más pequeñas; cabe resaltar que los rangos de deformación de todas las probetas son amplios; investigaciones previas establecen que el uso de aceites en la formulación de películas poliméricas puede influir en la plasticidad del material disminuyendo la humedad inmersa, lo que a su vez incrementa las propiedades mecánicas a la tensión y disminuye la elasticidad a los enlaces de cohesión entre la red polimérica que reducen el porcentaje de deformación unitaria¹⁸¹.

Gráfica 22. Porcentaje de Deformación unitaria por tratamiento



Fuente. Elaboración propia

El desplazamiento de la formulación Blanco es mayor al resto de las formulaciones con encapsulación del compuesto activo cuya elongación no supera el valor promedio de 33 mm reportado por el tratamiento control sin adición de aceite esencial, esto refleja una mayor capacidad de estiramiento retribuida según

¹⁸¹ CORRALES M. FERNÁNDEZ A, HAN J. Chapter 7: Antimicrobial Packaging Systems. Food Science and Technology. Innovations in Food Packaging. 2014. 2^o Edition, Academic Press. Pages 133-170, ISBN 9780123946010.

investigaciones reportadas por Delville en 2002 y Gobdillot en 2006 al contenido de humedad que ejerce una fuerte acción plastificante lo que reduce la resistencia mecánica pero aumenta la flexibilidad de las películas¹⁸².

Cabe resaltar que las películas absorben gran cantidad de humedad ambiental desde el momento de su producción dada la naturaleza hidrofílica de la pectina, los polisacáridos implementados y el glicerol, causando una disminución en la resistencia tensil que puedan presentar y un aumento en la elongación, este comportamiento ha sido descrito con anterioridad en películas desarrolladas de cáscara de plátano, donde el agua actúa como un plastificante que incrementa la movilidad de la cadena polimérica¹⁸³.

Los valores encontrados en el desplazamiento son menores a los reportados por Alata y Cuadros (16,21 y 20,07 respectivamente)¹⁸⁴cuya incidencia recae en la cantidad de plastificante implementado, el cual, en el estudio en referencia, tiene un mayor porcentaje en la composición de la película, debido a este incremento aumenta la capacidad de elongación permitiendo un mayor desplazamiento al momento de aplicar una fuerza de tracción.

3.4.5 Cálculo del módulo de Young o elasticidad

El módulo de Young es de suma relevancia en la caracterización de los empaques dada su capacidad de predecir el valor máximo de estiramiento que tienen estos materiales bajo una fuerza determinada, más bien referida a la rigidez del material. La determinación se relaciona a partir de los valores obtenidos en la tabla 20, el promedio sobre los dos ensayos de cada tratamiento genera el esfuerzo real (σ) y la deformación axial (ϵ) para cada uno; de acuerdo a valores previos se calcula el valor de módulo de Young resumidos en la tabla 24.

¹⁸²GODBILLOT, L. DOLE, P. JOLY, C. ROGÉ, B. MATHLOUTHI, M. Analysis of water binding in starch plasticized films. Food Chemistry. 2006. vol 96(nº3), 380-386.

¹⁸³CORTÉS J. FERNÁNDEZ A. MOSQUERA S. VELASCO. Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca. Tecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2014. Vol 12 No. 1 (88-97).

¹⁸⁴ALATA. CUADROS. Op cit. Pag 45

Tabla 24. Valores del módulo de Young para cada uno de los tratamientos y sus réplicas.

Formulación	Esfuerzo real (σ) (MPa)	Deformación unitaria (ϵ)	Módulo de Young (ϵ) (MPa)
B01	2,568	13,862	18,527
B02	2,660	19,742	13,474
T01	3,752	14,507	25,864
T02	3,541	11,889	29,783
C01	2,249	13,160	17,089
C02	3,204	10,750	29,803
M01	3,141	14,417	21,786
M02	2,500	7,574	33,006

Fuente. Elaboración propia

Los valores obtenidos de módulo de Young para las formulaciones se ajustan a los reportados por la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa (Perú) en su estudio de películas a base de residuos cítricos y celulosa bacteriana¹⁸⁵, las magnitudes para este tipo de película varían alrededor de 17,37 MPa cuyo porcentaje de inclusión con respecto al residuo cítrico fue del 10%, esto evidencia la relación directamente proporcional del módulo de Young a la concentración de aceite esencial. Por otro lado las películas formuladas presentan valores superiores a películas formuladas a partir de proteínas según ha sido reportado por la Universidad de Antioquia (Colombia) donde se elaboraron películas a base de proteínas de lactosuero obteniendo 12,45 MPa aproximadamente, lo que resulta en películas con mayor elasticidad¹⁸⁶.

Uno de los principales factores a los que se le atribuye los resultados obtenidos, descritos por tratamiento en la gráfica 23, fue al plastificante y su influencia inversamente proporcional con respecto al módulo de Young, ya que reduce la interacción cohesiva de las moléculas separando una de otra y logrando un aumento las propiedades elásticas y la disminución en la rigidez, acción relacionada con la reducción de la temperatura de transición vítrea como explica Vieira¹⁸⁷. Por otro lado, es importante mencionar el efecto de la pectina y su inclusión en la matriz polimérica, ya que su alta solubilidad en agua, concede flexibilidad y a su vez provoca altas deformaciones, cediendo propiedades plastificantes a la películas¹⁸⁸.

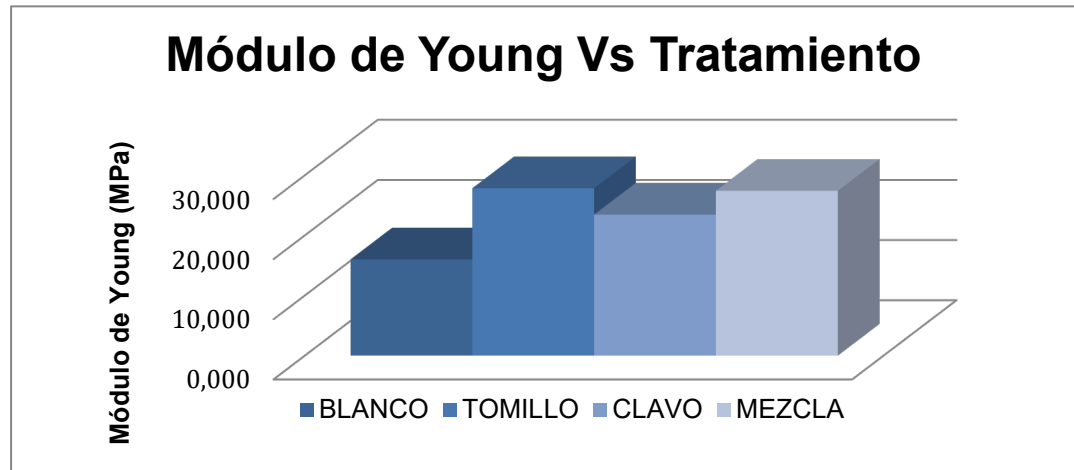
¹⁸⁵ ALATA, E. y CUADROS, Y. Op cit. Pp 45

¹⁸⁶ GRANADA, D., MEDINA Y., CULEBRAS, M. y GÓMEZ, C. Desarrollo y caracterización de una película activa biodegradable con antioxidantes (Alfa-tocoferol) a partir de las proteínas de lactosuero. 2014.

¹⁸⁷ VIEIRA, M., ALTENHOFEN, M., OLIVEIRA, L. y MASUMI, M. 2011. Natural-based plasticizers and biopolymer films: a review. European Polymer Journal, vol 47:254-263

¹⁸⁸SUDESH, K.; ABE, H.; YOI, D. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. Prog Polym Sci. 2000. Vol 25:1503–1555

Gráfica 23. Módulo de elasticidad para los tratamientos.



Fuente. Elaboración propia

Es preciso destacar que las películas obtenidas a partir de cáscaras de naranja con aceites esenciales establecieron valores cercanos en comparación con otras matrices biodegradables y agroindustriales, a pesar de ello las diferencias con plásticos sintéticos como el polietileno de baja densidad o polipropileno son considerables, de acuerdo con Sudesh, los valores del módulo de Young respectivamente para estos materiales son de 0,2 y 1,7 GPa¹⁸⁹. El comportamiento descrito por el módulo de elasticidad de las películas también establecen una relación directamente proporcional con la resistencia tensil del material, incrementado el valor del módulo de forma directa al valor en la resistencia, la cual indica propiedades rígidas en los materiales.

¹⁸⁹ SUDESH, K.; ABE, H.; YOI, D. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates : biological polyesters. Prog Polym Sci. 2000. Vol 25:1503–1555

4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS FORMULADAS

Las películas activas para el envasado de alimentos representan una nueva etapa para las industrias de plásticos y productos frescos que cada día incrementan sus demandas en relación a la creciente tasa de natalidad; la evolución de los sistemas de envasado relacionada a las exigencias de los consumidores acrecienta el interés de los empresarios para generar materiales seguros, ecoamigables y funcionales que reduzcan considerablemente los desechos plásticos y su impacto ambiental¹⁹⁰.

El estudio de envases funcionales permite incursionar en materias primas biodegradables capaces de transportar moléculas activas que controlen el ambiente interno y su interacción con el alimento generando sanidad, seguridad e inocuidad, así mismo una reducción en el desperdicio de productos para consumo que extienden su tiempo de vida útil al proveer compuestos naturales que sustituyen las sustancias antioxidantes, antimicrobianas y conservantes tradicionales.

4.1 OBTENCIÓN DE LA CEPA *RHIZOPUS STOLONIFER*

Se recolecta de una fuente comercial la muestra de fresa infectada con *Rhizopus Stolonifer* en etapa de esporulación como se evidencia en la figura 22.

Figura 22. Muestra de fresa infectada con RS en etapa de esporulación.



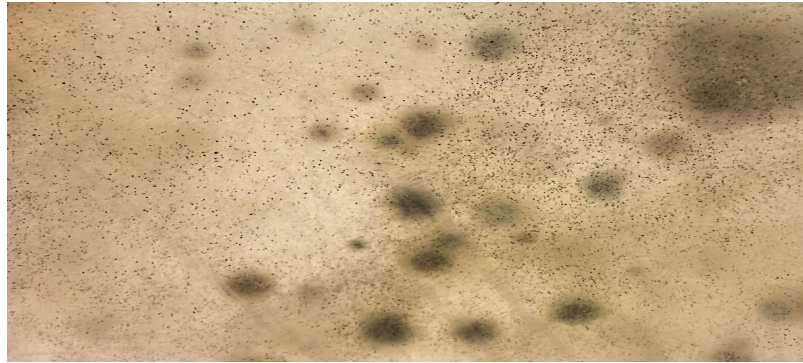
Fuente. Elaboración propia

De acuerdo al apartado 2.8.1 se aísla con un asa de siembra estéril una porción significativa del moho para posterior siembra en placa Petri con medio de cultivo PDA y se deja incubar durante 4 días a condiciones de temperatura ambiental y humedad relativa del 55% aproximadamente; terminado este lapso de tiempo se evidencia una coloración gris indicativo de esporulación y se genera la primera réplica de moho denominada placa madre.

¹⁹⁰ THARANATHAN, R. Trends in food science and technology. 2003. Vol 14(nº3). Pp 71-78

Posteriormente se recolecta con un asa estéril una porción de esporas de la placa madre y se siembra nuevamente en placas Petri con solución PDA, generando el primer aislado que se incuba a condiciones ambientales hasta el desarrollo del hongo como se muestra en la figura 23.

Figura 23. Aspecto del primer aislado de Rhizopus Stolonifer en PDA.

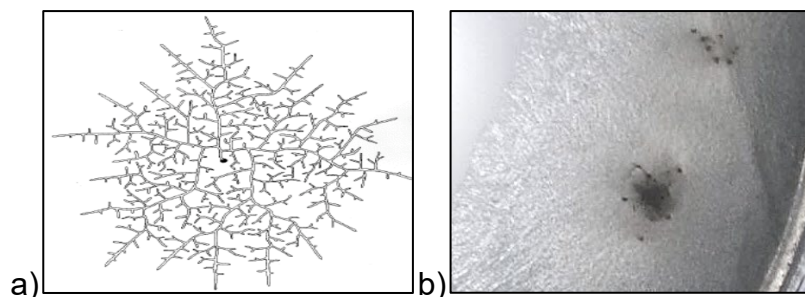


Fuente. Elaboración propia

El anterior procedimiento es replicado una vez más con el fin de obtener un segundo aislado de un único punto de inóculo, su aspecto se caracteriza por una coloración blanca en la etapa de desarrollo somático seguido de un tiempo de normalización para las condiciones ambientales, en donde se puede evidenciar la formación de una colonia por el crecimiento y ramificación de las hifas jóvenes representado en la figura 24.

