



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA



Tema: Caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de una cubierta biodegradable de almidón de yuca enriquecida con aceite esencial de lavanda *Lavandula angustifolia mill.*

Informe Final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación, previa a la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través De la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Christopher Josue Guevara Morales

Tutor: PhD. Irvin Ricardo Tubón Usca

Ambato – Ecuador

Septiembre - 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Irvin Ricardo Tubón Usca

CERTIFICA

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de éste Informe Final de Integración Curricular, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Titulación y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 19 de julio del 2022

.....

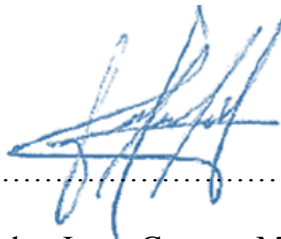
PhD. Irvin Ricardo Tubón Usca

C.I. 175478486-4

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Christopher Josue Guevara Morales, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnologo son absolutamente originales, auténticos y personales a excepción de las citas bibliográficas.



.....
Christopher Josue Guevara Morales

180368581-5

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad proyecto de investigación el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firman:

Presidente del Tribunal

Dra. Mirari Yosune Arancibia Soria
C.I. 1802142461

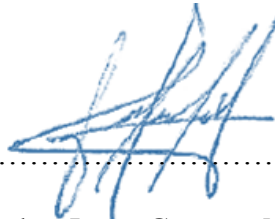
Dr. William Ricardo Calero Cáceres
C.I. 1714348859

Ambato, 26 de agosto del 2022

DERECHO DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Integración Curricular, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



.....
Christopher Josue Guevara Morales

180368581-5

AUTOR

DEDICATORIA

A mi tía Martha que ha sido una madre para mí me ha inculcado sus valores y enseñanzas, me ha guiado a través de su ejemplo y dedicación.

A mi Abuelita Tita que siempre ha cuidado de mí desde pequeño y me ha llenado de todo su amor y brindado consejos.

A mi madre Doris por velar siempre por mí y demostrarme su apoyo.

A mis hermanas por acompañarme en los buenos y los malos momentos, por impulsarme a cumplir las metas que me proponga.

Con Mucho cariño Christopher

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por brindarme salud a mí y a toda mi familia, por ayudarnos a superar estos tiempos difíciles y permitirnos estar juntos a pesar de las adversidades que se han presentado en el camino.

Personas exitosas se forman a partir de la enseñanza de personas excepcionales. Quiero agradecer en especial a mi tía Martha por acogerme como un hijo, por criarme bajo sus valores, por enseñarme a través de su ejemplo altruista, por inculcarme a cada día ser una mejor persona, por no juzgarme y precautelar siempre por mi bienestar.

A mi abuela, madre, hermanas y familiares por brindarme su apoyo en cada etapa de mi vida.

A mi apreciado tutor BQF. Irvin Tubón, un agradecimiento muy especial por permitirme formar parte de su proyecto de investigación y compartirme sus conocimientos y enseñanzas además de guiarme en cada paso de la construcción de este proyecto.

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología y sus docentes por haberme formado académicamente ayudándome a adquirir invaluable conocimientos que me formaran como un gran profesional.

A mis amigos y futuros colegas Dome, Marco, Yonayker, Michu por su amistad infinita, por el acompañamiento mutuo en este camino, por todas las risas, por el apoyo tanto a nivel académico como personal, por demostrar ser confidentes y apoyar mis decisiones.

A mi mejor amigo Andrés por estar conmigo y apoyarme en los buenos y malos momentos.

Finalmente, a mi eterna acompañante Pegui por estar a mi lado las noches de desvelo brindándome su cálido amor, y confortándome solo con una mirada.

Muchas gracias desde el fondo de mi corazón

Christopher

ÍNDICE GENERAL

PÁGINAS PREELIMINARES

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT	xvii

CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	1
1.1.1. Contaminación Ambiental	1
1.1.2. Residuos Sólidos.....	1
1.1.3. Plásticos como agentes contaminantes.....	2
1.1.3.1. Residuos Plásticos sólidos en la Industria Alimentaria	3
1.1.4. Envasado en la Industria Alimenticia	3
1.1.4.1. Beneficios.....	3
1.1.4.2. Tipos de envasado	4
1.1.4.2.1. Envasado convencional.....	4
1.1.4.2.2. Envasado No Convencional.....	5
1.1.5. Contaminación Alimentaria.....	5
1.1.5.1. Contaminación Física.....	5
1.1.5.2. Contaminación Química.....	5
1.1.5.3. Contaminación Biológica.....	6
1.1.5.3.1. E. Coli	6
1.1.5.3.2. S. Aureus.....	6

1.1.6.	Yuca.....	7
1.1.6.1.	Zonas de cultivo (Ecuador)	7
1.1.6.2.	Composición nutricional	8
1.1.7.	Almidón de Yuca	8
1.1.7.1.	Estructura	8
1.1.7.1.1.	Amilosa.....	8
1.1.7.1.2.	Amilopectina.....	9
1.1.7.2.	Propiedades Fisicoquímicas	9
1.1.7.2.1.	Composición Proximal	9
1.1.7.2.2.	Características del Gránulo de Almidón	10
1.1.7.2.3.	Capacidad de Absorción de Agua.....	11
1.1.7.2.4.	Solubilidad y Poder de Hinchamiento	11
1.1.7.3.	Propiedades Funcionales	11
1.1.8.	Plastificantes	13
1.1.9.	Coadyuvantes.....	13
1.1.10.	Aditivos Funcionales	13
1.1.10.1.	Aceites esenciales.....	13
1.1.10.1.1.	Aceite esencial de Lavanda	14
1.1.11.	Películas biodegradables.....	14
1.1.11.1.	Propiedades Físico-Químicas.....	14
1.1.11.1.1.	Transparencia	14
1.1.11.1.2.	Espesor	15
1.1.11.1.3.	Humedad	15
1.1.11.1.4.	Solubilidad	15
1.1.11.1.5.	Capacidad de Hinchamiento.....	15
1.1.11.1.6.	Permeabilidad al Vapor de Agua	16
1.2.	OBJETIVOS	16
1.2.1.	Objetivo General	16
1.2.2.	Objetivos específicos	16

CAPÍTULO II METODOLOGÍA

2.1.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	17
2.1.1.	Materiales	17

2.1.1.1. Material Microbiano.....	17
2.1.1.2. Material de Laboratorio.....	17
2.1.2. Equipos de Laboratorio	18
2.1.3. Reactivos	18
2.2. METODOLOGÍA.....	19
2.2.1. Elaboración de la Cubierta Biodegradable	19
2.2.1.1. Obtención de Materias Primas	19
2.2.1.2. Determinación de Amilosa y Amilopectina	19
2.2.1.3. Preparación de la cubierta biodegradable.....	20
2.2.2. Caracterización de las Propiedades Físicas de la Cubierta Biodegradable	21
2.2.2.1. Espesor	21
2.2.2.2. Contenido de humedad.....	21
2.2.2.3. Solubilidad	21
2.2.2.4. Capacidad de Hinchamiento.....	22
2.2.2.5. Permeabilidad al Vapor de Agua	22
2.2.3. Determinación de la Actividad antibacteriana de la cubierta contra <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	22
2.2.3.1. Preparación del inóculo bacteriano según escala McFarland.....	23
2.2.3.2. Actividad antibacteriana de la cubierta comestible.....	23
2.2.4. Análisis Estadístico	23

CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de los resultados	24
3.1.1. Películas Comestibles	24
3.1.2. Caracterización de las películas.....	28
3.1.2.1. Espesor	28
3.1.2.2. Humedad	30
3.1.2.3. Solubilidad	33
3.1.2.4. Capacidad de Hinchamiento.....	36
3.1.2.5. Tasa de Transmisión al Vapor de Agua (WVTR) y Permeabilidad al Vapor de Agua (WVP).....	38
3.1.3. Actividad Antimicrobiana	42

CAPÍTULO VI CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES.....	45
4.2. RECOMENDACIONES	47
BIBLIOGRAFÍA.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Composición y clasificación de los Residuos sólidos Municipales generados en el año 2013 en Estados Unidos.....	1
Figura 2. Generación y eliminación acumulada de residuos plásticos (millones de toneladas métricas).	2
Figura 3. Esquema estructural de la molécula de amilosa.....	9
Figura 4. Esquema estructural de la molécula de amilopectina.	9
Figura 5. Imágenes del gránulo de almidón de yuca obtenido mediante microscopía electrónica (SEM) y microscopía de luz polarizada (PLM).	10
Figura 6. Representación de los cambios que sufren de los gránulos de almidón de yuca durante el proceso hidrotérmico.	12
Figura 7. Recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con distintas concentraciones de aceite esencial de lavanda (<i>Lavandula Angustifolia</i> Mill).....	26
Figura 8. Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre el espesor de los recubrimientos comestibles.....	29
Figura 9. Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre la humedad de los recubrimientos comestibles.	31
Figura 10. Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre el porcentaje de solubilidad de los recubrimientos comestibles.....	34
Figura 11. Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre la capacidad de hinchamiento de los recubrimientos comestibles	36
Figura 12. Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre la tasa de transmisión del vapor de agua (WVTR) de los recubrimientos comestibles.....	39
Figura 13. Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de los recubrimientos comestibles	42

Figura 14. Efecto de la concentración del aceite esencial de Lavanda sobre los halos de inhibición que presentan los recubrimientos comestibles. 45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Polímeros Generados por parte de la Industria Alimenticia durante el año 2006.	4
Tabla 2. Superficie, producción y rendimiento del cultivo de yuca en Ecuador. Valores promedio durante los años 2000-2012.....	7
Tabla 3. Análisis proximal de diferentes variedades de almidón de yuca.....	10
Tabla 4. Propiedades estructurales de los gránulos de almidón de yuca.....	10
Tabla 5. Solubilidad y poder de Hinchamiento del almidón de yuca.....	11
Tabla 6. Propiedades térmicas del almidón de yuca durante el proceso de gelatinización y retrogradación.....	12
Tabla 7. Formulación de 100 ml de las soluciones filmogénicas enriquecidas con diversas concentraciones de aceite esencial.	20
Tabla 8. Recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con distintas concentraciones de aceite esencial de lavanda (<i>Lavandula Angustifolia</i> Mill).....	27
Tabla 9. Espesor de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda	29
Tabla 10. Porcentaje de Humedad de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda	32
Tabla 11. Porcentaje de solubilidad de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda.....	35
Tabla 12. Capacidad de Hinchamiento de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda.....	37
Tabla 13. Transmisión del Vapor de Agua (WVTR) y Permeabilidad al vapor de Agua (WVP) de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda	40
Tabla 14. Halos de inhibición exhibidos por los recubrimientos comestibles enriquecidos con aceite esencial de Lavanda.	45

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A

Anexo A-1. Datos Obtenidos del espesor medido con micrómetro de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.....	64
Anexo A-2. Datos Obtenidos de la humedad de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.....	65
Anexo A-3. Datos Obtenidos del porcentaje de solubilidad de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.....	65
Anexo A-4. Datos Obtenidos de la capacidad de hinchamiento de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.....	66
Anexo A-5. Datos Obtenidos de la transferencia del vapor de agua (WVTR) y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos	66
Anexo A-6. Gráficas obtenidas a partir de las variaciones de pesos de los sistemas para el cálculo de la transferencia del vapor de agua (WVTR) y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos..	68

ANEXO B

Anexo B-1. Cálculo demostrativo realizado para obtener el promedio del espesor de las películas biodegradables.....	72
Anexo B- 2. Cálculo demostrativo realizado para obtener la humedad de las películas biodegradables.....	72
Anexo B- 3. Cálculo demostrativo realizado para obtener la solubilidad de las películas biodegradables.....	72
Anexo B- 4. Cálculo demostrativo realizado para obtener la capacidad de hinchamiento de las películas biodegradables.....	73
Anexo B- 5. Cálculo demostrativo realizado para obtener la transferencia del vapor de agua (WVTR) y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas biodegradables	73

ANEXO C

Anexo C- 1. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) del espesor de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.....	76
Anexo C- 2. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la humedad de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.....	77
Anexo C- 3. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la solubilidad de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.....	78
Anexo C- 4. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la capacidad de hinchamiento de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.	79
Anexo C- 5. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la Transferencia del Vapor de Agua (WVTR) de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.....	80
Anexo C- 6. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la Permeabilidad al Vapor de Agua (WVP) de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.	81
Anexo C- 7. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de los Halos de Inhibición exhibidos por la película biodegradable.	82

ANEXO D

Anexo D- 1. Pesaje de los ingredientes de acuerdo al volumen de solución a preparar.	85
Anexo D- 2. Mezcla de los ingredientes.	85
Anexo D- 3. Vertido de la solución en placas de polipropileno.....	85
Anexo D- 4. Secado de las películas en la incubadora a 50°C por 24 horas.....	86
Anexo D- 5. Películas Obtenidas después del proceso de secado A) Control; B) 1% A.E; C) 2,5%; D) 5% A.E; E) 10% A.E	87
Anexo D- 6. Preparación de las muestras (20 * 20 mm) para las pruebas de solubilidad, capacidad de hinchamiento y humedad.	87
Anexo D- 7. Medición del espesor con el micrómetro tomando 5 puntos al az	88
Anexo D- 8. Películas (20 * 20mm) previamente pesadas para la prueba de humedad.	89
Anexo D- 9. Películas (20 * 20mm) posterior del proceso de secado a 110°C por 24 horas.	90
Anexo D- 10. Películas (20 * 20mm) pre-tratadas a 110°C por 24 horas.....	90