Figura 24. Formación de una colonia a partir de una espora.

a) Representación grafica; b) fotografía

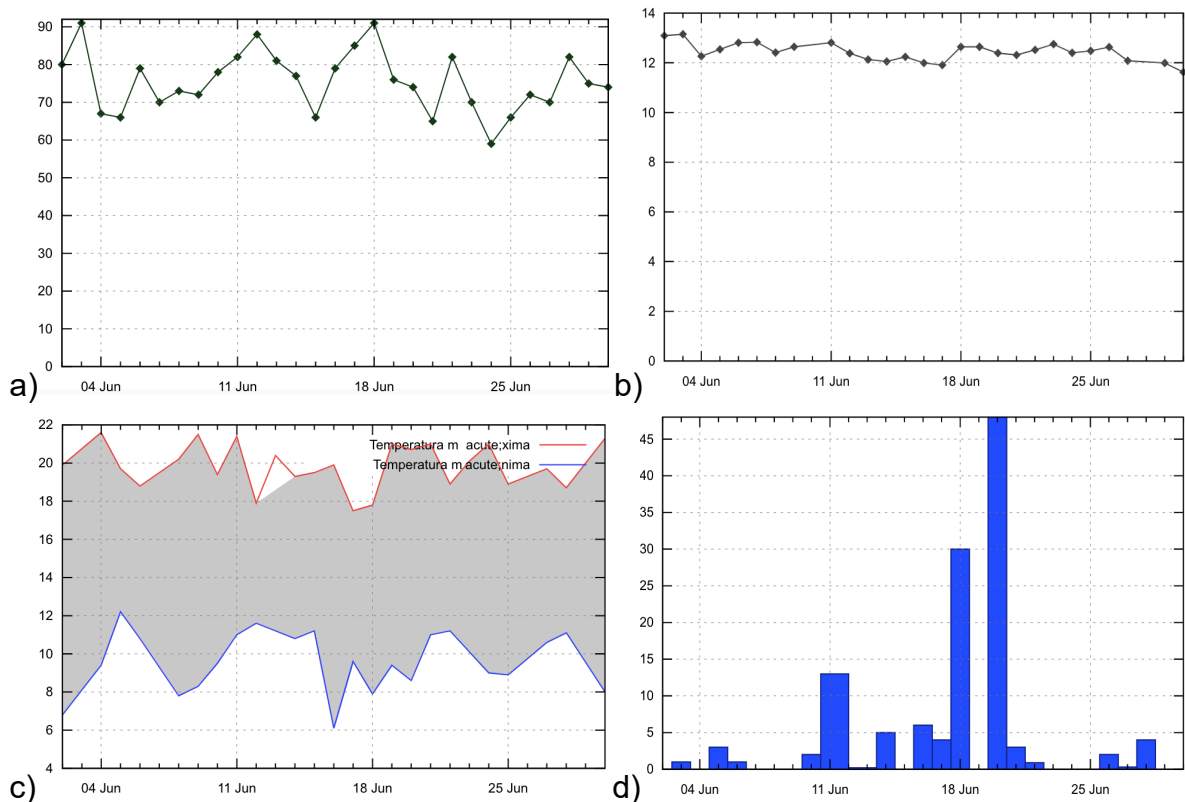


Fuente. Elaboración propia

Para la obtención del aislado requerido en la determinación de las propiedades antifúngica de las películas se realiza un cultivo monospórico en donde se toma con un asa una porción de esporangios y se diluye en agua destilada tratada hasta una concentración de 10^{-6} mL; finalmente se siembra dicha dilución sobre placas con PDA y se genera el cultivo puro cuyas esporas maduras son sembradas en un medio de cultivo PDA para caracterizar las etapas de crecimiento del

microorganismo, a condiciones ambientales normales para la ciudad de Bogotá, durante el mes de junio, cuya progresión climática y parámetros ambientales se describen en la gráfica 24.

Gráfica 24. Condiciones ambientales para la siembra y caracterización de las etapas de crecimiento de RS. a) porcentaje humedad relativa (%); b) índice UV; c) Temperatura máxima y mínima (°C); d) Precipitación (mm)

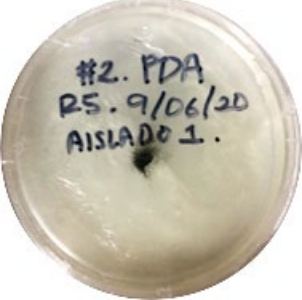





Fuente. WEATHER ONLINE LTD AND METEOROLOGICAL SERVICES. Weatheronline Ltd: Colombia, Bogotá, Junio El dorado aeropuerto (2546 m). London, United Kingdom. Dr. Ulrich Römer. Consultado 29 jul 2020. Disponible en www.woespana.es

El día inicial de siembra (9 de junio del 2020) reporta una temperatura de 20°C y humedad relativa de 71%; la placa lista es dispuesta en una cabina en condiciones de asepsia y no es retirada de dicho ambiente en ningún momento, las fotografías tomadas como reporte diario no requieren de manipulación interna de la placa, previamente sellada. Hasta el tiempo final de evaluación (13 de junio del 2020) se presenta según los datos climáticos consultados, una temperatura promedial de 15,25 °C, precipitación de 3,34 mm, exposición UV de 12,82 y humedad relativa de 80 %.

El cambio presentado en la placa se evidencia por registro fotográfico cada 24 horas de evaluación, y su comportamiento se puede ver en el cuadro 3.

Cuadro 3. Etapas de crecimiento de *Rhizopus Stolonifer* a través del tiempo.

Aspecto	Día	Descripción
	0	Día de la siembra: se muestra una acumulación de esporas en el centro de la placa Petri y un medio de cultivo limpio.
	1	Etapa de germinación de esporas: se evidencia una ramificación creciente hacia el diámetro exterior de la placa y una característica coloración blanca; su textura algononada demuestra el crecimiento micelial.
	2	Etapa de desarrollo somático: se presenta crecimiento micelial por toda la placa y ramificaciones verticales, empieza a mostrar en la punta del esporangioforo pequeñas protuberancias blancas (esporangio).
	3	Etapa de esporulación. La coloración de la placa cambia su superficie por una tonalidad gris gracias a la presencia de esporangios completamente madurados capaces de crear nuevos grupos de hifas.

Fuente. Elaboración propia

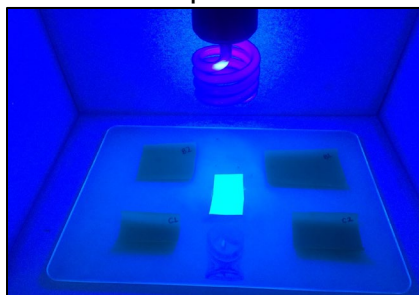
El microorganismo presenta un crecimiento rápido, en aproximadamente 4 días se evidencia la germinación del micelio y la esporulación madura, esta cepa se replica en condiciones de asepsia cuantas veces se requiera para mantener el microorganismo joven y listo para las pruebas microbiológicas próximas.

4.2 EVALUACIÓN IN VITRO POR MÉTODO KIRBY-BAUER

Los antibiogramas de disco son utilizados comúnmente en la evaluación de antibióticos contra agentes microbianos, es un método implicado fuertemente en la generación de compuestos inhibidores o biocidas para la industria farmacéutica, pesticida y alimenticia; el método que se describe en el apartado 2.8.2 es una modificación al método *Kirby Bauer* específicamente diseñado para evidenciar el efecto de películas con encapsulación de compuestos activos antimicrobianos del tipo aceite esencial en el crecimiento de una cepa limpia de *Rhizopus stolonifer* y los eventos que pueden acontecer dentro del ambiente interno de la placa.

Inicialmente se realiza la desinfección de las muestras durante 5 horas dentro de una cabina de desinfección por luz ultravioleta, dicho montaje se precisa en la figura 25.

Figura 25. Montaje para la desinfección de los tratamientos por luz ultravioleta.

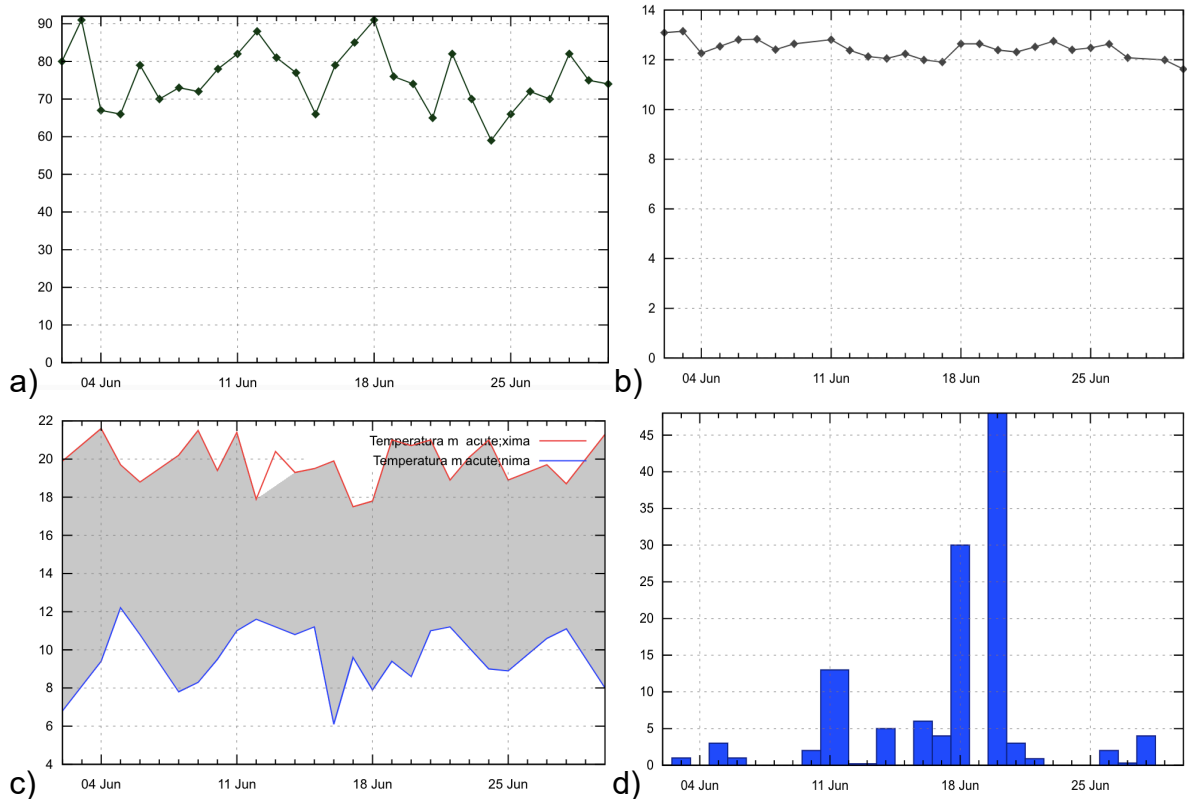


Fuente. Elaboración propia

Las muestras desinfectadas son cortadas en círculos de $21,2 \pm 3$ mm de diámetro y almacenadas en la cabina de desinfección hasta su posterior uso; paralelamente a este procedimiento se inoculan las cajas Petri con medio PDA en forma circular en el borde externo de la placa para generar un crecimiento homogéneo hacia el centro de la caja donde se dispone la muestra circular a evaluar. Se espera que las formulaciones presenten un área circular alrededor de ellas, demostrando un porcentaje de inhibición medible; también se busca reportar la interacción interna del material con el microorganismo, ya que esta puede generar otro tipo de control.

4.2.1 Determinación del porcentaje de inhibición. Las muestras listas dentro de la celda de control in vitro son selladas el día de la siembra y mediante un registro fotográfico diario, véase el cuadro 4, se evidencia la germinación de la espora, su crecimiento a través del tiempo y el efecto de la película en las etapas de crecimiento del microorganismo a condiciones ambientales normales, descritas de forma rigurosa en la gráfica 25.

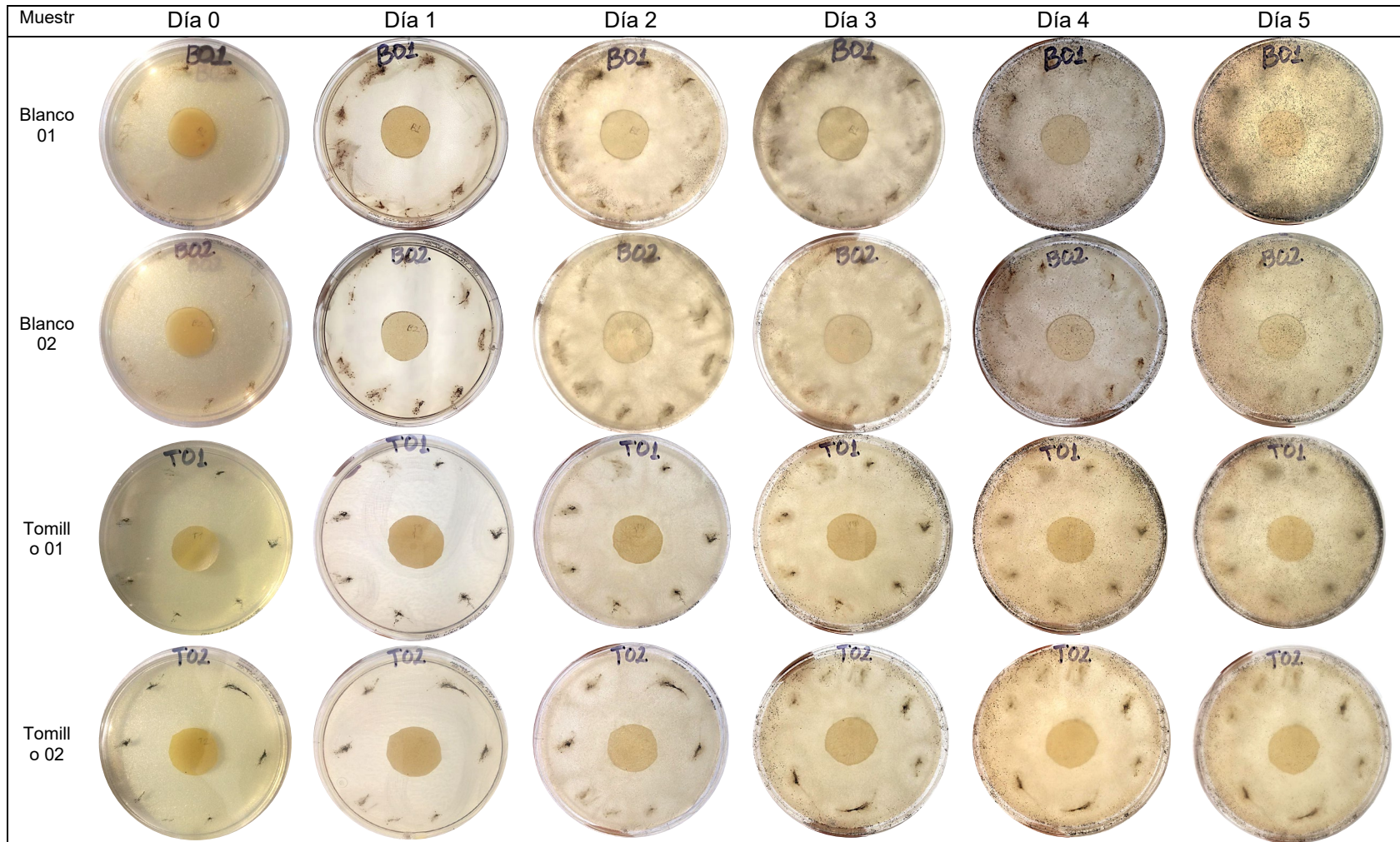
Gráfica 25. Condiciones ambientales para la siembra y desarrollo de las placas PDA inoculadas y con película activa. a) porcentaje humedad relativa (%); b) índice UV; c) Temperatura máxima y mínima (°C); d) Precipitación (mm).















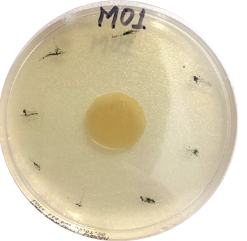





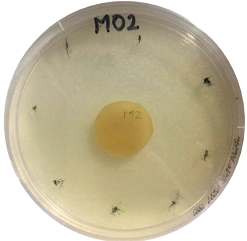





Fuente. WEATHER ONLINE LTD AND METEOROLOGICAL SERVICES. Weatheronline Ltd: Colombia, Bogotá Junio El dorado aeropuerto (2546 m). London, United Kingdom. Dr. Ulrich Römer. Consultado 29 jul 2020. Disponible en www.woespana.es

Las condiciones climáticas a las cuales se expone el medio de cultivo son vitales en su germinación, desarrollo y velocidad de crecimiento, es por este motivo que garantizar uniformidad en las condiciones de ensayo de las placas es importante para realizar comparaciones válidas entre ellas; durante la evaluación in vitro las cajas inoculadas y con la película activa se disponen en una cabina a condiciones de asepsia y no se trasladan a lugares diferentes para garantizar homogeneidad, de esta manera se estipulan condiciones ambientales promediales para el tiempo de evaluación cuyos valores son esenciales en el desarrollo del experimento; la temperatura para el día de siembra de todas las placas (15 de junio del 2020) reporta 20 °C y una humedad relativa de 65%, para el tiempo restante de experimentación se establecen como condiciones ambientales una temperatura de 15°C, precipitación 3,28 mm, exposición UV de 12,38 y una humedad relativa de 78%. Dichas condiciones son similares a las reportadas en la caracterización del crecimiento de la cepa en el cuadro 3.

Cuadro 4. Crecimiento micelial de RS en presencia de las películas activas formuladas.



Cuadro 4. (continuación)

Muestra	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Clavo 01						
Clavo 02						
Mezcla 01						
Mezcla 02						

Fuente. Elaboración propia

Las formulaciones presentan desde el primer día un halo de inhibición pequeño, esto se evidencia en el crecimiento inicial del micelio alrededor de la película formando un área donde no se desarrolla la espora, dicho radio exterior se mide con una regla de precisión a las 12 horas de incubación y se determinan el diámetro de inhibición, el cual permite calcular el porcentaje de control que presenta el material contra el desarrollo de *Rhizopus Stolonifer* en el medio de cultivo, dichos valores se presentan en la tabla 25.

Tabla 25. Porcentaje de inhibición presentado por las películas activas formuladas.

Formulación	Diámetro de la muestra (mm)	Diámetro de inhibición (mm)	Distancia de progresión de la película (mm)	Porcentaje de inhibición
B01	21,3	21,3	0,00	0,00%
B02	21,5	21,5	0,00	0,00%
T01	21,3	24,6	1,65	15,49%
T02	21,4	24,8	1,70	15,89%
C01	21,5	23,7	1,10	10,23%
C02	21,4	23,7	1,15	10,75%
M01	21,1	23,6	1,25	11,85%
M02	21,1	23,5	1,20	11,37%

Fuente. Elaboración propia

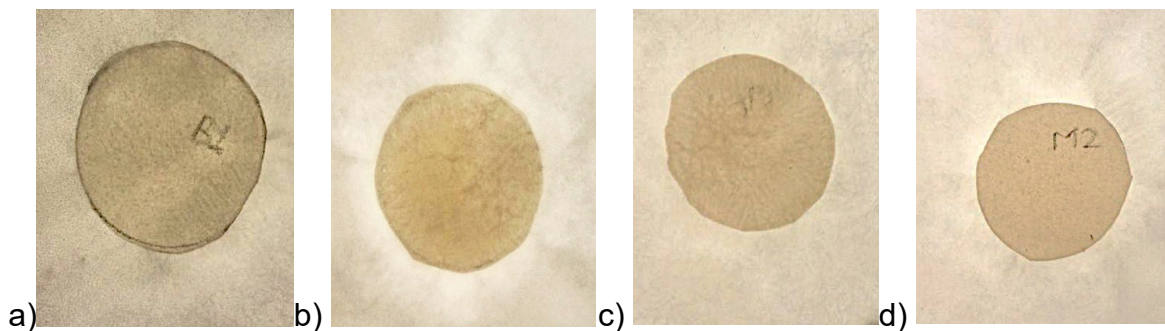
El aceite esencial de tomillo demuestra un mayor porcentaje de inhibición para el crecimiento de la cepa; tanto la formulación compuesta de solo tomillo como la muestra mezcla desarrollan una interacción interna que controla la proliferación de la colonia de manera más eficiente que aquella compuesta de aceite esencial de clavo; dicho comportamiento puede atribuirse a los compuestos terpenoides como timol (2-isopropil-5-metilfenol), γ -terpineno, p -cimeno y carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol) cuya naturaleza aromática causa alteraciones en la morfología de la hifa reduciendo su diámetro y lisis de la pared hifal como lo indica Oviedo en estudios previos¹⁹¹; por otro lado la muestra control (blanco sin compuesto activo) permite el desarrollo normal del microorganismo y no genera efecto antibiótico para la cepa *Rhizopus Stolonifer*; sin embargo, en comparación a las etapas de desarrollo presentadas en el cuadro 3 la esporulación se retrasa en el ambiente interno que crea el material gracias al contenido de polifenoles y compuestos aromáticos que afectan la pared celular y el transporte de nutrientes dentro de la

¹⁹¹ OVIEDO, L. Biotransformación de los sustratos timol y carvacrol mediante el hongo fitopatógeno *Colletotrichum acutatum*. Trabajo de investigación para optar al título de Magister en Ciencias-Química. 2014. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Medellín, Colombia.

misma, como se evidencia en investigaciones realizadas por Rincón en su estudio de compuestos presentes en cáscaras de cítricos¹⁹².

Durante la evaluación de las películas activas se evidencia, en comparación al blanco, una disminución en la velocidad de crecimiento de la cepa, cuya maduración se completa en 72 horas según las etapas descritas en el cuadro 3; la reducción en la germinación de la espora se presenta como una decoloración alrededor de la película como se muestra en la figura 26 y está relacionada con los compuestos volátiles que se desprenden de la matriz polimérica. El timol presente en la película con encapsulación de aceite esencial de tomillo demuestra un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de la hifa, característica que ha sido reportada anteriormente por varios estudios en el control de hongos causantes de la pudrición de frutas, verduras y plantas¹⁹³.

Figura 26. Desarrollo de la espora en el ambiente interno de la celda de control. a) Blanco; b) Tomillo; c) Clavo; d) Mezcla.



Fuente. Elaboración propia

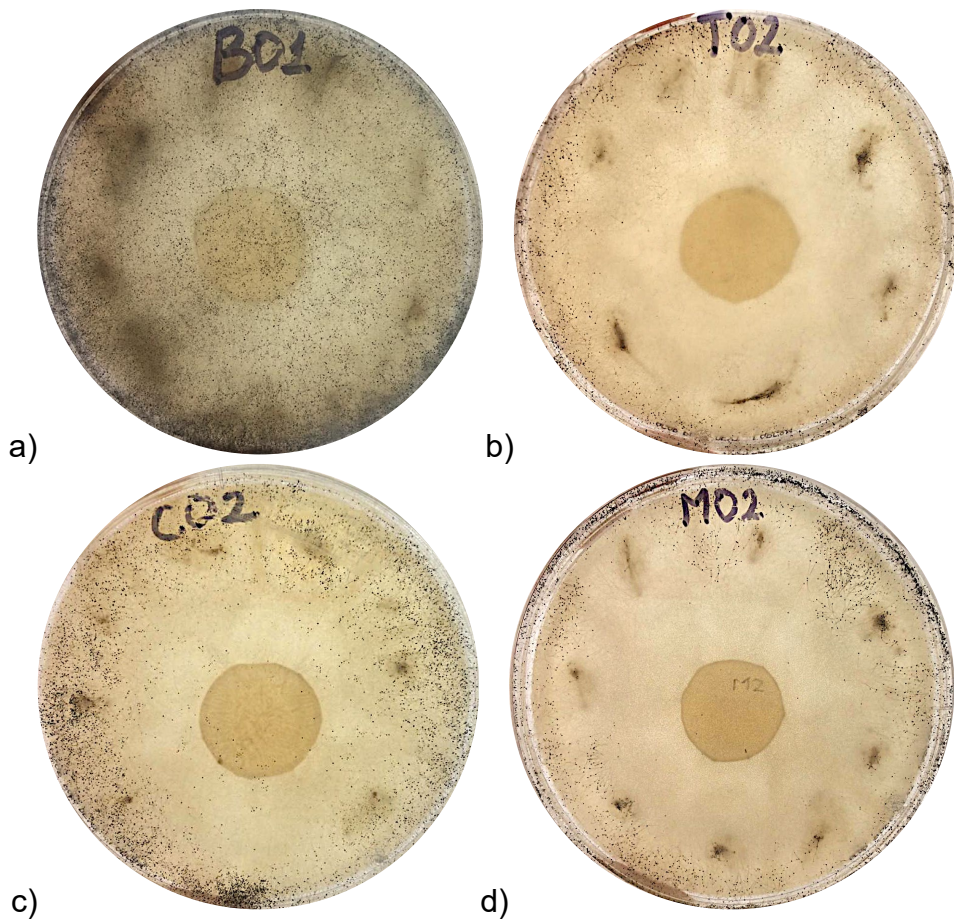
En los días próximos a la etapa de germinación de la espora se reporta un desarrollo somático ralentizado y por lo tanto una esporulación de la cepa retrasada en aproximadamente dos días, el medio de cultivo en la caracterización de las etapas de crecimiento de la espora reporta la presencia de esporangios completamente maduros al tercer día de inoculada la placa, comportamiento que se presenta hasta el cuarto o quinto día en las placas de control con películas activas a evaluar.

¹⁹² RINCON, Alicia M; VASQUEZ, A; PADILLA, Marina y C, Fanny. composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. 2005, vol.55, n.3. pp. 305-310. Disponible en: <http://ve.scielo.org/scielo>.

¹⁹³ Kim, J, et al., et al. Fumigant antifungal activity of plant essential oils and components from West Indian bay (*Pimenta racemosa*) and thyme (*Thymus vulgaris*) oils against two phytopathogenic fungi. 2008, *Flavour and Fragrance Journal*, pp. 23:272–277

El retraso en la generación de esporangios maduros provee al producto un medio interno en relación al empaque que evita la proliferación del moho en tal caso que alguno de los alimentos envasados posea infección por *Rhizopus Stolonifer*, los esporangioforos y sus esporas no se presentan en la placa hasta el quinto día de inoculación y su desarrollo no se percibe sobre la película ni sus alrededores, véase la figura 27.

Figura 27. Generación de esporangios maduros en las placas de control con las películas activas formuladas.



a) blanco sin compuesto activo; b) tomillo 500 ppm de aceite esencial de tomillo c) clavo 500 ppm de aceite esencial de clavo; d) mezcla equimásica de aceite esencial de tomillo y clavo.
* Fotografías tomadas al quinto día de incubación.