Anexo D- 11. Películas recuperadas en papel filtro y secadas a 110°C durante 24 horas	91
Anexo D- 12. Muestras de películas previamente tratadas a 60°C por 24 horas para las pruebas de capacidad de hinchamiento	91
Anexo D- 13. Réplicas de las muestras de la película biodegradable en una solución 0,01M de NaCl para medir la capacidad de hinchamiento. A) Control; B) 1% A.E; C) 2,5% A.E; D) 5% A.E; E) 10% A.E	93
Anexo D- 14. Réplicas DE Sistemas elaborados con gel de sílica (10 g) y las películas biodegradables. A) Control; B) 1% A.E; C) 2,5% A.E; D) 5% A.E; E) 10% A.E	94
Anexo D- 15. Conjunto de sistema de sistemas elaborados con gel de sílica (10 g) y películas con diferente concentración de aceite esencial.	95
Anexo D- 16. Conjunto de sistema de sistemas elaborados con gel de sílica (10 g) y películas con diferente concentración de aceite esencial, dentro del desecador con humedad relativa de 75%.	95
Anexo D- 17. Halos de Inhibición exhibidos por los discos de las películas biodegradables contra <i>E. coli</i> (ATCC 11229). A) Control Positivo (Discos de Antibióticos); B)Control Negativo; C)1% A.E; D) 2,5%; E) 5% A.E; F) 10% A.E.....	95
Anexo D- 18. Halos de Inhibición exhibidos por los discos de las películas biodegradables contra <i>S. aureus</i> (ATCC 13150). A) Control Positivo (Discos de Antibióticos); B) Control Negativo(Discos de Antibióticos); C)1% A.E; D) 2,5%; E) 5% A.E; F) 10% A.E	96

ANEXO E

Anexo E-1. Conjunto de soluciones de calibración establecidos en la norma ISO 6647-1:2020	98
Anexo E-2. Curva de Calibración del porcentaje de amilosa	99
Anexo E- 3. Calculo del porcentaje de amilosa y amilopectina del almidón de yuca. ..	99

RESUMEN

Se elaboraron películas a partir de almidón de yuca (5 por ciento peso sobre volumen) y gelatina (5 por ciento peso sobre volumen), plastificadas con glicerol (3 por ciento peso sobre volumen). Se evaluó la influencia de la incorporación de diferentes concentraciones de aceite esencial de Lavanda (*Lavandula angustifolia* mill) 1; 2,5; 5 y 10 por ciento, sobre las propiedades físico-químicas y la actividad antimicrobiana de las películas biodegradables elaboradas. A una concentración mayor de aceite esencial las películas se vuelven opacas y presentan una coloración amarillenta, además son heterogéneas y rugosas. El espesor y la Permeabilidad al Vapor de agua (WVP) aumentan conforme incrementa la concentración del aceite esencial. En contraparte, la solubilidad, capacidad de hinchamiento y tasa de transferencia del vapor de agua (WVTR), presentan una tendencia a decrecer conforme se aumenta la concentración del aceite esencial. La humedad no presenta una tendencia clara puesto que decrece hasta una concentración de 2,5 por ciento y aumenta a partir de la concentración de 5 por ciento A.E. Los halos de inhibición microbiana son mayores conforme se aumenta la concentración del aceite esencial de Lavanda, denotándose, que la acción antimicrobiana es mayor sobre las cepas de *S. aureus* (ATCC 13150) y menor sobre *E. coli* (ATCC 11229). Los resultados se analizaron a partir de ANOVA de una vía utilizando el software estadístico GraphPad.

Palabras Clave:

Recubrimientos comestibles, aceites esenciales, almidón de yuca, *Lavandula angustifolia* mill.

ABSTRACT

Biofilms were made from cassava starch (5 percent weight on volume) and gelatin (5 percent weight on volume), plasticized with glycerol (3 percent weight on volume). The influence of the incorporation of different concentrations of essential oil of Lavender (*Lavandula angustifolia* mill) 1; 2.5; 5 and 10 percent, on the physical-chemical properties and antimicrobial activity of the biodegradable films produced. At a higher concentration of essential oil, the films become opaque and present a yellowish color, they are also heterogeneous and rough. The thickness and the Water Vapor Permeability (WVP) increase as the concentration of the essential oil increases. On the other hand, the solubility, swelling capacity and water vapor transfer rate (WVTR) show a tendency to decrease as the concentration of the essential oil increases. The humidity does not present a clear trend since it decreases up to a concentration of 2.5 percent and increases from the concentration of 5 percent A.E. The microbial inhibition halos are greater as the concentration of Lavender essential oil increases, indicating that the antimicrobial action is greater on *S. aureus* strains (ATCC 13150) and less on *E. coli* (ATCC 11229). Results were analyzed from one way ANOVA using GraphPad statistical software.

Key Words:

Edible coatings, essential oils, cassava starch, *Lavandula angustifolia* mill.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

1.1.1. Contaminación Ambiental

La contaminación ambiental es la alteración desfavorable del entorno, ocasionada en gran parte como subproducto de las acciones del hombre (Rai, 2016). Representa la mayor problemática global, puesto que afecta la biodiversidad, los ecosistemas y la salud humana. En el año 2015 se predijo que las enfermedades causadas por la contaminación del ambiente ocasionarán 9 millones de muertes prematuras (Ukaogo et al., 2020).

La contaminación ambiental es el resultado de la revolución urbano-industrial y tecnológica que ocasiona un incremento de los desechos industriales y urbanos, la explotación desmesurada de los recursos naturales y el aumento de la tasa de intercambio de contaminantes (Aguilar et al., 2018).

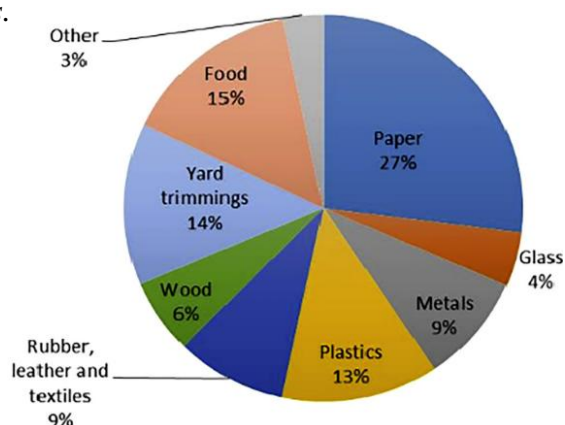
1.1.2. Residuos Sólidos

El manejo de residuos sólidos presenta una gran problemática para las pequeñas y grandes ciudades (Arteaga et al., 2018). Los residuos sólidos incrementan exponencialmente debido al exorbitante crecimiento demográfico, desarrollo descontrolado del sector industrial y cambios en los patrones de consumo (Reinhart et al., 2016).

El plástico representa el 13% de los residuos sólidos municipales (Figura 1), esto significa una problemática, ya que, este desecho tarda largos períodos de tiempo en degradarse, además, su tratamiento (pirolisis) libera más agentes contaminantes a la atmósfera acarreando una problemática aún mayor (Abdel-shafy & Mansour, 2018).

Figura 1.

Composición y clasificación de los Residuos sólidos Municipales generados en el año 2013 en Estados Unidos.



Tomado de *Solid waste issue: Sources, composition, disposal, recycling, and valorization* (p.1), por **Abdel-shafy & Mansour, 2018**. Egyptian Journal of Petroleum.

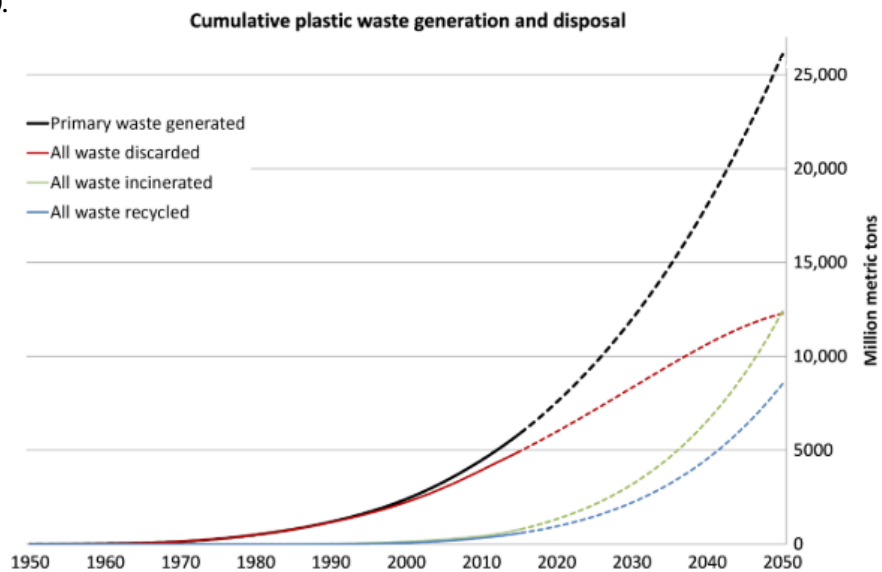
1.1.3. Plásticos como agentes contaminantes

La producción y distribución del plástico aumenta descomunalmente debido a su amplia demanda por parte de diversos sectores industriales y su uso cotidiano (**Baptista et al., 2019**). La producción global de plástico ha incrementado de 1,5 millones de toneladas en el año 1950 a 335 millones de toneladas en 2016 (**Li et al., 2020**).

Según **Geyer et al., (2017)** el 79% de los productos plásticos no han sido tratados adecuadamente y se han desechado en el medio ambiente. Esto se visualiza en la figura 2, donde los datos y proyecciones de la generación y eliminación de residuos plásticos muestran que el plástico desechado al ambiente siempre superará las tasas de reciclaje y tratamiento (combustión, pirolisis).

Figura 2.

Generación y eliminación acumulada de residuos plásticos (millones de toneladas métricas).



Nota. Las líneas continuas muestran datos históricos hasta 2015; Las líneas discontinuas muestran proyecciones de tendencias hasta el año 2050.

Tomado de *Production, use, and fate of all plastics ever made* (p.3), por **Geyer et al., 2017**. Science Advances.

Los plásticos desechados tienen un gran impacto sobre los ecosistemas ya que estos se pueden movilizar mediante corrientes de aire y a través de los ríos (**Earn et al., 2021**).

La problemática también se fija en torno a que los plásticos pueden servir como vectores para contaminantes orgánicos, metales pesados e incluso microorganismos nocivos (**Baptista et al., 2019**). Además, al ser derivados del petróleo pueden liberar químicos tales como monómeros, oligómeros y aditivos tóxicos que tienen un gran impacto sobre la biodiversidad e incluso la salud humana (**Hermabessiere et al., 2017**).

1.1.3.1. Residuos Plásticos sólidos en la Industria Alimentaria

La demanda de plástico destinados a sistemas de envasado de alimentos ha incrementado debido su amplia gama de propiedades funcionales y bajo costo de producción. Sin embargo, estos son permeables a la luz, gases y moléculas pequeñas (**Aizan et al., 2015**).

Según **Piñeros et al., (2017)** los envases representan alrededor del 39,6% de los plásticos producidos y el mercado sigue expandiéndose aumentando gradualmente su demanda. El 40% de plásticos destinados a la industria alimentaria corresponde a plásticos de un solo uso, generando una inminente problemática ambiental (**Geyer et al., 2017**).

Según **United States Environmental Protection Agency (EPA), 2014** los contenedores y empaques representan el 23% de los desechos que se encuentran en el medio ambiente en Estados Unidos. No obstante, en el año 2019 los envases plásticos generaron alrededor del 54% de los residuos antropogénicos mundiales (**Macena et al., 2021**).

1.1.4. Envasado en la Industria Alimenticia

Las tecnologías de envasado son un foco central en el procesamiento de alimentos. La selección adecuada del material del envase y los sistemas que lo acompañan son fundamentales para garantizar la seguridad alimentaria (**Berk, 2018**).

El envasado ayuda a que los alimentos mantengan sus beneficios y características físico-químicas y biológicas (**Himanshu & Bindu, 2015**). La meta del envasado es mantener la calidad de los alimentos a un costo efectivo (**Marsh & Bugusu, 2007**).

1.1.4.1. Beneficios

Los envases ofrecen protección contra el daño mecánico y físico a los alimentos creando una barrera resistente al impacto y vibración (**Himanshu & Bindu, 2015**). Además, protegen a los alimentos de sufrir cambios en su composición química debido

a factores externos como la exposición a gases, humedad o luz (**Wyrwa & Barska, 2017**). Adicionalmente, los envases contienen códigos únicos que permiten rastrear la cadena de distribución de los alimentos (**Berk, 2018**).

1.1.4.2. Tipos de envasado

La composición química, las propiedades físicas, ópticas y mecánicas de los materiales de envasado determinan su habilidad para cumplir con sus características funcionales, siendo la principal el transporte seguro de los alimentos (**Berk, 2018**).

1.1.4.2.1. Envasado convencional

La mayoría de materiales utilizados para el envasado convencional son los metales, vidrio, papel y polímeros. Algunos sistemas de envasado consisten en la combinación de dos o más materiales mencionados anteriormente (**Geueke et al., 2018**).