Fuente. Elaboración propia

El efecto inhibitor de los compuestos activos presentes en los aceites esenciales de tomillo y clavo demuestran su eficiencia en el retraso de la germinación de la espóra y el crecimiento del microorganismo, permitiendo que la infección no

colonice de manera normal las placas de cultivo; los compuestos activos timol y eugenol presentes en estos ya han sido reportados por investigaciones previas como eficientes en el control de *Rhizopus Stolonifer*, las concentraciones evaluadas van desde los 250 mg/L hasta los 1000 mg/L en estudios in vitro, también se reportan concentraciones altas en el uso de este tipo de compuestos como aditivo de películas en el almacenamiento de alimentos¹⁹⁴. Cabe resaltar que las altas concentraciones de aceites esenciales pueden generar olores indeseables que afectan la aceptación del consumidor, por dicho motivo se proponen incluirlos en pequeñas proporciones.

Los aceites esenciales de tomillo y clavo como compuestos antibióticos también han sido evaluados en el control de *Colletotrichum acutatum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Botrytis cinérea*, *Rhizopus stolonifer*, *S. Aureus* y diferentes colonias de bacterias, presentando resultados favorables en porcentajes de inhibición de 54,5 , 63,2 , 32,4 y 67,8 respectivamente¹⁹⁵, así mismo se reporta con anterioridad el uso sinérgico del timol y el eugenol en el control bacteriano donde la actividad del timol presente en la especie de tomillo genera una desintegración en la membrana externa de bacterias Gram negativas permitiendo la entrada al citoplasma del eugenol y la destrucción de las enzimas¹⁹⁶.

Los porcentajes de inhibición demostrados por las películas formuladas de cáscaras de naranja con incorporación de aceites esenciales de tomillo y clavo son bajos en comparación con la literatura, no obstante muestran efectividad in vitro en el retraso del crecimiento micelial y la esporulación de RS, esta última característica también vista en estudios similares que resaltan el uso de timol de manera más eficiente¹⁹⁷; cabe mencionar que los pequeños halos de inhibición presentados se deben a la baja cantidad de compuesto activo, las interacciones electroestáticas del antimicrobiano con la cadena polimérica, los fenómenos de ósmosis iónica, los cambios generados por el compuesto activo y las condiciones ambientales de liberación¹⁹⁸; sin embargo, la aceptación comercial del material obtenido puede verse incrementada ya que no presenta olores penetrantes generados por las proporciones bajas de los aceites esenciales.

Los mecanismos de detoxificación de hongos y bacterias sobre este tipo de compuestos no han sido completamente demostrados, a pesar de ello se han

¹⁹⁴ REDDY, M. Op cit. Pag 4

¹⁹⁵ PLOTTO, A, ROBERTS, DD AND ROBERTS, RG. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*)..2003, Acta Horticulturae, pp. 628

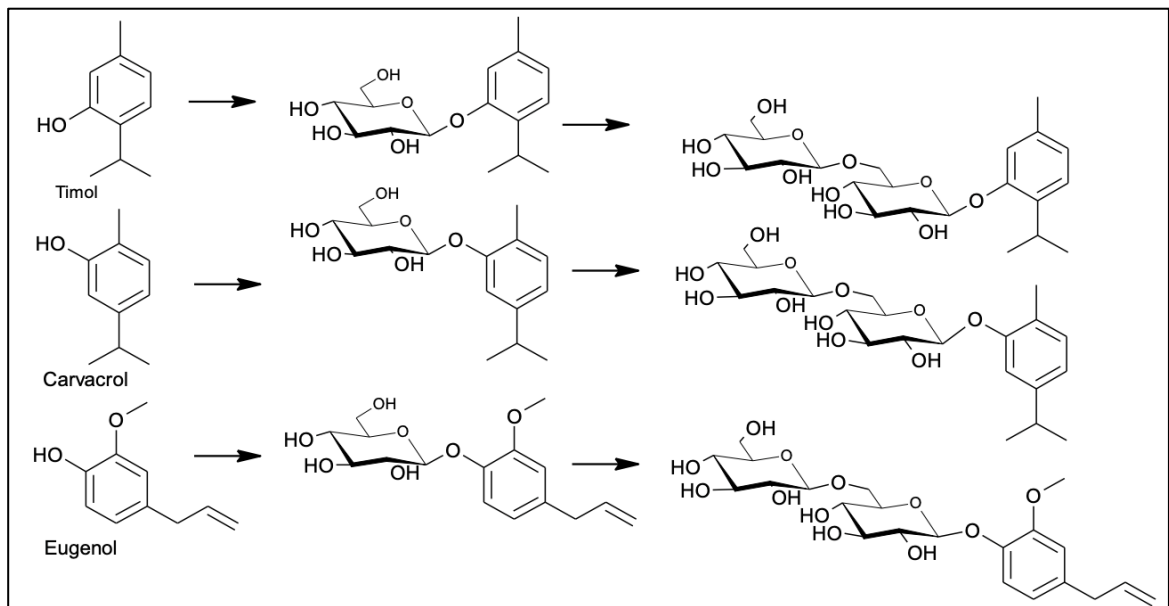
¹⁹⁶ MARCHESE, A. Op cit. Pag 15

¹⁹⁷ Alzate, D, et al. Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*thymus vulgaris*), limoncillo (*cymbopogon citratus*), y sus componentes mayores. 2009. Vitae, p. issn 0121 4004. vol 16 (nº1)

¹⁹⁸ CHA, D. CHINNAN, M. Biopolymer-based antimicrobial packaging. A review. Critical reviews in food science and nutrition. 2004. Vol 42. Pp 223- 237

desarrollado métodos como la biotransformación de compuestos naturales para potenciar las propiedades anti fúngicas y bactericidas de compuestos como el timol, el eugenol y el carvacrol por medio de células en cultivo de plantas de *Eucalyptus perriniana* cuyos métodos son expuestos en la figura 28; dicha biotransformación es capaz de convertir los compuestos aromáticos en glucósidos que se acumulan en las células permitiendo incrementar el efecto antimicrobiano y reducir los olores.

Figura 28. Glicosilación de Timol, carvacrol y eugenol por las células cultivadas de *E perriniana*.



Fuente. Shimoda, K., et al., Biotransformation of thymol, carvacrol, and eugenol by cultured cells of *Eucalyptus perriniana* . 2006 *Phytochemistry*, pp. 67 2256–2261.

La Glicosilación se presenta como una manera más efectiva y eficiente de encapsular un mayor porcentaje de compuesto activo altamente aromático sin afectar las características de los empaques de primera generación, la transformación en la estructura de los compuestos activos presentes en los aceites se recomienda con el fin de incrementar el porcentaje de inhibición de las películas formuladas a partir de cáscaras de naranja sin generar olores penetrantes en el material que puedan afectar la aceptación en las tendencias de consumo.

4.3 EVALUACIÓN IN VIVO DE LA EFECTIVIDAD DE LA PELÍCULA

Para realizar el ensayo in vivo de las películas activas en el control del desarrollo de la cepa RS se fabrica una bolsa con la película formulada de cáscaras de naranja con encapsulación de aceite de tomillo cuyo porcentaje de inhibición es el

mayor de todas las formulaciones ($15,69 \pm 2$ %), una bolsa de vinipel convencional y una bolsa común; posteriormente se seleccionan fresas en grado de maduración 5 (ver anexo A) similares en peso; estas son desinfectadas por lavado con una solución de hipoclorito de sodio al 2% y expuestas a luz ultravioleta por 24 horas como se muestra en el figura 29.

Figura 29. Desinfección del fruto patrón por luz ultravioleta.



Fuente. Elaboración propia

Una vez culmina el ciclo de desinfección, las fresas son inoculadas con RS realizando un corte circular de 1 mm de diámetro y disponiendo sobre la herida un grupo de esporangios del cultivo puro, posteriormente cada una de ellas son envasadas con la película activa seleccionada, el vinipel convencional y la bolsa plástica de polietileno de baja densidad, como se muestra en la figura 30.

Figura 30. Envase de la fruta patrón. a) películas activa; b) vinipel convencional; c) bolsa de polietileno de baja densidad.

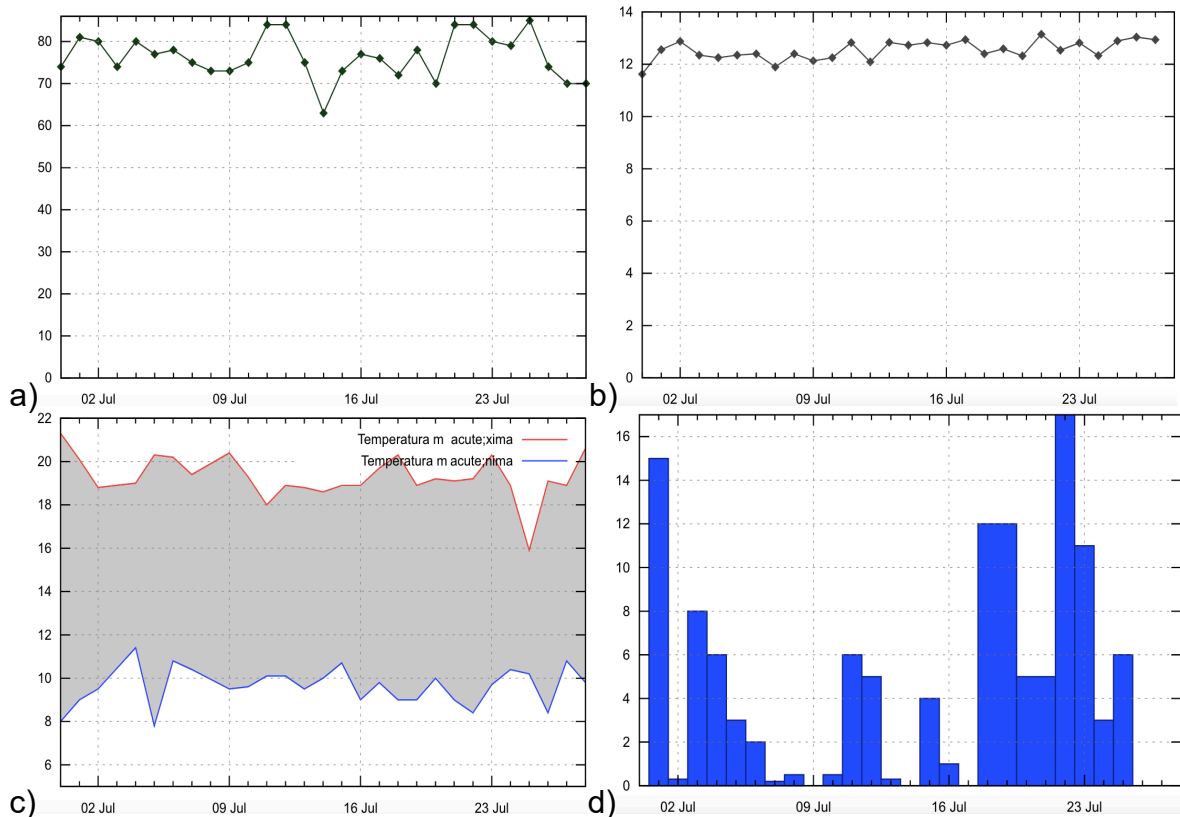


Fuente. Elaboración propia

Durante el envasado de la fruta patrón se evidencia una gran falencia por parte de las películas formuladas en cuanto a la transparencia que presenta en comparación a los plásticos tradicionales como el vinipel y la bolsa de polietileno, por otro lado el manejo y la textura del material se asemeja a las películas de polietileno de baja densidad ya que no se adhiere a la superficie del alimento como sucede con el vinipel convencional formulado de cloruro de polivinilo (PVC).

La efectividad de la película activa frente a los plásticos convencionales en el control de infección por microorganismos se evidencia en el desarrollo micelial de RS sobre la superficie de la fruta patrón al paso de las 120 horas evaluadas, cuya progresión se evidencia fotográficamente en lapsos de 24 horas. Las condiciones ambientales de desarrollo del experimento se pueden establecer bajo la gráfica 26 donde se describe el pronóstico climático para todo el mes de julio en la ciudad de Bogotá.

















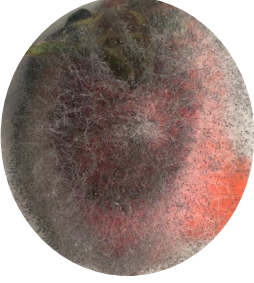

Gráfica 26. Condiciones ambientales para el ensayo in vivo de las películas formuladas contra RS. a) porcentaje humedad relativa (%); b) índice UV; c) Temperatura máxima y mínima (°C); d) Precipitación (mm).



Fuente. WEATHER ONLINE LTD AND METEOROLOGICAL SERVICES. Weatheronline Ltd: Colombia, Bogotá Junio El dorado aeropuerto (2546 m). London, United Kingdom. Dr. Ulrich Römer. Consultado 29 jul 2020. Disponible en www.woespana.es

El fruto patrón envasado en las diferentes películas evaluadas es dispuesto en un recipiente de cerámica y se someten al mismo ambiente de maduración, cuyas condiciones se establecen promedialmente durante los días de evaluación. La temperatura para dicho experimento es de 18°C, su precipitación de 3,35 mm, con un índice UV de 12,38 y humedad relativa de 77,5%.

Cuadro 5. Efectividad in vivo de la película activa, el vinipel convencional y la bolsa común.

Material	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Película activa (500 ppm de aceite esencial de tomillo)						
Vinipel (cloruro de polivinilo)						
Bolsa plástica (polietileno de baja densidad)						

Fuente. Elaboración propia

Durante el registro fotográfico de las muestras envasadas se requiere de una apertura de las bolsas evaluadas para poder capturar con claridad los cambios morfológicos del fruto, este proceso puede afectar el ambiente interno que ha creado el envase y el producto al permitir la aireación de la cepa; sin embargo, la manipulación de las muestras se realiza con suma precisión y rapidez, en condiciones de asepsia y con los implementos de cuidado; garantizando la reducción de este factor de influencia, ya que todas las muestras son tratadas de forma similar.