Los contenedores de metal ofrecen una ventaja en términos de protección mecánica, impermeabilidad a la transferencia de masa y luz (**Marsh & Bugusu, 2007**). Los envases de vidrio son utilizados por su transparencia, impermeabilidad, y resistencia térmica, no obstante, debido a su fragilidad su uso se ve limitado (**Berk, 2018**). Las principales ventajas del papel como envase son su bajo costo, alta disponibilidad, bajo peso, sin embargo, es sensible a la humedad (**Alamri et al., 2021**).

Los polímeros en especial los derivados del petróleo han tomado una gran relevancia como envases para la industria alimenticia, esto se debe a su flexibilidad, transparencia y bajo costo. Sin embargo, son permeables a pequeñas moléculas orgánicas (**Berk, 2018**).

A pesar de los problemas a la salud que pueden acarrear los plásticos estos son ampliamente utilizados, en la Tabla 1 se observa los tipos de polímeros derivados del petróleo y las toneladas anuales producidas, destacando al polietileno de baja densidad y de alta densidad (**Marsh & Bugusu, 2007**).

Tabla 1.

Polímeros Generados por parte de la Industria Alimenticia durante el año 2006.

Polímero	Código	Cantidad Generada (miles de toneladas)
Polietileno Tereftalato	1	2860

Polietileno de Alta Densidad	2	5890
Cloruro de polivinilo	3	1640
Polietileno de Baja Densidad	4	6450
Polipropileno	5	4000
Poliestireno	6	2590
Otros Polímeros	7	5480

Tomado de *Food packaging - Roles, materials, and environmental issues: Scientific status summary* (p. 42), por **Marsh & Bugusu, 2007**. Journal of Food Science- Vol. 72.

1.1.4.2.2. Envasado No Convencional

Los sistemas de envasado no convencional pueden preservar los alimentos por largos períodos de tiempo evitando la oxidación y la proliferación de microorganismos (**Berk, 2018**). El más destacado es el sistema de envasado activo en el cual se incorporan aditivos funcionales al material de empaquetamiento, algunos de ellos son modificadores de atmósferas como limitantes de oxígeno y etileno, otros son reguladores de humedad y liberadores de antimicrobianos y dióxido de carbono (**Yildirim & Röcker, 2018**).

Además, se han desarrollado envases capaces de monitorear las condiciones de la comida empaquetada. Estos sistemas se basan en indicadores colorimétricos que monitorean la temperatura, pH y actividad microbiana (**Wyrwa & Barska, 2017**).

1.1.5. Contaminación Alimentaria

La contaminación alimentaria es definida por **Hussain, (2016)** como los alimentos que se encuentran corroídos por microorganismos patógenos, parásitos o sustancias tóxicas, que provocan que estos no sean aptos para el consumo. Según **Kamala & Kumar, (2018)** el Centro de Control de Enfermedades reporta en promedio de 6 a 33 millones de casos de enfermedades ocasionadas por el consumo de comida contaminada.

1.1.5.1. Contaminación Física

Los contaminantes físicos pueden ser metales, objetos pequeños, cabellos, suciedad, joyería entre otros. Si bien los contaminantes físicos no alteran al producto, pueden servir de vectores de patógenos y ser nocivos si son ingeridos (**Kamala & Kumar, 2018**).

1.1.5.2. Contaminación Química

Los contaminantes químicos pueden proceder de diversas fuentes como el suelo, ambiente, agua y los envases de empaquetamiento (**Rather et al., 2017**). Los análisis de

los alimentos proveen una guía de los principales contaminantes químicos, sus implicaciones en la salud y su incidencia, así como métodos de detección y control (Kamala & Kumar, 2018).

1.1.5.3. Contaminación Biológica

La contaminación biológica ocurre cuando los alimentos están contaminados con bacterias infecciosas (*E. coli* y *S. aureus*) u organismos productores de toxinas (*Clostridium botulinum*) y virus, que son una causa común de intoxicación alimentaria y deterioro de los alimentos (Kamala & Kumar, 2018).

1.1.5.3.1. *E. Coli*

La *Escherichia coli* (*E. coli*) forma parte de la flora intestinal de humanos y otros animales. Sin embargo, existen cepas que pueden afectar al intestino y causar enfermedades crónicas (Croxen et al., 2013). Según describe McAuley et al., (2014) la *E. coli* se puede adquirir a través del consumo de agua o alimentos contaminados, por lo cual se utiliza como un indicador de contaminación fecal.

Las cinco cepas principales de *E. coli* diarreogénica transmitida por los alimentos son la: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* productora de toxina Shiga/ *E. coli* enterohemorrágica (STEC/EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) (Yang et al., 2017).

Las cepas de *E. coli* patogénicas poseen factores de adherencia para colonizar el epitelio intestinal, los mismos les brindan adherencia a vegetales, contribuyendo así su persistencia en alimentos y transmisibilidad (Herman et al., 2015; Luna et al., 2019).

1.1.5.3.2. *S. Aureus*

El *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es un patógeno oportunista que causa un amplio espectro de infecciones (Hennekinne et al., 2012). Las comidas que se encuentran comúnmente contaminadas con *S. aureus* incluyen los productos derivados de cárnicos, huevos, leche, ensaladas y productos de panadería.

Los síntomas de una infección ocasionada por *S. aureus* incluye náuseas, vomito, dolor abdominal y diarrea (Argudín et al., 2010). Según Kérouanton et al., (2007) la infección causada por *S. aureus* tras la ingesta de alimentos contaminados provoca una reacción casi inmediata (3 a 5 horas), esto se debe a la producción de toxinas. *S. aureus*

genera un amplio rango de enterotoxinas como: SEA, SEB, SEC, SEH y SEJ, estas toxinas son termoestables y causan una reacción inmunodepresora (**Kadariya et al., 2014**).

1.1.6. Yuca

La yuca (*Manihot esculenta Crantz*) pertenece a la Familia *Euphorbiaceae*, la cual está constituida por alrededor de 7200 especies (**Bayata, 2019**). El centro de origen genético de la yuca radica en la cuenca Amazónica y se encuentra distribuida en África, Asia y Latinoamérica con un área de cultivo superior a los 13 millones de hectáreas (**Aristizábal & Sánchez, 2007**).

1.1.6.1. Zonas de cultivo (Ecuador)

En el Ecuador la yuca (*Manihot esculenta Crantz*) se produce principalmente en zonas cerca del nivel del mar hasta los 1620 msnm en todas las regiones del país (**Hinostroza et al., 2014**). Según estadísticas proporcionadas por el **Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), (2013)** la superficie anual cosechada asciende a las 22000 hectáreas, obteniendo un rendimiento promedio de 4 Ton/ha a nivel nacional.

La Tabla 2 detalla la producción de yuca en Ecuador. Morona Santiago es la provincia con mayor superficie de siembra. Sin embargo, se observa un mayor rendimiento (7 ton/ha) en las provincias de Santo Domingo y Los Ríos (**Hinostroza et al., 2014**).

Tabla 2.

Superficie, producción y rendimiento del cultivo de yuca en Ecuador. Valores promedio durante los años 2000-2012.

Provincia	Superficie Sembrada (ha)	Superficie Cosechada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)
Morona Santiago	4.832 ,00	4.775 ,00	17.253,83	3,57
Cotopaxi	3.078,17	2.791,92	12.964,75	4 ,77
Santo Domingo	2.752,40	2.395,80	16.811,40	7,00
Manabí	2.261,33	1.967,92	4.872,83	2,62
Pichincha	1.816,67	1.773,00	9.714,58	4,99
Loja	1.630,50	1.591,00	7.765,92	4,33
Los Ríos	1.621,83	1.464,17	10.040,42	7,00
Pastaza	1.314,75	1.251,08	2.755,83	2,18
Zamora Chinchipe	1247,58	1130,83	4689,58	3,85
Esmeraldas	778,58	749,00	1540,92	2,24
Orellana	578,50	579,50	1287,25	2,27
Sucumbíos	283,25	268,67	473,00	1,78
El Oro	278,33	261,58	489,50	2,10

Guayas	264,33	225,25	581,75	2,82
Bolívar	199,40	199,40	139,17	0,84
Imbabura	167,33	161,75	366,42	2,43
Cañar	124,36	90,64	332,09	4,16
Azuay	89,75	68,38	101,58	2,10
Chimborazo	63,89	62,78	135,25	2,44
Santa Elena	56,33	41,00	92,60	2,35
Galápagos	44,00	41,00	55,00	1,34
Carchi	21,67	21,17	48,29	4,03
Tungurahua	14,00	12,00	22,00	1,83
Total Nacional	23.518,95	21.922,84	92.533,96	3,18*

Nota.*Valor Promedio Nacional

Tomado de *Cultivo de yuca en el Ecuador* (p. 4), por **Hinostroza et al., 2014. INIAP**

1.1.6.2. Composición nutricional

El contenido de agua de la raíz varía del 60,3% al 87,1%, mientras que los carbohidratos totales constituyen del 32% al 35% en peso fresco (FW) y del 80 al 90% en peso seco (DW). El contenido proteico se encuentra entre 1-2 % (FW). Finalmente, el contenido lipídico varía de 0,1% al 0,3% (FW) (**Bayata, 2019**).

1.1.7. Almidón de Yuca

Es un polisacárido proveniente de las raíces de yuca, es producido por la planta como una fuente de reserva de carbohidratos. El contenido de almidón se ve directamente influenciado por el genotipo de la planta (**Chisenga et al., 2019**).

Según **He et al., (2020)** el almidón de yuca contiene un 17% de amilosa y un 83% de amilopectina. El contenido de amilosa y el grado de polimerización son importantes para determinar las propiedades físico-químicas y funcionales del almidón de yuca (**Aristizábal & Sánchez, 2007**).

1.1.7.1. Estructura

El almidón de yuca es un biopolímero formado por dos polisacáridos, conocidos como amilosa y amilopectina (**Aristizábal & Sánchez, 2007**). Estas moléculas consisten de cadenas de D-glucosa unidas mediante residuos α -(1,4), que a su vez se encuentran interconectados mediante enlaces glucosídicos α -(1,6) (**Chisenga et al., 2019**).

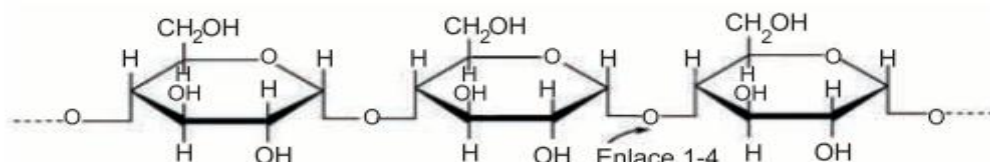
1.1.7.1.1. Amilosa

Es un polímero lineal o unión secuencial de moléculas de α -D-glucopiranosilo unidas por enlaces glucosídicos α -(1,4) (Figura 3) (**Aristizábal & Sánchez, 2007**). Generalmente se encuentran 1000 unidades de glucosa por molécula de amilosa

(Orosco, 2019). Los almidones ricos en amilosa conservan su forma cuando se gelifican, mientras que los almidones sin amilosa solo espesan, pero no llegan a gelificar (Charro, 2015).

Figura 3.

Esquema estructural de la molécula de amilosa.



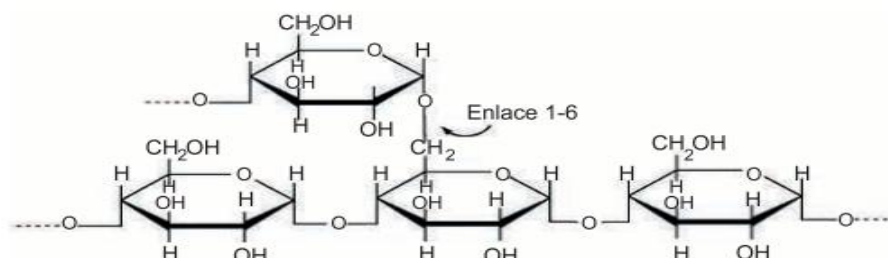
Tomado de *Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca* (p.33), por Aristizábal & Sánchez, 2007. Boletín de Servicios Agrícolas Fao

1.1.7.1.2. Amilopectina

Es un polímero ramificado conformado por cadenas lineales de glucosa unidas por enlaces glucosídicos α -(1,4) (Charro, 2015). A su vez estas cadenas están unidas mediante enlaces α -(1,6), los cuales establecen puntos de ramificación (Figura 4). Está constituida por alrededor de 10000 moléculas de glucosa (Aristizábal & Sánchez, 2007).

Figura 4.

Esquema estructural de la molécula de amilopectina.



Tomado de *Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca* (p.34), por Aristizábal & Sánchez, 2007. Boletín de Servicios Agrícolas Fao.

1.1.7.2. Propiedades Físicoquímicas

1.1.7.2.1. Composición Proximal

Las propiedades fisicoquímicas más importantes del almidón de yuca son la composición proximal dentro de la cual se analiza el porcentaje de cenizas, fibra cruda, humedad y amilosa. En la Tabla 3 se muestran los análisis proximales de tres variedades de yuca suministradas por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (Alvis et al., 2008).

Tabla 3.*Análisis proximal de diferentes variedades de almidón de yuca.*

Variedad de Almidón	Humedad (%)	Fibra (%)	Ceniza (%)	Amilosa (%)
ICA-C523-7	8,47	0,04	0,15	14,67
HCM-1	7,80	0,05	0,16	14,23
MBra 383	7,80	0,05	0,11	14,43
PROMEDIO	8,02	0,05	0,14	14,44

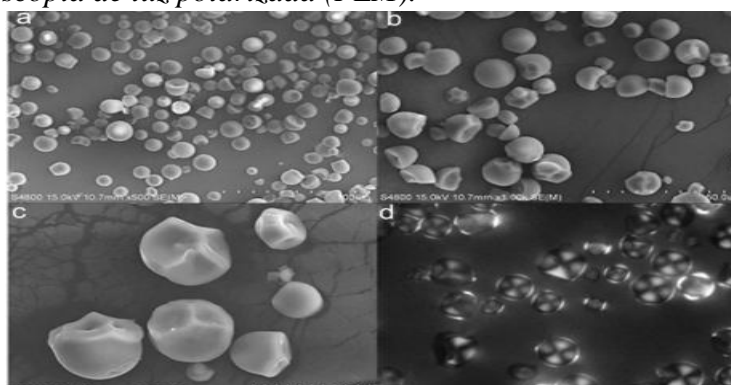
Tomado de *Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa y determinación de la viscosidad de las pastas* (p.22), por **Alvis et al., 2008**. Información Tecnológica-Vol 19.

1.1.7.2.2. Características del Gránulo de Almidón

El almidón de yuca presenta una forma ovalada y truncada, como se puede observar en la Figura 5 (**He et al., 2020**). En la Tabla 4 se presentan las principales características estructurales de los gránulos de un almidón comercial de yuca (**Chisenga et al., 2019**).

Figura 5.

Imágenes del gránulo de almidón de yuca obtenido mediante microscopía electrónica (SEM) y microscopía de luz polarizada (PLM).



Nota.(a) SEM 2000x;(b) SEM 1000X;(c) SEM 500x;(d)PLM.

Tomado de *Comparison of the structural characteristics and physicochemical properties of starches from sixteen cassava germplasms cultivated in China* (p. 698), por **He et al., 2020**. International Journal of Food Properties.

Tabla 4.*Propiedades estructurales de los gránulos de almidón de yuca.*

Propiedades	Almidón de Yuca
Forma	Ovalada, Truncada
Diámetro (µm)	2-30
Amilosa (Pm)	500-6000
Amilopectina (Pm)	$3 \times 10^5 - 3 \times 10^6$

Nota. Pm representa el peso molecular

Tomado de *Progress in research and applications of cassava flour and starch: a review* (p. 2803), por **Chisenga et al., 2019**. *Journal of Food Science and Technology*, 56(6).

1.1.7.2.3. Capacidad de Absorción de Agua

La capacidad de absorción de agua se encuentra estrechamente relacionada con el contenido de amilosa y amilopectina del gránulo de almidón. La presencia de grandes cantidades de amilosa reducirá la capacidad de absorción de agua del almidón (**Chisenga et al., 2019**). En el estudio realizado por **He et al., (2020)** tras analizarse 16 variantes de almidón de yuca se obtuvo un valor promedio de absorción de agua de 211,48%, demostrando así el gran poder de absorción de agua del almidón de yuca.

1.1.7.2.4. Solubilidad y Poder de Hinchamiento

Al calentar las moléculas de almidón en un medio acuoso provoca la disrupción de las estructuras cristalinas exponiendo el grupo hidroxilo de las cadenas de amilosa. La creación de puentes de hidrógeno genera que el almidón se solubilice y a su vez adquiera su poder de hinchamiento (**Aristizábal & Sánchez, 2007**). Como lo describe **Chisenga et al., (2019)** los valores más representativos de solubilidad e hinchamiento se obtienen en rangos de temperatura de 50-95 °C, como se puede observar en la Tabla 5.

Tabla 5.

Solubilidad y poder de Hinchamiento del almidón de yuca.

	Temperatura (°C)				
	50	60	70	80	90
Solubilidad (%)	1,1 - 90,9	1,2 - 90,7	2,1 - 90,7	2,4 - 96,4	3,4 - 95,9
Hinchamiento (g/g)	5,62 - 7,97	7,53 - 10,77	10,18 - 13,61	18,05 - 20,79	-

Nota. (-) Implica que no se ha encontrado información del valor.

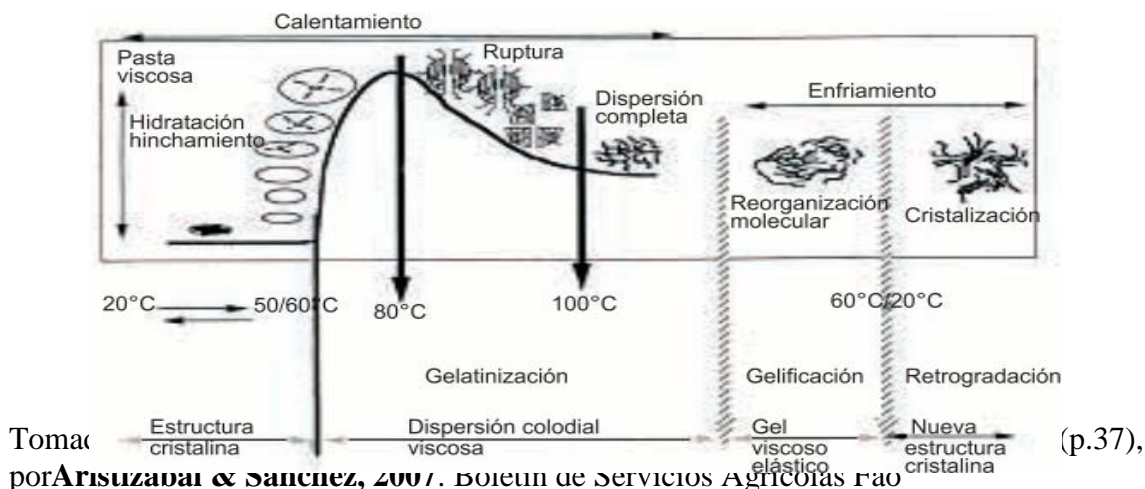
Tomado de *Progress in research and applications of cassava flour and starch: a review* (p. 2804), por **Chisenga et al., 2019**. *Journal of Food Science and Technology*, 56(6).

1.1.7.3. Propiedades Funcionales

Para comprender el potencial uso industrial del almidón de yuca es importante comprender sus propiedades funcionales. El proceso más común por el cual se somete al almidón es un tratamiento hidrótermico en este proceso se destacan 3 fases fundamentales: la gelatinización, gelificación y retrogradación, como se observa en la figura 6 (**Aristizábal & Sánchez, 2007**).

Figura 6.

Representación de los cambios que sufren de los gránulos de almidón de yuca durante el proceso hidrotérmico.



En la primera etapa el agua se difunde por el gránulo de almidón provocando un hinchamiento. La amilosa se solubilizará disrumiendo los enlaces de hidrogeno, en esta etapa el proceso es irreversible y se alcanza a una temperatura crítica conocida como temperatura de gelatinización (T_g) (Tabla 6) (**Chisenga et al., 2019**).

La gelificación se da en la etapa de enfriamiento aquí los gránulos se vuelven menos solubles y se agregan entre sí. En la retrogradación los gránulos se recristalizan para formar cristales de doble hélice. Este proceso se ve afectado por la concentración de amilosa y amilopectina, temperatura y pH (**Chisenga et al., 2019**).

Tabla 6.

Propiedades térmicas del almidón de yuca durante el proceso de gelatinización y retrogradación.

	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)
Gelatinización	63,9 – 69,1	68,9– 75,5	80,3 – 85,6
Retrogradación	48,5 – 52,1	54,7 – 59,7	61,6 – 65,1

Nota. T_o corresponde a la temperatura de inicio de la fase; T_p corresponde a la temperatura pico; T_c corresponde a la temperatura final que puede alcanzar el proceso.

Tomado de *Progress in research and applications of cassava flour and starch: a review* (p. 2806), por **Chisenga et al., 2019**. Journal of Food Science and Technology, 56(6).

1.1.8. Plastificantes

Los plastificantes se definen como sustancias con altos puntos de fusión que provocan cambios en las propiedades físicas, químicas y mecánicas del material al que son agregados (**Fontes et al., 2011**). Los plastificantes incrementan la flexibilidad de las cadenas de polímero, aumentando la resistencia mecánica y adhesividad de la película biodegradable (**Bergo & Sobral, 2007**).

Como se describe en la investigación realizada por **Charro, (2015)** los plastificantes más utilizados en la elaboración de películas biodegradables son el agua destilada, glicerol, sorbitol, alcohol polivinílico y polietilenglicol (PEG).

1.1.9. Coadyuvantes

Los coadyuvantes son sustancias que al ser agregadas a la formulación mejoran las propiedades físicas y mecánicas de los productos (**Zhu, 2021**). Los complejos de proteínas-polisacáridos exhiben una amplia gama de propiedades funcionales en la elaboración de películas, hidrogeles y macropartículas (**Asiyanbi et al., 2017**).

Rodriguez & Pilosof, (2011) describe que el complejo formado por gelatina y almidón exhibe un efecto sinérgico puesto que al polimerizarse forman puentes de hidrógeno y generan interacciones electroestáticas, hidrofóbicas entre sí, concibiendo así matrices altamente estables y con mayor resistencia mecánica.

1.1.10. Aditivos Funcionales

Los aditivos funcionales pueden ser sustancias fragantes, aditivos alimentarios, antioxidantes, reguladores de humedad y antimicrobianos (**Wyrwa & Barska, 2017**). Se destaca el uso de aceites esenciales (**Debiagi et al., 2014; Pelissari et al., 2009; Supardan et al., 2016**) y extractos de frutas (**Castro et al., 2017; C. O. Souza et al., 2011**) como aditivos funcionales en la elaboración de películas biodegradables.

1.1.10.1. Aceites esenciales

Los aceites esenciales se encuentran en forma de metabolitos secundarios en plantas aromáticas (**Romero Alcedo, 2018**). Son sustancias hidrofóbicas con propiedades antimicrobianas y antioxidantes, por lo cual, su uso se ha extendido como una alternativa a los productos químicos sintéticos (**Santana et al., 2012**). Los aceites esenciales presentan un amplio rango de inhibición contra bacterias Gram positivas y

negativas que causan enfermedades por contaminación alimentaria (**Hussain et al., 2011**).

1.1.10.1.1. Aceite esencial de Lavanda

El aceite esencial de lavanda (*Lavandula angustifolia Mill*) es un líquido transparente, incoloro con un olor característico, extraído por destilación de las flores de la planta (**Giovannini et al., 2016**). Presenta propiedades antimicrobianas, antivirales, antiinflamatorias y antioxidantes (**Insawang et al., 2019**). Según **Kwiatkowski et al., (2020)** se cree que el aceite de Lavanda influye en la estructura de la pared celular y membrana de las bacterias, generando un efecto inhibitorio.

1.1.11. Películas biodegradables

Una película biodegradable se define como una capa delgada elaborada con materiales que pueden ser consumidos (**Supardan et al., 2016**). Las películas biodegradables se pueden obtener a partir de polisacáridos, proteínas y lípidos (S. A. A. Mohamed et al., 2020). El almidón es el polímero más utilizado para la elaboración de cubiertas comestibles debido a su disponibilidad y bajo costo (**Ashwar et al., 2014; Medina et al., 2015; Zhu, 2021**). Las películas biodegradables pueden ser utilizadas como materiales de empaquetamientos puesto que crean barreras eficientes, tienen una gran fuerza mecánica, estabilidad microbiana, no son tóxicos, son simples de producir, además, no generan contaminación y son de bajo costo de producción (**Jeevahan & Govindaraj, 2017**).

1.1.11.1. Propiedades Físico-Químicas

Las características físico-químicas de las películas comestibles son importantes para asegurar que estas tengan la resistencia e integridad adecuada durante el transporte, manipulación y almacenamiento de los alimentos (**Galus & Kadzińska, 2016**).

1.1.11.1.1. Transparencia

Las películas formadas únicamente por almidón son incoloras y transparentes (**Eufrazio da Costa et al., 2020**). El añadido de coadyuvantes como la gelatina puede disminuir la transparencia del recubrimiento comestible (**Tongdeesoontorn et al., 2012**). Además, diversos estudios muestran que los aditivos funcionales agregados afectan la transparencia de la película (**Castro et al., 2017**). Mientras mayor sea la concentración de los aditivos añadidos mayor será la opacidad de la película (**Medina et al., 2015**).

1.1.11.1.2. Espesor

El espesor es un parámetro que influye directamente a la permeabilidad de la película, a medida que el espesor de la película biodegradable aumenta, la resistencia a la transferencia de masa se incrementa (**Guerrero-beltrán, 2013**).

1.1.11.1.3. Humedad

El contenido de humedad de la película biodegradable afecta directamente su resistencia (**Apriliyani et al., 2020**). Las películas formadas por almidón y gelatina presentan un alto contenido de humedad debido a que sus cadenas de polímeros son hidrófilas (**Asiyanbi et al., 2017**). Sin embargo, **Galus & Kadzińska, (2016)** expresa que un alto contenido de humedad en la cubierta la hace más susceptible al daño por parte de microorganismos.

1.1.11.1.4. Solubilidad

La solubilidad es la magnitud que indica el porcentaje de materia seca de la película solubilizada tras un período de tiempo (**Charro, 2015**). Esta propiedad determina la funcionalidad de la película, puesto que es deseable estas conserven su integridad en ambientes húmedos (**Bustamantes & Peralta, 2018**).