En las primeras horas de evaluación se evidencia una pérdida de humedad sobre la superficie del fruto patrón en torno al diámetro de siembra de la cepa, que posteriormente se propaga por el fruto generando un ablandamiento interno, dicho comportamiento se refleja de forma más radical en la bolsa de polietileno de baja densidad, seguido del vinipel convencional y la película activa respectivamente, este último material genera un ambiente interno con un olor característico a tomillo que reseca sutilmente la superficie del fruto.

Transcurridas las primeras 48 horas, se produce una alta transpiración y condensación dentro de la bolsa común que no se presenta en el envase de vinipel ni la película activa, también se desarrolla un diámetro de ablandamiento mayor en 3 mm en comparación con el empaque de vinipel cuyo valor es de 6,6 mm, esta etapa se ve retrasada en el envase de la película activa en la cual el fruto permanece firme. El incremento en el crecimiento del hongo se evidencia claramente desde las 72 horas en adelante, el desarrollo de la cepa en la bolsa de polietileno transcurre de manera más acelerada que en los otros dos empaques, la coloración gris en la superficie para este día ya cubre casi la totalidad del fruto y el diámetro de ablandamiento de ubica entre los 16 a 17 mm superando en 45 % de infección según la escala diagramática expuesta en la tabla 10.

El fruto patrón contenido en la bolsa de polietileno pierde toda firmeza al cuarto día de evaluación, presentando una pudrición total, por otro lado el vinipel convencional desarrolla una capa superficial del moho en este mismo tiempo gracias al ablandamiento presentado en los días previos; la fresa envasada en la película activa empiezan a mostrar alrededor de la herida infectada con RS un ablandamiento y dentro del diámetro infectado se evidencia las primeras etapas de desarrollo de la espora, el resto de la superficie sigue presentando una consistencia firme con signos de deshidratación conferidas a trazas de fenoles, retinol y tocoferol contenidas en el aceite esencial de tomillo, cuya actividad puede conferir una pro oxidación de las membranas¹⁹⁹.

¹⁹⁹ CHIVANDI, E., DANGAREMBIZI, R., Nyakudya, T. & Erlwanger, K. Use of Essential Oils as a Preservative of Meat. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, (2016). Pp 85-91.

Culminado el tiempo de evaluación a las 120 horas se clasifica el aspecto final de las frutas patrón de acuerdo a la escala diagramática para índice de severidad y porcentaje de infección, dichos resultados se muestran en la tabla 26.

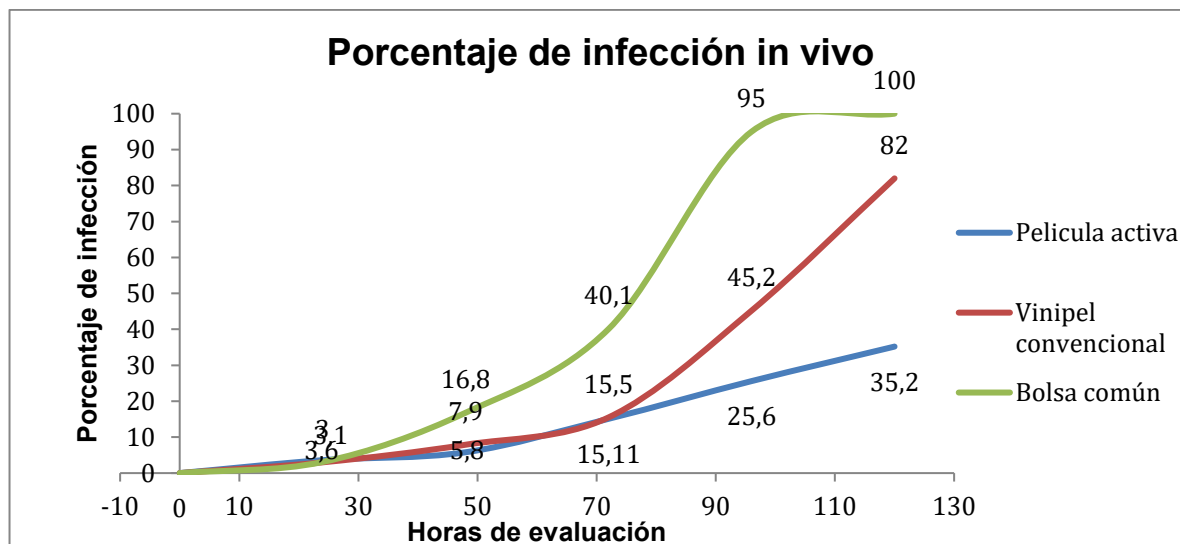
Tabla 26. Resultados de prueba in vivo en fruta patrón

Material	Nivel de clasificación				
	A	A	B	B	B
<i>Película activa</i>	A	A	B	B	B
Porcentaje aproximado de infección	3,06%	5,8%	15,11%	25,6%	35,2%
<i>Vinipel convencional</i>	A	A	B	C	D
Porcentaje aproximado de infección	3%	7,9%	15,5%	45,2%	82%
<i>Bolsa común</i>	A	B	B	D	E
Porcentaje aproximado de infección	3,1%	16,8%	40,1%	85%	100%
Horas evaluadas	24	48	72	96	120

Fuente. Elaboración propia

Los niveles de índice de severidad establecen un crecimiento ralentizado en el envase formulado a partir de la película activa con 500 ppm de aceite esencial de tomillo, cuyo ablandamiento se evidencia a partir del 4 día de evaluación y en la cual se muestra un crecimiento superficial de la espora al 5 día aproximadamente; estas etapas que se ven mucho antes en los envases convencionales de vinipel y polietileno de baja densidad en donde el índice de infección incrementa aceleradamente a partir del segundo día evaluado. El comportamiento en cuanto al porcentaje de infección se puede ver de manera más clara en la gráfica 27.

Gráfica 27. Porcentaje de infección en fruto patrón Vs horas evaluadas.



Fuente. Elaboración propia

La película activa formulada presenta buena efectividad en el control del crecimiento de *Rhizopus stolonifer* al reducir considerablemente el desarrollo de la espora en frutas infectadas en comparación a envases formulados a partir de polietileno de baja densidad y cloruro de polivinilo, como se evidencia en la gráfica anterior el comportamiento de la película se asemeja en las primeras 70 horas de evaluación a la conducta mostrada por el vinipel, el cual a partir del tercer día presenta un crecimiento acelerado de la cepa y una rápida esporulación, etapa que puede infectar frutas en buen estado dentro de un mismo empaque. Cabe mencionar que la película activa de tomillo reduce en un 46,8% la pudrición blanda ocasionada por RS en el fruto envasado en comparación al vinipel convencional y en un 65,8% la ocasionada por bolsas comunes de polietileno.

4.4 EFECTO DEL COMPUESTO ACTIVO EN LAS PROPIEDADES DE BARRERA

El material desarrollado a partir de cascara de naranja con encapsulación de compuestos activos del tipo aceite esencial presenta características reforzables en cuanto a las propiedades de barrera como la permeabilidad al vapor de agua, la solubilidad y el espesor; los altos valores reportados por la solubilidad influyen estrictamente en la resistencia del material al paso de la humedad generando materiales sensibles a la transpiración del alimento o las condiciones ambientales a las que sea expuesto, de la misma forma el espesor de la película provee una barrera delgada y porosa que permite el tránsito de moléculas polares.

La inclusión del compuesto activo con naturaleza lipídica no refuerza de forma radical los valores de PVA ni la solubilidad, en comparación con el blanco sin compuesto activo se reportan valores de 60,37% a 80,12% de solubilidad en agua por las películas, valores previstos gracias a la naturaleza de los compuestos formadores; la concentración de aceite esencial no produce hidrofobicidad de la matriz polimérica dada su baja concentración y punto de fusión; sin embargo, pueden considerarse películas comestibles al implicar elementos de naturaleza alimenticia y bajas concentraciones en los aceites esenciales.

Para el refuerzo de las propiedades de barrera formuladas se recomienda la inclusión de compuestos lípidos en porcentajes mayores al 6% y con altos puntos de fusión como la cera de abejas, la cera candelilla, la cera de carnauba, los alcoholes grasos, los ésteres de sacarosa de ácidos grasos, la resina de goma laca y los terpenos ²⁰⁰. De la misma forma se ha reportado que la síntesis de

²⁰⁰ MORILLON, V. Op cit. Pag 69

películas por el método seco presenta una disminución de la solubilidad de las películas resultantes mediante la creación de una red altamente reticulada²⁰¹.

4.5 EFECTO DEL COMPUESTO ACTIVO EN LAS PROPIEDADES MECÁNICAS

La resistencia tensil de las películas formuladas cuyo rango varia entre $2,953 \pm 0,470$ MPa es similar a la reportada por películas de cáscara de naranja sin compuesto activo, obteniendo un incremento de 14,66% con respecto a las formuladas gracias a la inmersión del aceite esencial cuya acción hidrófoba reduce el contenido de humedad que a su vez disminuye la plasticidad de la red polimérica.

Por otro lado, el comportamiento en el porcentaje de elongación evidencia el efecto del aceite esencial al disminuir la plasticidad en los enlaces de cohesión, dicho comportamiento se refleja más claramente en el cálculo del módulo de Young cuya mejor formulación es el blanco sin compuesto activo, por lo tanto la inmersión de aceite esencial afecta notablemente la elasticidad del material al incrementar el valor del módulo de elasticidad y la resistencia tensil, generando películas con mejor recepción al esfuerzo de tracción pero menor elasticidad.

²⁰¹ ELIZONDO, M. BAUDRIT , J. GALLO, A. Uso de nanomateriales en polímeros para la obtención de bioempaques en aplicaciones alimentarias. Artículo de divulgacion. Nanotecnología. Revista sociedad Química Perú. 2011. Vol 77 (nº4). Disponible en <http://www.scielo.org.pe>

5. CONCLUSIONES

- El método de síntesis húmedo es efectivo en la elaboración de películas derivadas de cáscaras de naranja con encapsulación de aceites esenciales como compuestos activos, generando materiales delgados, semi transparentes y con buenas propiedades mecánicas, cuyas características como barrera a la humedad pueden ser reforzadas con la adición de compuestos lipídicos con alto punto de fusión.
- La obtención de la solución filmógena es efectiva bajo el método de inmersión en solvente, aunque la adición de pectina como agente emulsificante del compuesto activo afecta de manera radical la viscosidad de la solución filmógena al influir en la gelificación de la matriz polimérica; su naturaleza hidrofílica también se ve reflejada en la solubilidad y la permeabilidad al vapor de agua de las películas formuladas incrementando la ganancia de humedad del material.
- Las películas formuladas a partir de cáscaras de naranja con encapsulación de compuesto activo presentan propiedades de barrera y solubilidad similares según la literatura a las formuladas a partir de gluten y almidón respectivamente; se reporta un valor promedial de PVA para todas las formulaciones de $0,220 \pm 0,0619 \frac{g*mm}{KPa*h*m^2}$ generando películas con permeabilidad media a la humedad no recomendables para el envase de productos secos, deshidratados o sensibles al agua; por otro lado la inclusión de aceite esencial como compuesto activo genera un incremento en la resistencia tensil (valor mínimo de $2,614 \pm 0,734$ MPa) y el Módulo de Young, ocasionando un comportamiento inverso en propiedades como el porcentaje de elongación y la deformación unitaria.
- El comportamiento del aceite esencial de tomillo y clavo encapsulado dentro de la matriz polimérica de las películas es efectivo en el retraso de la germinación de la espora, el desarrollo somático y la esporulación del medio en pruebas in vitro con porcentajes de inhibición de $15,69 \pm 0,28$ para el aceite esencial de tomillo, $10,49 \pm 0,36$ para el clavo y $11,61 \pm 0,34$ para mezcla; esta última no demuestra un comportamiento sinérgico de los compuestos fenólicos eugenol-timol. La película activa sintetizada de cáscaras de naranja con aceite esencial de tomillo es aquella que presenta un mayor porcentaje de inhibición in vitro en comparación a las formulaciones blanco sin compuesto activo, aceite esencial de clavo y mezcla equimásica de aceite esencial de tomillo y clavo.
- El material activo formulado muestra una buena efectividad en el control del desarrollo de *Rhizopus Stolonifer* sobre la fruta patrón (fresa) reflejada en el decrecimiento de la velocidad con que se desarrolla la cepa, el tiempo que toma la etapa de esporulación madura y la pudrición blanda ocasionada, cuyos

porcentajes de reducción en relación a envases tradicionales es de 46,8% en comparación al vinipel convencional y en un 65,8% la ocasionada por bolsas comunes de polietileno

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda incluir dentro de los compuestos formadores de la película compuestos lipídicos, hidrófobos con alto punto de fusión como las ceras o ácidos grasos con el fin de reforzar propiedades de barrera como la PVA y la solubilidad.
- Incluir dentro de la estructura otros compuestos emulsificantes con el fin de disminuir las afectaciones causadas por la concentración de pectina.
- Evaluar las películas en la efectividad inhibitoria sobre otras frutas o verduras afectadas por *Rhizopus stolonifer*.
- Llevar a cabo síntesis de las películas por medio de métodos secos para aproximar el proceso a métodos industriales.
- Realizar prueba de biodegradabilidad a las bio películas bajo las normas de comparación en relación a películas plásticas convencionales.

7. BIBLIOGRAFIA

ACOPLASTICOS, ICIPC. Acciones en pro de la competitividad de las cadenas petroquímica, plástico y caucho de Colombia: experiencias del Instituto de capacitación e investigación del plástico y del caucho. 2009. Disponible en: www.acoplasticos.com

ALATA MAYHUIRE, Evelin. y CUADROS HUAMANI, Yuri. Formulación y evaluación físico mecánica de películas biodegradables en base a residuos cítricos y celulosa bacteriana. Tesis Gradual Ingeniero Químico, Universidad nacional San Agustín de Arequipa. Facultad de ingeniería de procesos. Escuela profesional de Ingeniería Química. 2017.

ALCALDÍA DE MEDELLÍN. Estudios de mercado sectoriales, en línea con la política pública de desarrollo económico de Medellín. 2019. Estudio de mercado para la fabricación de plásticos. Disponible en: www.empresarismo.medellindigital.gov.co

ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ. Resumen ejecutivo: caracterización de diez cadenas productivas en Bogotá Región 1993-1999.

ALTENHOFEN, Mariana. KRAUSE, Andrea. y GUENTER, Theo. Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca²⁺ ions: Effect of the plasticizer concentration. Carbohydrate polymers. 2009. Vol 77, 736 - 742.

ALVARADO, Alejandra. BARRERA, Laura. HERNÁNDEZ, Ana. y VELÁZQUEZ, Miguel. Antifungal activity of chitosan y essential oils on *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill causal agent of soft rot of tomato. Revista Colombiana de Biotecnología. 2011. Vol 13: 127-134.

ALVARADO, Lee. Obtención de harina de yuca para el desarrollo de productos dulces destinados para la alimentación de celíacos. 2009. Tesis Ing. En Alimentos. Guayaquil, Ecuador, Escuela Superior Politécnica del Litoral. 40 p.

ALVES, T. Caracterización física y química de bioplásticos elaborados por extrusión termoplástica reforzados con cáscara de maracuyá. 2013 tesis PhD. Tecnología de alimentos. Brasil, Universidad de Rio de Janeiro.

ALZATE, Diego, et al. Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayores. 2009. Vitae, p. issn 0121 4004. vol 16 (no 1).

ANDRADE, Johana. ACOSTA. Diana. BUCHELI, Mauricio. y LUNA, Gloria. Elaboración y evaluación de un recubrimiento comestible para la conservación

postcosecha del tomate de árbol. Revista de Ciencias Agrícolas, Julio - Diciembre 2013, págs. 60-72.

ARANAZ, Inmaculada. MENGIBAR, Marian. HARRIS, Ruth. PAÑOS, Ines. MIRALLES, Beatriz. ACOSTA, Niuris. GALED, Gemma. y HERAS, Angeles. Functional Characterization of Chitin and Chitosan, Current Chemical Biology 3, 2009; vol 2; 203-230.

ARÉVALO, Katiushka. Películas biodegradables a partir de residuos de cítricos: propuesta de empaques activos. 2010. Instituto de biotecnología, facultad de ciencias biológicas. Universidad autónoma nuevo león. Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal Vol1(nº2):124-134.

ARÉVALO, Katiushka. Elaboración de plásticos biodegradables a partir de polisacáridos y su estudio de biodegradación a nivel Laboratorio y campo. Nuevo León. 1997. Tesis Doctoral Universidad Autónoma de Nuevo León

ARMACELL. Información técnica No 11: La permeabilidad al vapor de agua, la permeancia y el factor de resistencia. Ed. ARMACELL IBERIA. España. Disponible en: <http://www.armacell.com>

ASOHOFrucol. Frutas y Hortalizas. Fondo Nacional de fomento de la Hortofrutícola.

American Society for Testing and Materials. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. D 882. Annual book of ASTM standards, Philadelphia, USA. 1995. 182-189

American Society for Testing and Materials.. E11-20. 2020. Standard Specification for Woven Wire Test Sieve Cloth and Test Sieves, ASTM International, West Conshohocken, PA. Disponible en: www.astm.org

American Society for Testing and Materials. E96 (2000). Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials. Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, USA. 491-496

American Society for Testing and Materials. D882-02. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, USA.

BANDONI, Arnaldo. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. 2000. 1ª Edición. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.

BAQUE, Flor. BARZOLA, Sonia. VÁSQUEZ, Fay. CHÁVEZ, M. MOSQUERA, Juan. LLAGUNO, S. Potencial antifúngico de Citrus sinensis y Citrus nobilis sobre el crecimiento de Rhizopus stolonifer y Colletotrichum gloeosporioides en papaya.

Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ciencias de la Ingeniería. 2017. Quevedo, Ecuador.

BASTIOLI, C., BELLOTTI, V. Y MONTINO. A. Biodegradable polymeric compositions based on starch and thermoplastic polymers.1994. DOI US5292782. U.S. PTO.

BAUTISTA, Silvia. HERNÁNDEZ, Mónica. y BARRERA, Laura. Antifungal screening of plants of the State of Morelos, México against four fungal postharvest pathogens of fruits and vegetables. Revista Mexicana de Fitopatología.2000. Vol 18:36–41.

BAYER, Edward. LAMED, Raphael. 1992. the cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource. Biodegradation,vol 3(2-3):171-188.

BLANCH, H. y WILKE, C. "Sugars and chemicals from cellulose" Rey. Chein. Lng 1: 71-119.

BOERJAN, Wout. y BAUCHER, Marie. 2003. Lignin Biosynthesis. The Annual Review of Plant Biology.

BONILLA, Pablo. Formación y caracterización de nanosistemas terapéuticos con alginato. 2016. Universidad Barcelona. Disponible en: <https://www.tesisenred.net>

BRUNETON, Jean. Farmacognosia, fotoquímica, plantas medicinales. Editorial Acribia. 2001. 2aEdición.

BUGNO, A. ALMODOVAR, T. CALDAS, T. PINTO, M. SABINO. Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. Microbiol. 2006. vol 37 no 1, pp. 317-326.

BUTLER, B. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films and effected by composition and storage. Journal of Food Science. 1996. Volumen 61, pp.953-956.

CÁMARA DE COMERCIO DE BOGOTÁ. U. Javeriana. Investigación e innovación para la competitividad: productos plásticos en Bogotá y Cundinamarca. 2012.

CANSECO, Enrique. ¿Qué países prohíben el uso de bolsas de plástico? 2016. Centro de capacitación Eléctrica y Energías Alternativas (CCEEA). Disponible en: <https://cceeaa.mx/>

CAO. Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. Food Hydrocolloids. 2007. vol 21. pp 1153-1662 p.

CASTAÑEDA, Héctor. REYES. GÓMEZ, Graciela. ZITZUMBO, Roberto. SÁNCHEZ, Jöns. y ALONSO, Sergio. Análisis del Módulo Elástico y Resistencia a la Ruptura en Mezclas de Nanocompuestos de ABS/TPU. Instituto Tecnológico de Aguascalientes, Conciencia Tecnológica. 2010. Vol 39.

CÁTEDRA ECOEMBES. Proyecto de análisis de bioplásticos. 2009. Resumen ejecutivo. Pág 13. Disponible en: www.ecoembes.com

CAYOT, Nathalie. Measurement or transport phenomena of volatile compounds: A review. Food research International. 2008. vol 41 (no 4). Pp 349-362.

(CETEA) Centro de Tecnología de Embalagenes .1996. Ensaio para avaliacao de embalagens plásticas flexiveis. Campinas. 219 p.

CHA, Dong. y CHINNAN, Manjeet. Biopolymer-based antimicrobial packaging. A review. Critical reviews in food science and nutrition. 2004. Vol 42. Pp 223- 237.

CHIVANDI, Eliton. DANGAREMBIZI, Rachael. NYAKUDYA, Trevor. y ERLWANGER, Kennedy. Use of Essential Oils as a Preservative of Meat. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, (2016). Pp 85-91.

COOK, C. M. LANARAS, T. Essential Oils: Isolation, Production and Uses. Encyclopedia of Food and Health. 2016.

CORRALES, Margarita. FERNÁNDEZ, Avelina. y HAN Jung. Chapter 7: Antimicrobial Packaging Systems. Food Science and Technology. Innovations in Food Packaging. 2014. 2o Edition, Academic Press. Pages 133-170, ISBN 9780123946010.

CORTÉS, José. FERNÁNDEZ, Amanda. MOSQUERA, Silvio. y VELASCO, Reinaldo. Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca. Tecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2014. Vol 12 No. 1 (88-97).

DANE. El cultivo de la naranja Valencia y su producción como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizantes y al efecto de la polinización dirigida con abeja Apis mellifera. Boletín mensual. Insumos y factores asociados a la producción agropecuaria. Octubre 2016.

DAVIDSON, P.M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. 1997 en: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. ASM Press, Washington D.C., EE.UU., 520-556.

DONNAI, H. Highlights in Bioplastics. Internacional Biodegradable Polymers Association. 2005. Disponible en: <http://www.jbpaweb.net>.

ELIZONDO, Melissa. BAUDRIT , José. y GALLO, Allan. Uso de nanomateriales en polímeros para la obtención de bioempaques en aplicaciones alimentarias. Artículo de divulgación. Nanotecnología. Revista sociedad Química Perú. 2011. Vol 77 (no 4). Disponible en <http://www.scielo.org.pe>

EMIS UNIVERSITY. Organización empresarial de las industrias en Colombia con mayor participación en industria de plásticos. 2019. Disponible en: www.emis.com

ENRIQUEZ, Mario. VELASCO, Reinaldo. y ORTIZ, Vicente. 2012. Composición y procesamiento de películas biodegradables basadas en almidón. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Vol 10 No. 1 (182 - 192).

ERGUN, R, LIETHA, R, y HARTEL, W. Moisture and shelf life in sugar confections. Critical Reviews In Food Science & Nutrition. 2010. Vol 50(no 2):162- 192.

ESPINOZA, Y Propondrán ley para prohibir el plástico de un solo uso. El Mundo. 2018. Disponible en: <https://elmundo.sv>

EUROPEAN STANDARD. "Packaging - Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation. Test scheme and evaluation criteria for the final acceptance of packaging". EN 13432.

FAN Liang-Tseng, GHARPURAY, Mahendra. y LEE Yong-Hyun. "Cellulose hydrolysis". Biotech Monographs. 1987. Vol 3.

FAO. Capacidades de pasta y papel. 2002. Encuesta 2001-2006, Editorial Roma.

FAO. Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe. 2014. Santiago de Chile: Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i3942s.pdf> 3.

FARRERA P, R.E, ZAMBRANO V, A.E, & ORTIZ M, F.A. Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira. Revista de la Facultad de Agronomía, 2007. Vol 24(no 2), 269-281. Disponible en: <http://ve.scielo.org/scielo>

FLIEGER, M. KANTOROVA, M. REZAKA, T. y VOTRUBA, J. "Biodegradable Plastics from Renewable Sources". 2013. Folia Microbiol. Vol 48 (no 1), pag 27-44.

FLORES J. Mermeladas y jaleas, las pectinas como materia prima y el fenómeno de gelificación. Rev. de Agroquím. y prima para la elaboración de mermelada. Tecnol. Aliment. 1996. vol 6: 6-11.

FONNEGRA, Ramiro. y JIMÉNEZ, Silvia. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2006. Editorial Universidad de Antioquia.

FRANSSEN L. y KROCHTA J. Edible Coatings containing natural antimicrobials

for processed foods. En S. Soller, *Naturals antimicrobials for the minimal processing of foods*. Boca Ratón, Florida: CRC Press. 2003.

GENDE, Liesel. NEIRA, Laura. ALVAREZ, Brenda. EGUARAS Martín. Películas activas para el envasado de alimentos. 2013. *Revista de Investigación y desarrollo, Ingeniería alimentaria*, Ed julio. Pp 32-44.

GENNADIOS, Tonny. *Edible Films and Coatings from Wheat and Corn Proteins*. 2000. *Food Technology*. Ed 44. Pp 54-67.

GIL, Pilar. *Productos naturales*. Universidad Pública de Navarra. 2002. España.

GODBILLOT, L. DOLE, Patrice. JOLY, Catherine. y ROGÉ, Barbara. MATHLOUTHI, M. Analysis of water binding in starch plasticized films. *Food Chemistry*. 2006. vol 96(no 3), 380-386.

GÓMEZ, Sandra. YORY, Fábian. 2017. Aprovechamiento de recursos renovables en la obtención de nuevos materiales. Use of renewable resources to obtain new materials. *Ingenierías USBMed*. Vol. 9 (1), Pág. 69-74, Ed. enero-junio 2018.

GONÇALVES, C. ZAPELINI, A. SGANZERL, W. MACHADO, M. RAMOS, M. OLIVEIRA, M. FABIANO, B. y MANIQUE, L. Aplicación in situ de nanocápsulas de zeína cargadas con *Origanum vulgare* Linneus y *Thymus vulgaris* como conservante en el pan. *Hidrocoloides alimentarios*. 2020. Vol 99. Disponible en: www.Science Direct.com

GONZÁLEZ, Adrián. FIGUEROA, Kelly. GARCÍA, Janeth. Y ARIZA, Hernando. Empaques biodegradables inteligentes y activos basados en gelatina-PVA y oleorresina de pimienta negra para la conservación de lomos de bovino. 2015. Disponible en: blade1.uniquindio.edu.co

GRANADA, Diana. MEDINA Yaqueline. CULEBRAS, Mario. y GÓMEZ, Clara. Desarrollo y caracterización de una película activa biodegradable con antioxidantes (Alfa-tocoferol) a partir de las proteínas de lactosuero. 2014.