En el estudio realizado por **Tongdeesoontorn et al., (2012)** la solubilidad de películas formados por complejos de almidón y gelatina dependía de la concentración de gelatina. La solubilidad decrecerá mientras se aumente la concentración de gelatina, esto gracias a que los entrecruzamientos de las cadenas de polímero forman una matriz más estable.

1.1.11.1.5. Capacidad de Hinchamiento

La capacidad de hinchamiento representa la capacidad de la película de retener moléculas de agua en su estructura, incrementando su masa y volumen (**Apriliyani et al., 2020**). Los recubrimientos formados por complejos de polisacáridos-proteínas son capaces de retener moléculas de agua debido a sus grupos hidrófilos libres que forman enlaces hidrógeno entre la red de polímeros y el agua (**Tongdeesoontorn et al., 2012**). Las películas en contacto con el agua empiezan a suavizarse antes de hincharse y este proceso decrece cuando la película se empieza a solubilizar (**Galus & Kadzińska, 2016**).

1.1.11.1.6. Permeabilidad al Vapor de Agua

La ASTM E96, (1995) define a la permeabilidad al vapor del agua (WVP) como la velocidad de transmisión de vapor de agua por unidad de área del material. Guerrero-beltrán, (2013) describe que al aumentar la concentración del plastificante se incrementa proporcionalmente la permeabilidad al vapor de agua de las cubiertas biodegradables. Así mismo Tongdeesoontorn et al., (2012) indica que al añadir gelatina a la composición de la cubierta aumenta la permeabilidad de la misma.

La PVA es un parámetro importante ya que este demuestra la capacidad de la cubierta de permitir el intercambio de moléculas. Generalmente los polisacáridos no son buenas barreras puesto que presentan una naturaleza hidrofílica (Charro, 2015).

1.2.OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo General

Caracterizar y evaluar la actividad antimicrobiana de una cubierta biodegradable de almidón de yuca enriquecida con aceite esencial de Lavanda “*Lavandula angustifolia Mill*”.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Elaborar una cubierta biodegradable de almidón de yuca enriquecida con aceite esencial de Lavanda “*Lavandula angustifolia Mill*”.
2. Caracterizar las propiedades físicas de la cubierta biodegradable elaborada.
3. Determinar la actividad antimicrobiana de la cubierta biodegradable contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.1.1. Materiales

2.1.1.1. Material Microbiano

- Cepa de *Escherichia coli* (ATCC11229)
- Cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC13150)

2.1.1.2. Material de Laboratorio

- Reverbero
- Pipetas automáticas
- Asas de siembra
- Mechero Bunsen
- Vidrio de Reloj
- Balones de aforo (5, 10, 50, 100 ml)
- Probetas (10 y 50 ml)
- Vasos de precipitación (100 y 250 ml)

- Embudos de vidrio
- Placas de propileno
- Micropipeta de 100 a 1000 μ l
- Pipeta volumétrica de 10 y 25 ml
- Desecador
- Agitadores Magnéticos
- Papel Filtro
- Matraz Kitosato
- Placas Petri

2.1.2. Equipos de Laboratorio

- Balanza analítica
- Micrómetro
- Espectrofotómetro
- Horno
- Estufa de incubación
- Refrigeradora
- Microscopio
- Centrífuga
- Cámara de seguridad biológica
- Vortex
- Autoclave
- Plancha de Agitación
- Baño María Digital

2.1.3. Reactivos

- Almidón de Yuca (*Manihot esculenta Crantz*)
- Aceite Esencial de Lavanda (*Lavandula Angustifolia Mill*)
- Glicerol

- Gelatina
- Agua Destilada
- Estándar de Amilosa
- Estándar de Amilopectina
- Yodo
- Cloruro de Sodio (NaCl)
- Agar Mueller-Hinton
- Gentamicina
- Cloranfenicol
- Tetraciclina

2.2. METODOLOGÍA

2.2.1. Elaboración de la Cubierta Biodegradable

2.2.1.1. *Obtención de Materias Primas*

No se aplicó una metodología específica, ya que las materias primas (almidón, gelatina, aceite esencial) fueron adquiridas.

2.2.1.2. *Determinación de Amilosa y Amilopectina*

La determinación de la concentración de amilosa y amilopectina presente en el almidón de yuca se realizó siguiendo las directrices establecidas en la norma ISO 6647-1:2020 (**ISO 6647-1:2020, 2020**). Para la cual se tomaron 100 mg de muestra (almidón de yuca) y se colocaron en un matraz de 100 ml, posteriormente se añadió 1 ml de etanol y 9 ml de una solución de hidróxido de sodio (1 M). Se agitó suavemente la mezcla y se colocó en Baño María durante 10 minutos.

Se preparó una solución blanco siguiendo el mismo procedimiento mencionado anteriormente, pero reemplazando la muestra (almidón de yuca) por 5 ml de una solución de hidróxido de sodio (0,09 M).

A continuación, se prepararon soluciones patrón de amilosa de acuerdo a lo establecido en la norma ISO 6647-1:2020 (**Anexo E-1**).

Se pipetearon 5 ml de cada solución patrón de amilosa y se colocaron en matraces de 100 ml que contienen 50 ml de agua destilada, se añadió 1 ml de ácido acético. Posteriormente, se añadió 2 ml de solución saturada de yodo, se mezcló y dejó reposar

por 10 minutos. La absorbancia se midió a 620 nm contra la solución en blanco para obtener la curva de calibración de amilosa.

Finalmente, se pipeteo 5 ml de la solución de almidón de yuca y se repitió el método mencionado anteriormente, se midió la absorbancia de esta solución a 620 nm contra la solución en blanco. Los porcentajes de amilosa y amilopectina se obtuvieron mediante la gráfica obtenida (ISO 6647-1:2020, 2020).

2.2.1.3. Preparación de la cubierta biodegradable

La cubierta biodegradable se elaboró utilizando el método de fundición e intercalado. Se mezcló 5% p/v de almidón de yuca, 3% p/v de glicerol, 5% p/v de gelatina y diferentes volúmenes de agua destilada dependiendo de la concentración de aceite esencial. La solución se calentó a 96 °C durante 40 minutos manteniendo una agitación constante para asegurar la gelatinización del almidón. Posteriormente, se dejó enfriar la solución hasta una temperatura aproximada de 40 °C, inmediatamente se agregó el aceite esencial al 1%, 2,5%, 5% y 10% respectivamente. Posteriormente, el gel se desgasificó aplicando vacío durante 7 min y se vertió en placas de polipropileno, para finalmente secaren la incubadora a 45 °C por 48 horas (Medina et al., 2015, 2016).

Tabla 7.

Formulación de 100 ml de las soluciones filmogénicas enriquecidas con diversas concentraciones de aceite esencial.

Soluciones Filmogénicas	Almidón (g)	Gelatina (g)	Glicerol (g)	Agua Destilada (ml)	Aceite Esencial (ml)
Control	5,009	5,006	3,010	100	0
1% A.E	5,009	5,006	3,010	99	1
2,5% A.E	5,009	5,006	3,010	97,5	2,5
5% A.E	5,009	5,006	3,010	95	5
10% A.E	5,009	5,006	3,010	90	10

2.2.2. Caracterización de las Propiedades Físicas de la Cubierta Biodegradable

2.2.2.1. Espesor

Mediante el uso de un micrómetro se midió el espesor de cada una de las películas formuladas, para lo cual se seleccionaron 5 puntos distintos al azar de la película. Se registraron los valores y se obtuvo un valor promedio (Ashwar et al., 2015).

2.2.2.2. Contenido de humedad

El contenido de humedad de las películas biodegradables se determinó gravimétricamente. Por lo cual, se tomó una muestra de la película (20 mm x 20 mm), se pesó en una balanza analítica y se anotó el peso (M_0). Posteriormente se secó durante 24 h en un horno a 110 °C hasta obtener un peso constante (M_1). El contenido de humedad se realizó por triplicado para cada formulación de la película, se anotaron los valores y se obtuvo un valor promedio. El contenido de humedad se calculó mediante la siguiente ecuación (Thakur et al., 2016):

$$\%H = \frac{M_0 - M_1}{M_0} * 100$$

2.2.2.3. Solubilidad

Se tomaron muestras de la película (20 mm x 20 mm) se secaron a 105° C por 24 horas, y se pesaron para obtener el peso inicial (M_0). Posteriormente las muestras se sumergieron en un vaso de precipitación con agua destilada a un volumen de 50 ml. El vaso se selló con el fin de evitar la evaporación del contenido y el ingreso de polvo, se mantuvo a 25° C durante 24 h, con una agitación periódica de 30 rpm (Wang et al., 2017). Posteriormente, las muestras fueron recolectadas utilizando papel filtro (previamente secado a 105° C por 24 h), el papel filtro que contiene las muestras fue entonces secado en un horno a 80° C hasta que se obtuvo un peso constante (M_1). Las pruebas se realizaron por triplicado y cada valor de solubilidad se calculó de la siguiente manera (Tongdeesoontorn et al., 2012):

$$(\%) = \frac{M_0 - M_1}{M_0} * 100$$

2.2.2.4. Capacidad de Hinchamiento

Se tomaron muestras de las películas (40mm × 20mm), las cuales fueron secadas (60°C durante 24 h), pesadas (M_0) y sumergidas en un vaso de precipitación con un volumen de 50 ml de una solución 0,1 M de NaCl. El vaso fue sellado para evitar el ingreso de polvo y la evaporación del contenido. Las muestras fueron retiradas de la solución luego de 30 minutos y colocadas entre dos pedazos de papel filtro con el fin de remover el exceso de agua para proceder a pesar (M_1). Las pruebas se realizaron por triplicado y cada valor de capacidad de hinchamiento se calculó de la siguiente manera (Esteghlal et al., 2016):

$$\text{CH (\%)} = \frac{M_1 - M_0}{M_0} * 100$$

2.2.2.5. Permeabilidad al Vapor de Agua

Se determinó por gravimetría según el método estándar de la norma ASTM E95-E96 (ASTM, 1995), con modificaciones. Para lo cual se llenaron vasos de precipitación con 10 g de gel de sílice (0% RH1). Sucesivamente se cubrieron con una muestra de película acondicionada. El sistema se selló y colocó en un recipiente que contenía una solución saturada de NaCl (40 g de NaCl en 100 g de H₂O) (75% RH2), el sistema se mantuvo a 25° C. Las muestras se pesaron en intervalos de 1 h durante 8 h. La WVP se calculó usando la siguiente ecuación (Esteghlal et al., 2016; Pelissari et al., 2009):

$$\text{WVP} = \frac{WVTR * e}{P_0(RH_1 - RH_2)}$$

Donde la tasa de transmisión de vapor de agua (WVTR) es la pendiente de la curva de cambio de masa en función del tiempo (g/h), (e) es el espesor medio de la cubierta (mm), P_0 es la presión de vapor de saturación a 25° C y (RH1 – RH2) es la diferencia en la humedad relativa del gel de sílice (0%) y la solución de NaCl (0,75%).

2.2.3. Determinación de la Actividad antibacteriana de la cubierta contra *E. coli* y *S. aureus*

2.2.3.1. Preparación del inóculo bacteriano según escala McFarland

Se tomó 0,1 ml de la cepa de *E. coli* (ATCC 11229), y se inoculó en Agar Muller Hilton con un asa bacteriológica, se incubó a 37°C por 18-24 horas. Posteriormente, se tomaron de 3 a 4 colonias y se colocaron en suero fisiológico estéril, se homogenizó en vortex por 15-20 segundos, hasta que se ajustó el inóculo a una turbidez de 0,5 según la escala McFarland ($1,5 \times 10^8$ células/ml). Se repitió el proceso con la cepa de *S. aureus* (ATCC 13150) (Weintein et al., 2020).

2.2.3.2. Actividad antibacteriana de la cubierta comestible

Se utilizó el método de difusión en disco para determinar la actividad antimicrobiana de las formulaciones del recubrimiento comestible. Para el ensayo de difusión en disco se realizó la siembra de 0,1 ml del inóculo de cada cepa (*E. coli*, *S. aureus*) en placas de agar Mueller-Hinton (Debiagi et al., 2014).

Posteriormente, a partir de la película elaborada se cortaron discos de 6 mm de diámetro, a continuación, se colocaron sobre la superficie del agar con pinzas estériles (cuatro discos en cada placa). Como controles positivos se utilizaron discos de antibióticos de gentamicina (30 µg / disco). Como controles negativos se utilizaron discos de papel filtro estéril. A continuación, las placas se incubaron a $37 \pm 0,5$ °C durante 24 h. Al final de este período, se midió el diámetro de la zona alrededor del disco (halo) con un calibre y expresado en milímetros, incluido el diámetro del disco. Las pruebas se realizaron por triplicado para cada formulación de la película biodegradable (Debiagi et al., 2014; Pelissari et al., 2009).

La sensibilidad a los recubrimientos comestibles se clasificó atendiendo al diámetro de los halos de inhibición como se indica en Weintein et al., (2020), siendo estos: no sensible (-), para diámetros menores de 8 mm; sensible (+), para diámetros de 9–14 mm; muy sensible (++), para diámetros de 15 a 19 mm; extremadamente sensible (+++), para diámetros superiores a 20 mm.

2.2.4. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía y se compararon mediante el test de comparaciones múltiples Tukey a un nivel de

confianza del 95% ($\alpha = 0,05$). Los datos se procesaron con ayuda del software estadístico STATGRAPHICS.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de los resultados

3.1.1. Películas Comestibles

El almidón de yuca es un polímero a partir del cual se pueden generar películas biodegradables inoloras e incoloras, comparables visualmente a los plásticos tradicionales (Aristizábal & Sánchez, 2007). Varias investigaciones (da Silva et al., 2012; Medina Jaramillo et al., 2016; Navia Porras et al., 2019; Piñeros-hernandez et al., 2016; A. C. Souza et al., 2013) muestran la factibilidad del uso del almidón de yuca como principal biopolímero para la elaboración de películas y recubrimientos biodegradables.

La amilosa presente en el almidón de yuca juega un papel fundamental en el proceso de retrogradación, puesto que el grado de polimerización depende directamente del porcentaje de amilosa (Charro, 2015). El almidón de yuca utilizado en esta investigación presenta un 16,54% de amilosa (Anexo E-3) un valor comparable a estudios como (Aristizábal & Sánchez, 2007; He et al., 2020) en los cuales se expresa que el almidón de yuca presenta en promedio un 17% de amilosa. Esta característica

convierte al almidón de yuca en un candidato ideal para la elaboración de películas biodegradables, puesto que es capaz de generar una matriz polimérica gracias a que la amilosa forma enlaces de hidrógeno estables entre las cadenas del polímero, además **Chisenga et al., (2019)** reporta que la temperatura de gelatinización del almidón es más baja comparada a otros almidones, ayudando a reducir los costos energéticos en la elaboración de películas comestibles.

Las cubiertas degradables elaboradas a base de almidón de yuca tienden a ser frágiles y presentar parámetros físico-químicos por debajo de los estándares requeridos (**Castro et al., 2017**), la incorporación de un plastificante mejora las propiedades mecánicas de la película biodegradable. Las investigaciones de **Medina et al., (2015)** & **Tongdeesoontorn et al., (2012)** reportaron que la concentración óptima del plastificante en una cubierta biodegradable es del 3%, ya que aumenta la elongación y resistencia mecánica, sin afectar significativamente los parámetros físico-químicos como solubilidad, permeabilidad al vapor de agua, debido a su naturaleza hidrofílica.

Mohamed et al., (2020) presentó diversas formulaciones estudiadas para la elaboración de recubrimientos comestibles, destacando las formuladas a base de polisacáridos/proteínas. Por tanto, se introdujo a la gelatina como coadyuvante ya que mejora las características mecánicas de las películas y es un reactivo de bajo costo y fácil adquisición (**Esteghlal et al., 2016**). Según **Al-Hassan & Norziah, (2012)**, se debe optar por una concentración (1:1) entre la gelatina y el almidón, debido a que se genera una matriz polimérica altamente estable, en la cual interactúan los grupos hidroxilos (O-H) de la amilosa con los grupos amida (N-H) de las proteínas, formando fuertes interacciones moleculares. Sin embargo, **Tongdeesoontorn et al., (2012)** muestra que la gelatina puede aumentar la permeabilidad al vapor de agua de la película.

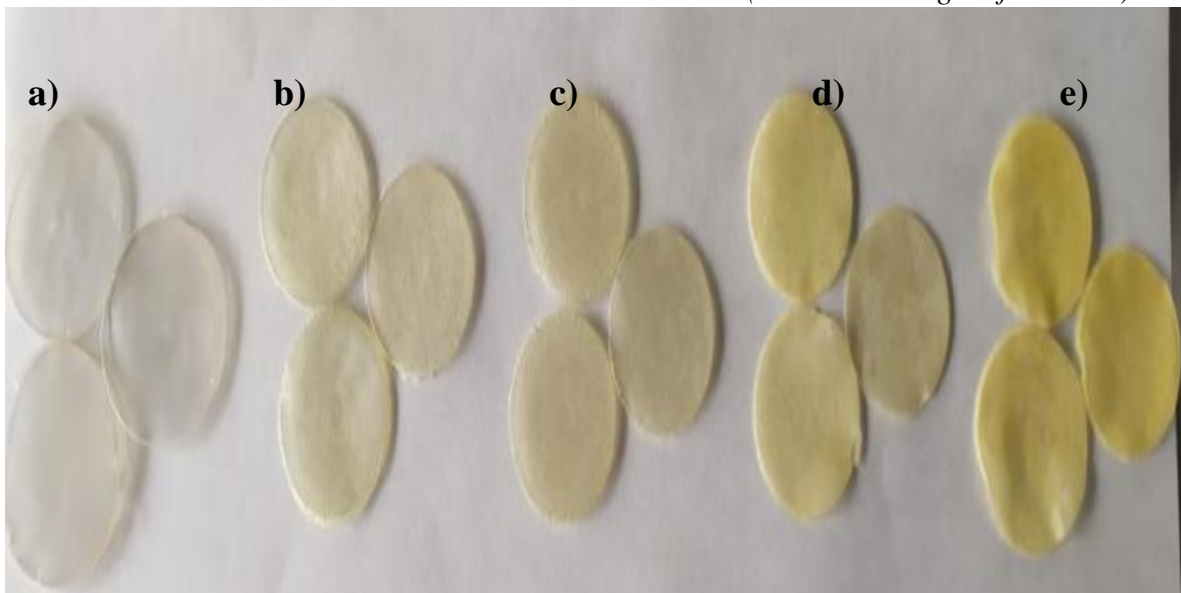
El aceite esencial de lavanda es ampliamente utilizado en la industria debido a que presenta varios componentes volátiles funcionales, lo cual, le confiere un gran espectro inhibitorio. La adición del aceite esencial de lavanda a la formulación le confiere a los recubrimientos barreras de protección antimicrobiana, a su vez, el carácter hidrofóbico del aceite ayuda a reducir las interacciones moleculares de la matriz polimérica con el agua (**Romeo et al., 2008; Santana et al., 2012**).

Al variar la concentración de aceite en las formulaciones se observa que a mayor concentración de aceite esencial los recubrimientos comestibles presentan una menor

transparencia y mayor opacidad, así como se observa en la **Tabla 8** y **Anexo D-5**, esta información se puede contrastar con la investigación de **Acosta et al., (2016)**, en la cualde igual forma la dispersión de la luz a través del recubrimiento comestible se ve afectado por la presencia del aceite esencial.

Figura 7.

*Recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con distintas concentraciones de aceite esencial de lavanda (*Lavandula Angustifolia* Mill).*









Nota:a) Recubrimientos sin incorporación de aceite esencial (Control); b) Recubrimientos incorporados con 1 % de aceite esencial; c) Recubrimientos incorporados con 2,5 % de aceite esencial; d) Recubrimientos incorporados con 5 % de aceite esencial; e) Recubrimientos incorporados con 10 % de aceite esencia.

Además, la incorporación gradual del aceite esencial contribuye a que existan irregularidades en la superficie de la película comparadas al control, esto lo ilustra **Supardan et al., (2016)**, que haciendo uso de AFM (Microscopía de Fuerza Atómica), demuestra que la superficie es más rugosa e irregular en las películas con las concentraciones más altas del aceite esencial.

En la **Figura 7** se observa que existe una progresión de cambio de color y apariencia de la película conforme incrementa la concentración del aceite esencial incorporado, en las películas realizadas en las investigaciones de **Medina et al., (2015)** y **Šuput et al., (2016)** se confirmó de igual forma que los extractos o aceites esenciales incorporados afectan las características visuales de los recubrimientos comestibles, esto debido a que los aceites esenciales presentan un color y olor característico.

Tabla 8.

Recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con distintas concentraciones de aceite esencial de lavanda (Lavandula Angustifolia Mill).

Concentración de Aceite Esencial	Recubrimientos Comestibles		
	R1	R2	R3
0% (Control)			
1 % A.E			



3.1.2. Caracterización de las películas

3.1.2.1. Espesor

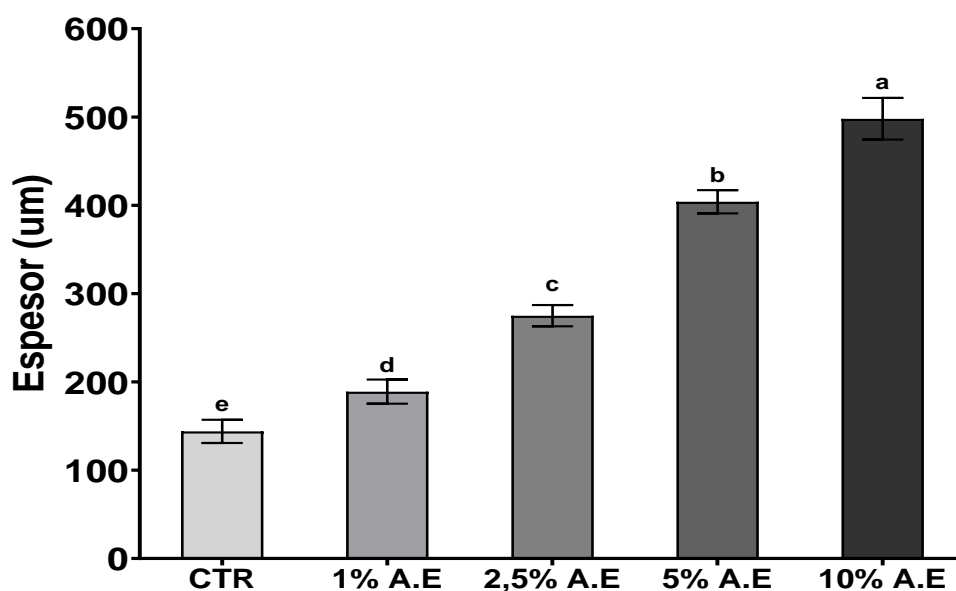
Las películas comestibles desarrolladas en esta investigación exhiben un espesor promedio de $144 \mu\text{m}$ como se puede observar en la **Tabla 9**, en el estudio realizado por **Tongdeesoontorn et al., (2012)** se realizaron diferentes formulaciones de películas comestibles con almidón de yuca y glicerol variando la concentración de gelatina, obteniéndose un rango de espesor de 120 a $160 \mu\text{m}$, demostrando así que el valor del espesor es el esperado para este tipo de formulaciones. Así mismo, diferentes publicaciones como **Pelissari et al., (2009)** y **Šuput et al., (2016)** en las que se utilizó almidón de yuca como principal polímero para la elaboración de películas comestibles presentaron valores de 200 a $240 \mu\text{m}$ y 101 a $111 \mu\text{m}$ respectivamente, reforzando el hecho de que se obtuvo un espesor promedio dentro de los rangos esperados.

La **Figura 8** muestra que el espesor tiende a incrementar conforme aumente la concentración del aceite esencial. De acuerdo a **Nugroho et al., (2013)** esto se debe a que los aceites esenciales aumentan los sólidos presentes en la solución. Por lo tanto, al

verter un mismo volumen de solución filmogénica en las placas, los sólidos provenientes del aceite esencial generarán un incremento en el espesor de la matriz polimérica una vez haya culminado el proceso de secado.

Figura 8.

Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre el espesor de los recubrimientos comestibles.



Nota: ^{a-e} Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre el espesor de los tratamientos ($P \leq 0.05$), de acuerdo a la ANOVA post hoc-HSD de Tukey.

Los resultados obtenidos en la **Tabla 9** se contrastan perfectamente con los datos derivados de la experimentación de **Resianingrum et al., (2016)**, los cuales presentan un espesor de $189 \mu m$ a una concentración de 1% de aceite esencial al igual que el valor promedio obtenido en esta investigación. Además, las investigaciones de **(Caetano et al., 2017; Desire et al., 2017; Šuput et al., 2016; Taqi et al., 2014)** muestran que la concentración del aceite esencial incrementa el espesor de las películas formuladas, respaldando los datos obtenidos en esta investigación.

Los espesores de las películas biodegradables presentan diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$), es decir que cualquier concentración igual o mayor a 1% de aceite esencial incrementará el espesor del recubrimiento comestible. En el estudio realizado por **Iamareerat et al., (2018)** se muestra como la incorporación de aceite esencial incrementa significativamente el espesor de la película, y las concentraciones de aceite esencial inferiores a 1% no exhiben diferencias significativas ($p < 0,05$) en el espesor en relación con el control.

Tabla 9.

Espesor de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda.

Concentración de Aceite Esencial	Réplicas	Espesor (μm)	Espesor Promedio (μm)
0% (Control)	R1	158	$144 \pm 13,12^c$
	R2	132	
	R3	142	
1 % A.E	R1	192	$189 \pm 13,74^d$
	R2	174	
	R3	200	
2,5 % A.E	R1	286	$275 \pm 12,06^c$
	R2	276	
	R3	262	
5% A.E	R1	390	$404 \pm 13,12^b$
	R2	406	
	R3	416	
10% A.E	R1	478	$498 \pm 23,58^a$
	R2	492	
	R3	524	

Nota: ^{a-c} Las letras diferentes en la misma columna indican que existe una diferencia significativa entre el espesor de los tratamientos ($P \leq 0.05$).

El espesor óptimo para los recubrimientos de alimentos debe ser de 0,25 mm (250 μm) o un valor inferior de acuerdo al **Japanese Standards Association (JIS), (2019)**, conforme a este parámetro los recubrimientos que entran dentro del estándar son los de 0% (control) y 1% de concentración de aceite esencial, el recubrimiento a una concentración de 2,5% puede ser considerado, si se vierte una menor solución filmogénica ya que se podría ajustar el valor a los estándares internacionales.