GUARDA, A. GALOTTO, M. ALVARADO, J. y AGUILERA, J. (2001) *Propiedades físicas de materiales plásticos*. Editorial, Acibia. España. Pp 285- 308.

GUILBERT, S. CUQ, B. y GONTARD, N. Recent Innovations in Edible and Biodegradable Packaging Materials. 1997. *Food Additives & Contaminants*. Vol 14. pp 6-7.

----- . Technology and applications of edible protective films. *Packaging Technology and Science*. 1995. vol 8: 339-346

GUYNOT, A.J. RAMOS, L. SETO, P. PURROY, V. SANCHIS, S. MARIN. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi

commonly causing deterioration of bakery products. *Appl. Microbiol.*, 2003. vol 94, pp. 893-899

HA, M. JARVIS, M.C. y MANN, J.L. A definition for dietary fibre. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54:861-864.

HERNÁNDEZ, Ana. BAUTISTA, Silvia. VELÁZQUEZ, Miguel. y TREJO, José. Identification of *Rhizobium stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, causal agent of Rhizopus rot disease of fruits and vegetables. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2006. Vol 24: 65–69.

HERNÁNDEZ, Hugo. Utilización de lignina de olote de maíz como componente de películas de almidón. Tesis de grado para maestría en ing. Química. 2013. Universidad Iberoamericana. Ciudad de México.

HERRANZ, Gemma. Estudio de los mecanismos de reticulación en la obtención de microcápsulas de gelatina goma-arábica. 2013. UPC. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu>

HUANG, Junli. GU, Min. LAI, Zhibing. FAN, Baofang. SHI, Kai. ZHOU, Yan-Hong. YU, Jing-Quan. y CHEN, Zhixiang. Functional analysis of the Arabidopsis PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. *Plant Physiology*. 2010. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.157370>.

JANJARASSKUL, T. y Krochta, M.J. Edible packaging materials. *The Annual Review of Food Science and Technology*. 2010. Vol 1: 415-448.

KARINA. 2018. Comercializadoras. Disponible en: <https://comercializadorasf.com>

KESTER, J y FENNEMA, O. "Edible films and coatings: A review", 1986. *Food Technology*, ISSN:0015-6639, Ed. 40, pp. 47-59.

KHAN, Taous. PARK, Joong Kon. y KWON, Joong-Ho. Functional biopolymers produced by biochemical technology considering applications in food engineering. *Korean Journal of chemical Engineering*. 2007. Vol 24(no 5):816- 826.

KIM, Junheon, et al., et al. Fumigant antifungal activity of plant essential oils and components from West Indian bay (*Pimenta racemosa*) and thyme (*Thymus vulgaris*) oils against two phytopathogenic fungi. 2008, *Flavour and Fragrance Journal*, pp. 23:272–277.

KOSIOR, E. BRAGANCA, R.M. FOWLER, P. Lightweight compostable packaging: literature review. *Wrap*, Banbury, 2007. Inglaterra (www.wrap.org.uk).

KUMAR, Raj. SINGH, Sompal. Bioconversion of Lignocellulosic Biomass:

Biochemical and Molecular Perspectives. *Biotechnol.* 2008. Vol 35: 377 – 391.

LACROIX, M. Mechanical and permeability properties of edible films and coatings for food and pharmaceutical applications. 2009. En: Embuscado M.E. y Huber, K.C. (Ed). *Edible films and coatings for food applications*. Springer, New York. P. 347-366.

LAFUENTE, Gustavo. *Glicerol, síntesis y aplicaciones*. Máster universitario en ciencia y tecnología química. Módulo de Química orgánica. Universidad Nacional de Educación a Distancia. 2017.

LATORRE, Bernardo. *Enfermedades de las plantas cultivadas*. Alfaomega grupo editor. México 2004. Vol 37, 731-738.

LAUREANO-PÉREZ, Lizbeth. Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2005.

LECETA, I. ETXABIDE, A. CABEZUDO, S. DE LA CABA, K, y Guerrero, P. 2014. "Bio-based films prepared with by-products and wastes: environmental assessment," Vol. 64, 218-277.

LIN, D. y ZHAO, Y. Innovations in the development and applications of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2007. Vol 6 (no3). Pp 60-71

LIU, Li. KERRY, John. y KERRY, Joe. Effect of food ingredients and selected lipids on the physical properties of extruded edible films/casings. 2006. *International Journal of Food Science & Technology*. Vol 41(no 3) pp. 295-302.

LOAYZA, Gabriela. *Tipos de envase y empaque para frutas*. 2017. Disponible en <https://prezi.com/f02x6tg0xneb/tipos-de-envase-y-empaque-para-frutas-y-hortalizas/>

LÓPEZ, Ana. HERRERA, Byron. SALAZAR, Mario. ROJAS, Fernanda. GAVÍN, Verónica. ESCOBAR, José. Tomillo (*Thymus vulgaris*) como agente antimicrobiano en la producción de queso fresco. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*. 2017. Vol. 6, No. 1. págs. 45-54.

LÓPEZ, David. CUATIN, Liseth. ANDRADE Johana. y OSORIO, Oswaldo. Evaluación de un recubrimiento comestible a base de proteínas de lactosuero y cera de abeja sobre la calidad fisicoquímica de uchuva (*Physalis peruviana* L.). 2015. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v65n4/v65n4a02.pdf>

LÓPEZ-DÍAZ, Andrea. LÓPEZ MALO, Aurelio. PALOU, Enrique. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos: Películas comestibles a base de frutas y verduras;*

2015. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Pp 41-52. México.

MALI, Suzana. GROSSMANN, Victoria. GARCÍA, Maria. MARTINO, Miriam. y ZARITZKY, Noemi. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. Carbohydrate Polymers. 2004. Vol 56: 129-135

MARCHESE, Anna. BARBIERI, Ramona. COPPO, Erika. ORHAN, Ilkay. DAGLIA, Maria. AJAMI, Marjan. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. Critical Reviews in microbiology. 2017. Vol 34. Pp 56-63.

MATSUNO, Ryuichi. Y ADACHI, Shuji. Lipid encapsulation technology-techniques and applications to food. Trends in food Science and Technology. 1993. Vol 4. Pp 256-261.

MAUSSA, Andrea. Colombia pierde cerca del 40% de los alimentos que produce. 2018. El espectador. Bogotá DC, 5, diciembre, 2018. Disponible en: [www. Elespectador.com](http://www.Elespectador.com)

MCHUGH, Tara. y KROCHTA, John. Sorbitol-vs glycerol-plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994. Vol 42, pp 841-845.

MEHYAR, G. AL-QADIRI, H. ABU-BLAN, H. y SWANSON, B. Antifungal effectiveness of potassium sorbate incorporated in edible coatings against spoilage molds of apples, cucumbers, and tomatoes during refrigerated storage. Journal of Food Science. 2011. Vol 76(no 3):210-217.

MEI, Yan. y ZHAO, Yanyun. Barrier and mechanical properties of milk protein based edible films incorporated with nutraceuticals. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003. Vol 51.

MILLER FREEMAN. 2001. Pulp & Paper International (PPI). Annual Review, Ed. Julio- agosto.

MINEMOTO, Yasumasa. ADACHI, Shuji. MATSUNO, Ryuichi. Comparison of oxidation of methyl linoleate encapsulated with gum arabic by hot air-drying and freeze drying. J agric Food Chem. 1997. vol 45, 4530-4534.

MONCAYO, Carolina. Lo que debe saber del impuesto a las bolsas plásticas. Instituto Nacional de contadores Públicos. 2017. Disponible en: www.incp.org.co
MORAIS, L. CURVELO, A. y ZAMBON, M. Thermoplastic starch-lignosulfonate blends. Factorial planning as a tool for elucidating new data from high performance size- exclusion chromatography and mechanical test. 2005. Carbohydrate

Polymers. Vol 62. Pp 104- 112.

MORENO, Olga. Películas biodegradables a base de almidón con propiedades antioxidantes y antimicrobianas para su aplicación en alimentos. 2013. Universidad politécnica de valencia. Disponible en: <http://www.upv.es>

MORILLON, Valérie. DEBEAUFORT, Frédéric. BLOND, Genevieve. CAPELLE, Martine. y VOILLEY, Andrée. Factors affecting the moisture permeability of lipid based edible films: a review. Crit. Rev. Sci. Nutr. 2002. Vol 42, 67–89

MÜLLER, Carmen. YAMASHITA, Fabio. y LAURINDO, J. B. Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. Carbohydrate Polymers, (2008). Vol 72(1), 82-87.

MUÑOZ, Jorge. Evaluación, caracterización y optimización de un bioplástico a partir de la combinación de almidón de maíz, yuca y glicerol en sus propiedades físicas y de barrera. 2014. Tesis Ina. Agroindustria Alimentaria, Tegucigalpa. Escuela Agrícola Panamericana. 30 p.

MUÑOZ, José. ALFARO, María. y ZAPATA, Isabel. Avances en la formulación de emulsiones. Grasas y aceites. 2007. Ed 58, Enero – Marzo. Pp,64-73.

NACIONES UNIDAS. La Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible Una oportunidad para América Latina y el Caribe. 2018. (Rev.3), Santiago de Chile.

NANDA, R. y NAYAK, P. Edible biodegradable films for packaging applications. 2009. Popular Plastics & Packaging. Vol 54(no 2). Pp 17-22.

NETTLES, Catherine. 2002. Microbial Control by Packaging: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, vol 42(no 2):151–161.

NGUEFACK, Julienne. LEKAGNE, Joseph. DAKOLE, Charles. LETH, Vibeke. VISMER, Hester. NKENGFACK, Augustin. Food preservative potential of essential oils and fractions from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against mycotoxigenic fungi. International Journal of Food Microbiology; 2012 . vol 131: 151-156.

NINNEMANN, K.W. Measurement of physical properties of flexible films. The Science and Technology of Polymer Films. Interscience: Londres, Inglaterra. 1968. P. 546-646.

NORTHOVER, John. y ZHOU, Ting. Control of *Rhizopus* rot of peaches with postharvest treatments of tebuconazole, fludioxonil, and *Pseudomonas syringae*.

Canadian Journal of Plant Pathology . 2002. Vol 24:144–153.

ODIAN, George. Mechanical Properties of Polymers. 1991. 3 ed., J. Wiley N.Y (USA).

OLIVEIRA, Alisson. MESQUITA, Matheus. DA SILVA, Gabriela. DE OLIVEIRA LIMA, Edeltrudes. DE MEDEIROS, Paloma. PAIVA, Patricia. M. et al. Evaluation of toxicity and antimicrobial activity of an ethanolic extract from leaves of *Morus alba* L. (Moraceae). Evid. Based Complement. Altern. Med. 2015

OMIDBEYGI, Maryam. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control, 2007. Vol 18, 1518–1523.

OVIEDO, Luis. Biotransformación de los sustratos timol y carvacrol mediante el hongo fitopatógeno *Colletotrichum acutatum*. Trabajo de investigación para optar al título de Magíster en Ciencias-Química. 2014. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Medellín, Colombia.

PALLABI, Banerjee. SHUVAM, Mukherjee. 2019. Polysaccharides from *Thymus vulgaris* leaf: Structural features, antioxidant activity and interaction with bovine serum albumin. International Journal of Biological.

PEPLOW, M. 2016. “The plastics revolution: how chemists are pushing polymers to new limits”. Nature, Vol. 536, No. 7616, pp. 266–268.

PERILLA, Tabares. Tipos de plásticos según sus propiedades. 2017. Enciclopedia de plásticos.

PLOTTO, A. ROBERTS, DD. y ROBERTS, R.G. Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). 2003, Acta Horticulturae, pp. 628.

PNUMA. Informe anual. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. 2012. Disponible en: <http://www.andi.com.co>

PRAKASH, Bhanu. SINGH, Priyanka. KEDIA, Akash. DUBEY, Nawal. Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activities and in vivo efficacy in food system. 2012.

PROYECTO MERLIN. Protocolo Técnico y Logístico de frutas y verduras. 2010. Natura Visión.CORPOICA.

QIU-PING, Zhou. y WEN-SHUI Xia. Physicochemical properties of edible and preservative films from Chitosan/Cassava Starch/gelatin blend plasticized with

glycerol. Food technology and biotechnology. 2008. Vol 46 (no 3). 262-269,

RADAELLI, Marcela. PARRAGA, Bárbara. WEIDLICH, Luciana. HOEHNE, Lucelia. FLACH, Adriana. MIRANDA, Eduardo. Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. Brazilian Journal of Microbiology; 2016. Vol 47: pp 424-430.

RADÜNZ, M. MARTINS, M. CAMARGO, T. RADÜNZ, A. BORGES. AVILA, y G. HELBIG. Actividad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial de clavo sin encapsulado y encapsulado (*Syzygium aromaticum*, L.). Química de alimentos. 2019. Vol 276. Pp 180-186

RAMOS, Oscar. Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical and Bioactive Properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2012. vol 52.

REDACCIÓN GRUPAL. Datos sobre la producción de plásticos. 2015. Disponible en: <https://es.greenpeace.org/es/>

REDACCIÓN LOZANO. Clavo: *Syzygium aromaticum*. Esencias Martinez Lozano S.A. Productor de aceites esenciales. 2012. Disponible en: www.esenciaslozano.com

REDACCIÓN NACIONAL. En Colombia se usan 2 millones 714 mil bolsas plásticas al día. 2018. El espectador. Disponible en: <https://www.elespectador.com>

REDACCIÓN PACK ABC. Enciclopedia: Vinipel y películas, film estirable. 2018. Disponible en: www.abc-pack.com

REDACCIÓN VIVIR. Colombia se compromete a luchar contra el plástico de un solo uso junto a 170 países. 2019. El Espectador. Disponible en: <https://www.elespectador.com>

REDDY, M. ANGERS, P. GOSSELIN, A. y ARUL, G. Caracterización y uso de aceite esencial de *Thymus vulgaris* contra *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* en frutos de fresa. Bioquímica ecológica. Fitoquímica. 1997. Vol 47 no 8. Pp 1515-1520. Disponible en: www.Science Direct.com

REGNAULT-ROGER, Catherine. PHILOGÉNE, Bernard. y VINCENT, Charles. 2004. Biopesticidas de origen vegetal. 1a Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

REINOSO. Sara. Los polímeros Plásticos: Todo en polímeros. 2017. Disponible en: www.todoenpolimeros.com

REVISTA DIGITAL TECNOLOGÍA DEL PLÁSTICO. Panorama de la industria

colombiana de empaques y envases plásticos. 2016. Vol 43. Disponible en: <http://www.plastico.com>

REVISTA DINERO. Hacia un mundo que consume menos plástico: ¿Qué pasa con Colombia? 2016. Disponible en: <http://www.dinero.com>

RINCON, Alicia M; VASQUEZ, A; PADILLA, Marina y C, Fanny. composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. 2005, vol.55, n.3, pp. 305-310. Disponible en: <http://ve.scielo.org/scielo>.

RIVERA, Sandra. Elaboración y caracterización de películas comestibles con HPMC. Tesis gradual. Químico en alimentos. Universidad autónoma del estado de México. Nov del 2016.

RODRIGUES, Lorena. SANTOS, Sousa. CAMARGO, Andressa. GOMES, Adriano. Analytical optimization of a phenolic-rich herbal extract and supplementation in fermented milk containing sweet potato pulp. Food chemistry. 2017. Vol 221. Pp 950-958.

ROMERO, Claudia. ZAMUDIO, Paul. y BELLO, L. Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano: efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructura, propiedades mecánicas y de barrera. 2011. Vol. 10, No. 3, 445-453.

SONG, Fei. TANG, Dao-Lu. WANG, Xiu. WANG, Yu. Biodegradable soy protein isolate-based materials: a review. Biomacromolecules. 2011. Vol. 12, pp. 3369-3380.

SUDESH, Kumar. ABE, H. y YOI, D. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. Prog Polym Sci. 2000. Vol 25:1503-1555.

TECNOEMPAQUES. Vinipel: Material termoplástico con propiedades de elongación y retención de carga, aseguramiento y protección en movimiento y transporte. 2018. Disponible en: www.tecnoempques.com.co

THARANATHAN, R. Trends in food science and technology. 2003. Vol 14(no3). Pp 71-78.

TORO, Valeria. y GIRALDO, Lina. Aceites esenciales en la conservación de alimentos. Programa de Microbiología. Universidad Libre Seccional Pereira Microciencia. 2017. Vol 6. Pp 38-50.

U. EXTERNADO. Estudio prospectivo de los empaques plásticos flexibles y

semirígidos en Colombia. 2011. Disponible en: <http://www.icipc.org>

VALDERRAMA, Nathalia. Evaluación del comportamiento de películas comestibles de quitosano almacenadas bajo condiciones controladas. 2014. Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co>

VARGAS, María. PASTOR, Clara. CHIRALT, Amparo. MCCLEMENTS, D Julián. y GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, Chelo. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews In Food Science & Nutrition*, 2008. Vol 48(6):496-511.

VARGAS, P. O. Estudio preliminar del contenido de pectina en cítricos de la estación experimental a diferentes estados de madurez. Tesis test jellies. *Rev. Food Tech.* 1983 Vol 3:18-22.

VEIGA-SANTOS, P. Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: effect of additives and deacetylated xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, vol 19 (no 1), 2005, pp.341-349.

VELÁSQUEZ, Cristóbal. y BARRIOS, Enrique. Las propiedades mecánicas de los plásticos usados en Venezuela y su relación con la estructura química. 2005. Grupo de Polímeros, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes- Mérida 5101 – Venezuela.

VIEIRA, Melissa. ALTENHOFEN, Mariana. OLIVEIRA, Lucielen. y MASUMI, Marisa. 2011. Natural-based plasticizers and biopolymer films: a review. *European Polymer Journal*, vol 47:254-263.

VILLANUEVA-MEJÍA, Diego. Sector agroindustrial colombiano, 2018. volumen I. No1, diciembre, 2018.

VIVES, F. VENTRIGLIA, D. MEDVEDOVSKY M. Drogas antimicóticas. 2004. Disponible en: www.slideshare.net







WANG, Lizhe. LI, Liu. HOLMES, Justin. KERRY, John. y KERRY, Joe. Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International Journal of Food Science & Technology*. 2007. Vol 42(no 9): 1128-1138.

YUE, Xuan. SHANG, Xiao. ZHANG, Zhi. ZHANG, Yan. Phytochemical composition and antibacterial activity of the essential oils from different parts of *Hippophae rhamnoides* L. *Journal of Food and Drug Analysis*; 2017. Vol 25:pp 327-332.

ANEXOS

ANEXO A.

TABLA DE DESCRIPCIÓN COLORIMÉTRICA DE LA MADUREZ DE FRESA.

Aspecto visual	Nivel	Descripción del estado de madurez.
	0	Fruto de color blanco verdoso bien desarrollado, a este estado se le conoce como madurez fisiológica
	1	El fruto es aún de color blanco verdoso, con algunas áreas de color rosa en la zona apica
	2	Se incrementa el área de color rojo intenso en la zona apical
	3	El color rojo puro cubre hasta la zona media del fruto y la zona de cáliz presenta visos rosados
	4	Aumenta el área de color rojo intenso hacia el cáliz
	5	El color rojo intenso aumenta y empieza a cubrir la zona del cáliz
	6	El color rojo intenso cubre todo el fruto

Fuente. RAMIREZ, L. Cadena de valor en la producción de fresa en Zamora, Michoacán. Tesis maestra en ciencias. Intitución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Colegio de Posgraduados. 2010.

ANEXO B.

FICHA TÉCNICA PARA EL ACEITE ESENCIAL DE CLAVO (SYZYGIUM AROMATICUM)



Certificado de análisis

Aceite esencial de Clavo

Eugenia caryophyllata

INCI NAME:

Lote:

28012019-09

Fecha:

24/09/19

Características	Especificaciones	Resultados
Color	ligeramente amarillo a amarillo claro	aprobado
Descripción Olfativa	Especia con matices dulces	aprobado
A temperatura ambiente	líquido	aprobado
Proceso	Destilación por arrastre con vapor	
Densidad a 20°C *	0,908 - 1,0605	0,998
Miscibilidad	Parcialmente miscible en agua	
Vence:	Febrero de 2021	
Fecha de análisis	Enero de 2019	

* picnómetro

Los datos pueden variar si el producto no es almacenado adecuadamente.

Debe almacenarse lejos de la luz, completamente tapado y en un lugar fresco y seco.

Debe almacenarse preferiblemente en recipiente de vidrio.

Precaución: debe evitarse contacto directo con la piel.

I.Q. Julia María Olaya Flórez

ANEXO C.

FICHA TÉCNICA PARA EL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO (THYMUS VULGARIS)

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Thyme Red Essential Oil
 Lot #: 11145A00119
 Best Before: July, 2021
 Store in an air tight container; in a cool dry area; away from direct sunlight.

<u>Properties</u>	<u>Specifications</u>	<u>Results</u>
Appearance:	Pale yellow to reddish-yellow clear liquid.	Complies
Odor:	Characteristic thymol odor.	Complies
Solubility:	Insoluble in water.	Complies
Specific Gravity:	0.910 to 0.937@20°C	0.9283
Optical Rotation:	-6° to -1° @20°C	-3.5°
Refractive Index:	1.494 to 1.509 @20°C	1.5000
Thymol:	37 - 57 %	53.7
γ-Terpinene:	4 - 11 %	7.1
p-Cymene:	14 - 28 %	18.9
Linalool:	2 - 6.5 %	3.0

TABLAS DE VAPOR DE AGUA

Propiedades del Vapor Saturado y del Agua (Tablas de Vapor) Unidades SI

Temperatura de vapor (°C)	Presión de vapor (kPa)	Volumen específico (m³/kg)		Entalpía (kJ/kg)		Entropía (kJ/kg·K)	
		Líquido	Vapor Sat.	Líquido	Vapor Sat.	Líquido	Vapor Sat.
0.01	0.6113	0.0010002	206.136	0.00	2501.4	0.0000	9.1562
3	0.7577	0.0010001	168.132	12.57	2506.9	0.0457	9.0773
6	0.9349	0.0010001	137.734	25.20	2512.4	0.0912	9.0003
9	1.1477	0.0010003	113.386	37.80	2517.9	0.1362	8.9253
12	1.4022	0.0010005	93.784	50.41	2523.4	0.1806	8.8524
15	1.7051	0.0010009	77.926	62.99	2528.9	0.2245	8.7814
18	2.0640	0.0010014	65.038	75.58	2534.4	0.2679	8.7123
21	2.487	0.0010020	54.514	88.14	2539.9	0.3109	8.6450
24	2.985	0.0010027	45.883	100.70	2545.4	0.3534	8.5794
27	3.567	0.0010035	38.774	113.25	2550.8	0.3954	8.5156
30	4.246	0.0010043	32.894	125.79	2556.3	0.4369	8.4533
33	5.034	0.0010053	28.011	138.33	2561.7	0.4781	8.3927
36	5.947	0.0010063	23.940	150.86	2567.1	0.5188	8.3336
40	7.384	0.0010078	19.523	167.57	2574.3	0.5725	8.2570
45	9.593	0.0010099	15.258	188.45	2583.2	0.6387	8.1648
50	12.349	0.0010121	12.032	209.33	2592.1	0.7038	8.0763
55	15.758	0.0010146	9.568	230.23	2600.9	0.7679	7.9913
60	19.940	0.0010172	7.671	251.13	2609.6	0.8312	7.9096
65	25.03	0.0010199	6.197	272.06	2618.3	0.8935	7.8310
70	31.19	0.0010228	5.042	292.98	2626.8	0.9549	7.7553
75	38.58	0.0010259	4.131	313.93	2635.3	1.0155	7.6824
80	47.39	0.0010291	3.407	334.91	2643.7	1.0753	7.6122
85	57.83	0.0010325	2.828	355.90	2651.9	1.1343	7.5445
90	70.14	0.0010360	2.361	376.92	2660.1	1.1925	7.4791
95	84.55	0.0010397	1.9819	397.96	2668.1	1.2500	7.4159
100	101.35	0.0010435	1.6729	419.04	2676.1	1.3069	7.3549
105	120.82	0.0010475	1.4194	440.15	2683.8	1.3630	7.2958
110	143.27	0.0010516	1.2102	461.30	2691.5	1.4185	7.2387
115	169.06	0.0010559	1.0366	482.48	2699.0	1.4734	7.1833
120	198.53	0.0010603	0.8919	503.71	2706.3	1.5276	7.1296
125	232.1	0.0010649	0.7706	524.99	2713.5	1.5813	7.0775
130	270.1	0.0010697	0.6685	546.31	2720.5	1.6344	7.0269
135	313.0	0.0010746	0.5822	567.69	2727.3	1.6870	6.9777
140	363.3	0.0010797	0.5089	589.13	2733.9	1.7391	6.9299
145	415.4	0.0010850	0.4463	610.63	2740.3	1.7907	6.8833
150	475.8	0.0010905	0.3928	632.20	2746.5	1.8418	6.8379
155	543.1	0.0010961	0.3468	653.84	2752.4	1.8925	6.7935
160	617.8	0.0011020	0.3071	675.55	2758.1	1.9427	6.7502
165	700.5	0.0011080	0.2727	697.34	2763.5	1.9925	6.7078
170	791.7	0.0011143	0.2428	719.21	2768.7	2.0419	6.6663
175	892.0	0.0011207	0.2168	741.17	2773.6	2.0909	6.6256
180	1002.1	0.0011274	0.19405	763.22	2778.2	2.1396	6.5857
190	1254.4	0.0011414	0.15654	807.62	2786.4	2.2359	6.5079
200	1553.8	0.0011565	0.12736	852.45	2793.2	2.3309	6.4323
225	2548	0.0011992	0.07849	966.78	2803.3	2.5639	6.2503
250	3973	0.0012512	0.05013	1085.36	2801.5	2.7927	6.0730
275	5942	0.0013168	0.03279	1210.07	2785.0	3.0208	5.8938
300	8581	0.0010436	0.02167	1344.0	2749.0	3.2534	5.7045

Referencia: Resumen de J. H. Keenan, F. G. Keyes, P. G. Hill y J. G. Moore, *Steam Tables - metric Units*. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1969.