3.1.2.2. Humedad

Las películas desarrolladas presentan un rango de humedad que va de 16,97% a 22,72%. **Mustapa et al., (2017)** menciona que el contenido de humedad de películas biodegradables se encuentra en un rango de 16,48% a 23,96%, contrastando idealmente los resultados obtenidos en esta investigación.

Las películas control presentan una humedad de 19,638% un valor por debajo de estudios como **Caetano et al., (2017)** (28,1%) y **Medina et al., (2015)** (37,9 %). La reducción en el valor de la humedad comparado con los estudios mencionados previamente se puede deber a que la gelatina interactúa con las cadenas poliméricas del

almidón reduciendo los grupos hidroxilos libres, evitando así que la matriz polimérica interactúe con las moléculas de agua.

Sin embargo, los valores de humedad en este estudio se encuentran por encima de los obtenidos en investigaciones como **Indrianti et al., (2018)** (14,71%) y **Šuput et al., (2016)** (14,1%). **Bonilla et al., (2013)** presenta uno de los valores más bajos de humedad reportados para recubrimientos comestibles (8,4 %), esto debido a la incorporación de un polímero hidrofóbico (quitosano) como coadyuvante.

La humedad es un parámetro primordial a considerar, puesto que, altos porcentajes de humedad afectan la resistencia de los recubrimientos comestibles ocasionando que el contenido de agua de los alimentos aumente, reduciendo así la vida útil de los productos recubiertos. Además, el alto contenido de humedad puede propiciar el crecimiento microbiano (**Apriliyani et al., 2020**).

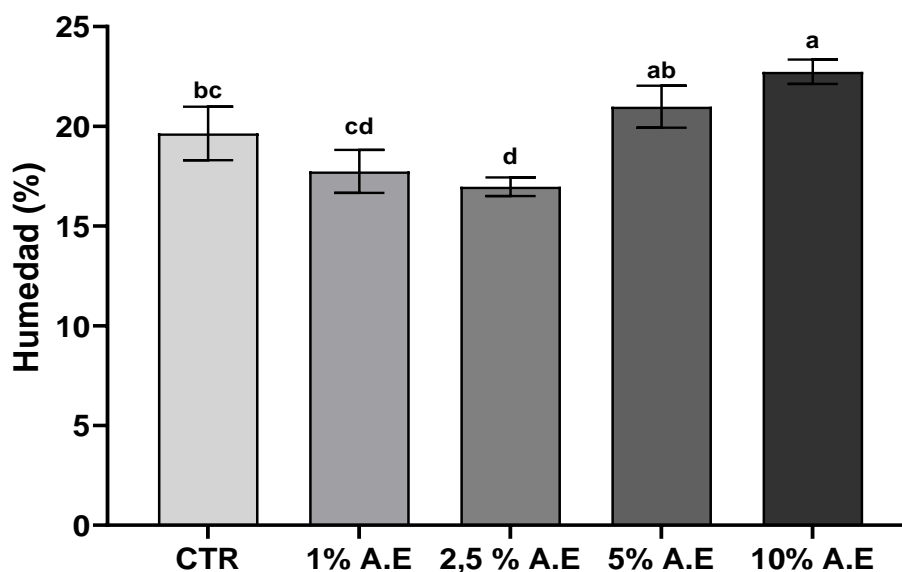
En la **Figura 9** se puede evidenciar que la humedad a diferencia de los otros parámetros físico-químicos analizados no sigue una tendencia lineal. Los análisis de varianza muestran que la película control no presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) con el tratamiento de 1% A.E y 5% A.E. Esto implica que la humedad alcanza su valor más bajo a una concentración de 2,5% de aceite esencial y su valor más alto a una concentración de 10% A.E.

Varias investigaciones sugieren que la incorporación de sustancias como extractos (**Medina et al., 2015; Riaz, et al., 2020**), esencias (**Moosavian et al., 2017**) y aceites esenciales (**Apriliyani et al., 2020; Šuput et al., 2016**) de plantas reducen gradualmente el porcentaje de humedad de las películas biodegradables, puesto que, estas sustancias incrementan la porción hidrofóbica de la matriz, reduciendo así la afinidad de las cadenas poliméricas por las moléculas de agua.

Como es esperado la humedad de las películas elaboradas decrece con la incorporación del aceite esencial de lavanda, no obstante, esta tendencia solo se observa hasta la concentración de 2,5% A.E (**Figura 9**). Estos valores se pueden comparar con estudios tales como **Galus & Kadzińska, (2016)** y **Šuput et al., (2016)** en los cuales la incorporación de aceite esencial reduce la humedad, pero, no se evidencia una diferencia significativa ($p < 0,05$).

Figura 9.

Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre la humedad de los recubrimientos comestibles.



Nota: ^{a-c} Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre el porcentaje de humedad de los tratamientos ($P \leq 0.05$), de acuerdo a la ANOVA post hoc-HSD de Tukey.

Como se reporta en la **Tabla 10** la concentración de 2,5% de aceite esencial provoca que la humedad disminuya significativamente ($p < 0,05$) en comparación al control. En la investigación de **Caetano et al., (2017)** la incorporación de 2% de aceite esencial provoca una reducción significativa ($p < 0,05$) de la humedad haciendo que esta pase de 28,1 % a 21,3 %, respaldando así los datos obtenidos en esta investigación.

Al contrario de lo esperado la concentración de 5% A.E y 10% A.E generan un aumento de la humedad en relación al control. Este comportamiento se puede evidenciar en el estudio de **Desire et al., (2017)** en el cual la adición de 10% de aceite esencial incrementa significativamente ($p < 0,01$) la humedad, provocando que esta pase de 16,57% a 24,34%. De igual forma la investigación de **Bharti et al., (2021)** demuestra que una alta concentración de aceite esencial (3%) puede aumentar la humedad de los recubrimientos comestibles.

El comportamiento de la humedad se puede deber a que altas concentraciones de aceite esencial provoca que la película aumente su espesor haciéndola más susceptible a que las moléculas de agua queden atrapadas dentro de la matriz polimérica (**Iamareerat et al., 2018**). Además, el aceite puede reducir la interacción entre las cadenas del almidón y la gelatina, dejando expuestos grupos hidroxilo libres (**Rojhan & Nouri, 2013**).

Tabla 10.

Porcentaje de Humedad de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda.

Concentración de Aceite Esencial	Réplicas	Humedad (%)	Humedad Promedio (%)
0% (Control)	R1	18,343	19,638 ± 1,341 ^{bc}
	R2	21,022	
	R3	19,549	
1 % A.E	R1	16,552	17,739 ± 1,076 ^{cd}
	R2	18,015	
	R3	18,649	
2,5 % A.E	R1	16,775	16,970 ± 0,465 ^d
	R2	16,634	
	R3	17,500	
5% A.E	R1	21,338	20,982 ± 1,052 ^{ab}
	R2	21,811	
	R3	19,798	
10% A.E	R1	22,296	22,731 ± 0,611 ^a
	R2	23,429	
	R3	22,467	

Nota: ^{a-d} Las letras diferentes en la misma columna indican que existe una diferencia significativa entre el porcentaje de humedad de los tratamientos ($P \leq 0.05$).

3.1.2.3. Solubilidad

La solubilidad de los recubrimientos comestibles es un parámetro importante a considerar ya que para su aplicación en la industria del empaquetamiento es necesario que presenten una baja solubilidad y alta resistencia al agua (**Guerrero-beltrán, 2013**). Las películas desarrolladas presentan una alta solubilidad (62,482%), en relación a otras investigaciones, este es el caso de **Ashwar et al., (2015)** en el cual las películas desarrolladas a base de almidón de arroz presentan una solubilidad de 23,91%. Por otro lado, **Medina et al., (2015)** desarrolló películas a base de almidón de yuca obteniendo una solubilidad de 35,2%.

El aumento de solubilidad de los recubrimientos comestibles se debe a la incorporación de gelatina en la formulación, puesto que esta es hidrofílica al igual que los otros componentes de la solución filmogénica (**Soares et al., 2005**).

Tongdeesoontorn et al., (2012), analiza en su investigación el efecto de la concentración de gelatina con respecto a la solubilidad, aquí se describe que la solubilidad decrece con el aumento de la gelatina, en esta investigación la solubilidad de

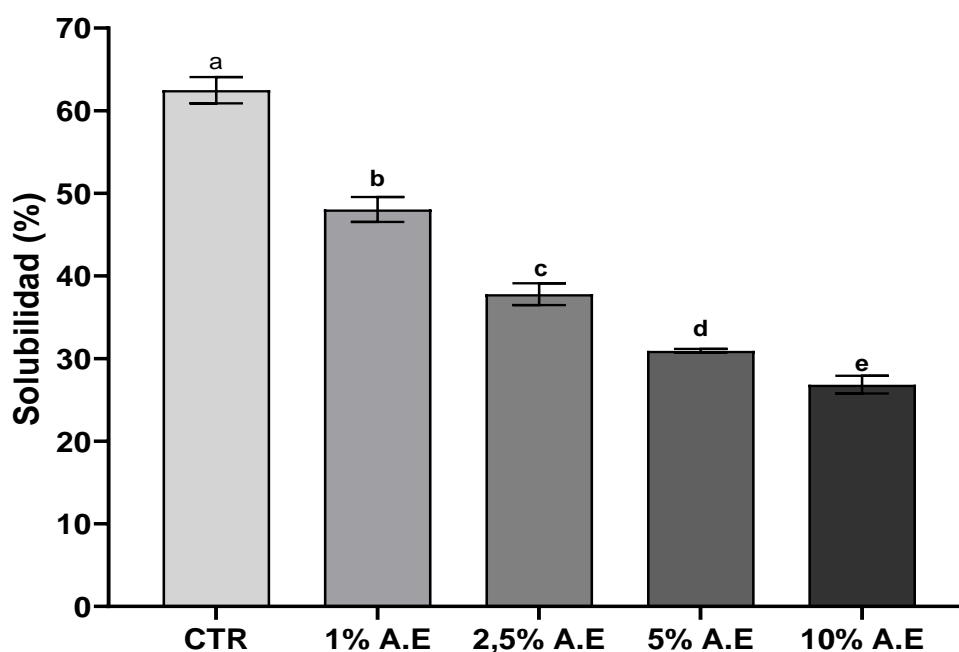
las películas que contienen 40% de gelatina presentan una solubilidad de 55%, este valor se aproxima al obtenido en nuestro estudio (62,482%).

La **figura 10** denota una tendencia de decrecimiento de la solubilidad conforme aumenta la concentración de aceite esencial de lavanda, como se puede observar existen diferencias significativas entre todos los tratamientos ($p < 0,05$), esto quiere decir que la solubilidad se verá afectada directamente conforme aumente la concentración del aceite esencial.

En la **Tabla 11** se pueden observar los valores porcentuales de la solubilidad, denotando que la solubilidad se reduce de 62,482% a 26,871% en la concentración de 10% de aceite esencial, evidenciando así, la gran influencia que tiene el aceite esencial sobre la solubilidad de las películas. Estos resultados son esperados y se pueden contrastar con investigaciones tales como **Moosavian et al., (2017)** en la cual la incorporación del aceite de menta reduce significativamente ($p < 0,05$) la solubilidad de las películas haciendo que estas pasen de tener una solubilidad de 32% en el control y 22% cuando se incorpora un 3% del aceite esencial. Además, esta tendencia se encuentra en investigaciones como **Galus & Kadzińska, (2016)** y **Jamróz et al., (2018)**.

Figura 10.

Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre el porcentaje de solubilidad de los recubrimientos comestibles.



Nota: ^{a-c} Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre el porcentaje de solubilidad de los tratamientos ($P \leq 0.05$), de acuerdo a la ANOVA post hoc-HSD de Tukey.

Medina et al., (2015) muestra que la incorporación de extractos de plantas reduce la solubilidad de las películas, pero no de forma significativa ($p < 0,05$). Adicionalmente, en la investigación de **Chiumarelli & Hubinger, (2014)** se muestra que la adición de ceras reduce la solubilidad de las películas biodegradables. Esto sugiere que al incorporar un elemento de naturaleza hidrofóbica a la formulación se reducirá la formación de interacciones moleculares entre la matriz polimérica y el agua.

No obstante, diversos estudios (**Bharti et al., 2021; Mehdizadeh et al., 2012; Rojhan & Nouri, 2013**) sugieren que la incorporación de aceite esencial aumenta la solubilidad de las películas, esto se puede deber a que el aceite puede reducir las interacciones entre las cadenas de polímeros. Sin embargo, la solubilidad de las películas desarrolladas en nuestra investigación se ve reducida con la incorporación del aceite esencial.

Como menciona **Moosavian et al., (2017)** el decrecimiento de la solubilidad se debe a la reducción de enlaces (O-H) libres ya que estos interactúan con las moléculas de agua. La matriz polimérica de almidón y gelatina presenta un decrecimiento significativo ($p < 0,05$) de su solubilidad con el aumento del aceite esencial de lavanda, esto debido a que la matriz es altamente estable y es capaz de retener los compuestos hidrofóbicos del aceite esencial, reduciendo así la disponibilidad de secciones hidrofílicas que interactúen con las moléculas de agua.

Tabla 11.

Porcentaje de solubilidad de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda.

Concentración de Aceite Esencial	Réplicas	Solubilidad (%)	Solubilidad Promedio (%)
0% (Control)	R1	60,697	62,482 ± 1,642 ^a
	R2	63,926	
	R3	62,824	
1 % A.E	R1	46,381	48,074 ± 1,506 ^b
	R2	48,573	
	R3	49,266	
2,5 % A.E	R1	38,991	37,825 ± 1,325 ^c
	R2	38,099	
	R3	36,384	
5% A.E	R1	30,739	30,936 ± 0,236 ^d
	R2	31,198	
	R3	30,871	

10% A.E	R1	25,986	26,871 ± 1,071 ^e
	R2	28,061	
	R3	26,565	

Nota: ^{a-e} Las letras diferentes en la misma columna indican que existe una diferencia significativa entre el porcentaje de solubilidad ($P \leq 0.05$).

3.1.2.4. Capacidad de Hinchamiento

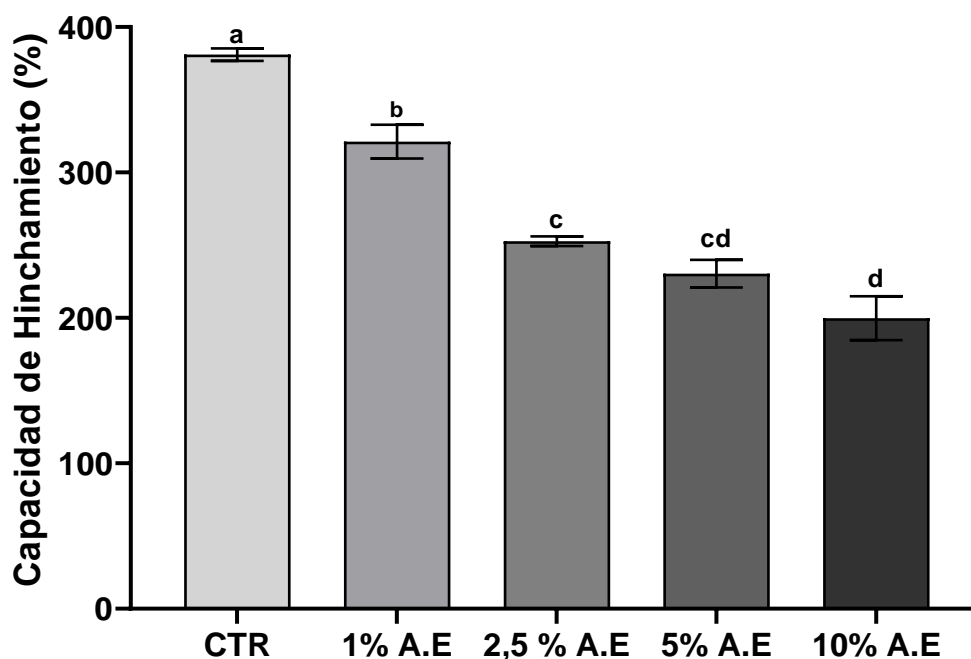
La capacidad de hinchamiento permite determinar la resistencia al agua que presenta la película lo cual es importante para su aplicación en el empaquetamiento de alimentos con elevado contenido de agua (**Galus & Kadzińska, 2016**). Es deseable que los valores de capacidad de hinchamiento se mantengan bajos, puesto que esto indica que la película no afectará su apariencia y su función protectora (**Apriliyani et al., 2020**). Las películas control desarrolladas en esta investigación presentan valores de 381,039% de hinchamiento, un valor alto comparado con las películas a base de almidón desarrolladas por **Šuput et al., (2016)** cuyo valor es de 231%. Sin embargo, el valor de capacidad de hinchamiento obtenido es comparable con la investigación de **Esteghlal et al., (2016)** que obtuvo una capacidad de hinchamiento de 314,16%, en películas elaboradas a base de gelatina.

La capacidad de hinchamiento depende en gran medida de los ingredientes utilizados para la formulación, puestos que los componentes hidrofílicos aumentan la afinidad de la matriz con las moléculas de agua **Daza et al., (2021)**. Al combinar gelatina y almidón como en esta investigación se espera que la capacidad de hinchamiento aumente debido a que ambos son compuestos altamente hidrofílicos y generan una matriz capaz de retener moléculas de agua debido a los grupos hidroxilo libres que pueden interactuar con el agua circundante (**Mohamed et al., 2017**).

Como se puede observar en la **Figura 11** la capacidad de hinchamiento presenta una tendencia a decrecer conforme aumenta la concentración del aceite esencial de acuerdo a **Kavoosi et al., (2013)** se espera que la adición de compuestos hidrofílicos aumenten la capacidad de hinchamiento, y la adición de compuestos hidrofóbicos como los aceites esenciales generen que la capacidad de hinchamiento de las películas biodegradables decrezca.

Figura 11.

Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre la capacidad de hinchamiento de los recubrimientos comestibles.



Nota:^{a-d} Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre la capacidad de hinchamiento de los tratamientos ($P \leq 0.05$), de acuerdo a la ANOVA post hoc-HSD de Tukey.

Los resultados obtenidos de la capacidad de hinchamiento y su tendencia a decrecer conforme se aumente la concentración del aceite esencial, se pueden contrastar con el estudio de Šuput et al., (2016), en el cual al agregar una concentración de 2% de aceite esencial de orégano la capacidad de hinchamiento paso de 231% (control) a 118%. De igual forma en el estudio de Kavooosi et al., (2013) se puede observar que la incorporación de timol (compuesto activo del aceite esencial del orégano) en películas elaboradas a base de gelatina reducen la capacidad de hinchamiento de las mismas pasando de 390% de capacidad de hinchamiento a 348% cuando se incorpora un 8% de timol a la formulación. Otras investigaciones como (Riaz, 2020a; Riaz, 2020b) respaldan el hecho de que la capacidad de hinchamiento se reduce gradualmente con la incorporación de sustancias hidrófobas. Como menciona Di Pierro et al., (2006) el grado de hinchamiento de una matriz polimérica depende fuertemente de la cantidad y la naturaleza de la interacción intermolecular de las cadenas de polímero.

No obstante, en investigaciones como (Bharti et al., 2021; Galus & Kadzińska, 2016) la incorporación de aceite esencial en la película biodegradable aumenta la capacidad de hinchamiento, sin embargo, este cambio no fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$).

Tabla 12.

Capacidad de Hinchamiento de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda.

Concentración de Aceite Esencial	Réplicas	Capacidad de Hinchamiento (%)	Capacidad de Hinchamiento Promedio (%)
0% (Control)	R1	383,599	381,039 ± 4,281 ^a
	R2	383,421	
	R3	376,097	
1 % A.E	R1	308,865	321,47 ± 11,673 ^b
	R2	331,904	
	R3	323,654	
2,5 % A.E	R1	256,061	252,80 ± 3,322 ^c
	R2	249,419	
	R3	252,910	
5% A.E	R1	241,448	230,66 ± 9,441 ^{cd}
	R2	226,600	
	R3	223,922	
10% A.E	R1	189,183	200,48 ± 15,035 ^d
	R2	194,713	
	R3	217,545	

Nota: ^{a-d} Las letras diferentes en la misma columna indican que existe una diferencia significativa entre la capacidad de hinchamiento de los tratamientos ($P \leq 0.05$).

En la **Tabla 12** se presentan los valores de capacidad de hinchamiento obtenidos denotando que existen diferencias significativas entre el control y los demás tratamientos ($p < 0,05$). Sin embargo, se observa que al incorporar 5% de aceite esencial (230,366 %) este no presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) con los tratamientos de 10% A.E y 2,5% A.E, mostrando así que la tendencia de decrecimiento de la capacidad de hinchamiento se vuelve constante mientras más se aumente el aceite esencial esto debido a que a pesar de incorporar un ingrediente hidrofóbico, las partes hidrofílicas y el espacio en la matriz polimérica siempre interactuarán con las moléculas de agua (**Mariniello et al., 2010**). La concentración óptima para reducir significativamente la capacidad de hinchamiento se obtiene a una concentración de 5% A.E, sin embargo, si se desea optimizar el uso de aceite esencial también sería considerado beneficioso utilizar la formulación de 2,5 % A.E, puesto que a esta concentración no se presenta diferencias significativas ($p < 0,05$) con la formulación de 5% A.E.

3.1.2.5. Tasa de Transmisión al Vapor de Agua (WVTR) y Permeabilidad al Vapor de Agua (WVP)

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) refleja la capacidad de los recubrimientos de controlar la transmisión del vapor de agua entre los alimentos y el ambiente. Generalmente, los recubrimientos a base de almidón presentan altos valores de WVP debido a su naturaleza hidrofílica y alta porosidad (**Valencia-Sulca et al., 2018**)

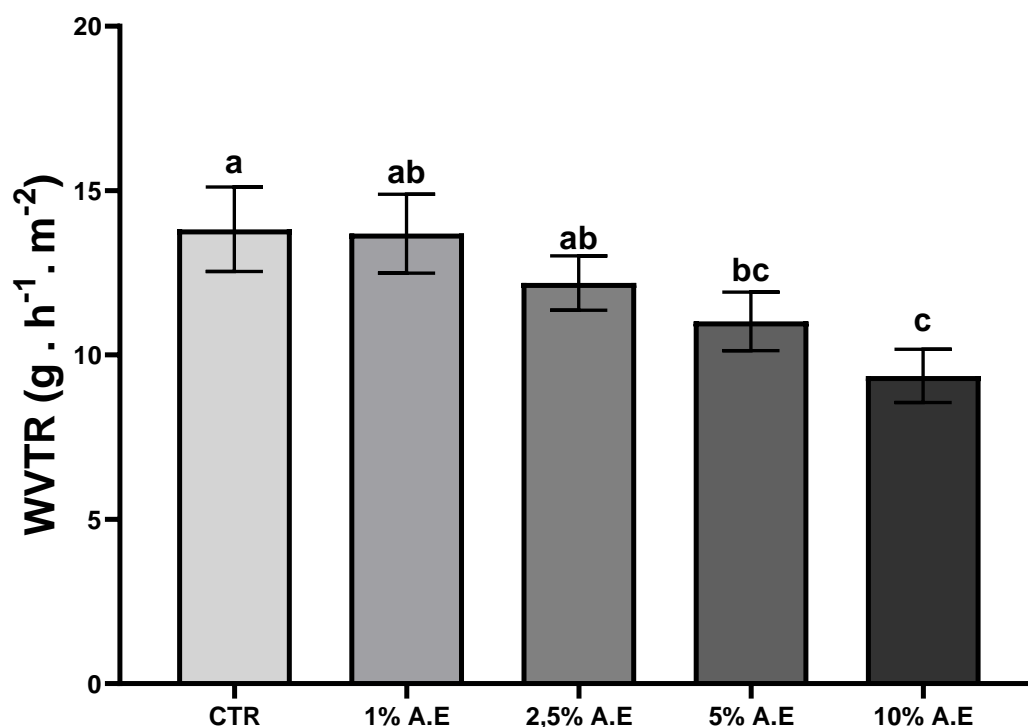
La Tasa de Transmisión del vapor del agua (WVTR) más alta que presentan las películas (13,823 g/m².h) corresponde al control, este valor es más alto comparado al estudio de(**Šuput et al., 2016**)en el cual las películas a base de almidón exhiben una WVTR de (8,58 g/m².h), el incremento de este valor se puede deber a la presencia de gelatina en la formulación puesto que esta aumenta la hidrofiliidad de las películas.

Como se puede observar en la **Figura 12** el aceite esencial reduce gradualmente la WVTR, sin embargo, las formulaciones de 1% A.E y 2,5% A.E no presentan una diferencia significativa (p<0,05) en comparación al control. La formulación 5% A.E igualmente no presenta diferencias significativas (p<0,05) al ser comparada con la de 2,5% A.E y 10% A.E. El valor más bajo de WVTR se obtiene a una concentración de 10% de A.E, no obstante, esta no presenta una diferencia significativa con la formulación de 5% A.E. Por lo tanto, la formulación ideal para reducir significativamente la WVTR es de 5% A.E.

Como se mencionó previamente la WVTR se reduce con la incorporación del aceite esencial, esto debido a que los aceites reducen las interacciones de las porciones hidrofílicas de la matriz, evocando, en que las películas capten menos moléculas de agua (**Medina et al., 2015**). Los resultados obtenidos en esta investigación se comparan con los presentados por**Bharti et al., (2021)**y**Šuput et al., (2016)**en los que el aumento del aceite esencial reduce la WVTR, pero, la disminución es significativa respecto al control a partir de la incorporación de 3% de aceite esencial. Los hallazgos de **Yanwong & Threepopnatkul, (2015)**, concuerdan con lo mencionado anteriormente, aquí, la WVTR se reduce de 2,71 g/m².h a 2,49 g/m².h al incorporar un 10 % de aceite de menta, demostrando así que la incorporación de altas cantidades de aceite esencial reduce la WVTR pero no abruptamente.

Figura 12.

Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre la tasa de transmisión del vapor de agua (WVTR) de los recubrimientos comestibles.



Nota:^{a-c} Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre la capacidad de hinchamiento de los tratamientos ($P \leq 0.05$), de acuerdo a la ANOVA post hoc-HSD de Tukey.

En la **Tabla 13** se puede observar los valores de la permeabilidad al Vapor de Agua de las películas biodegradables (WVP), donde el valor más bajo de WVP se obtuvo en la película control con $8,344 \times 10^{-6} \text{ g.mm.h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}.\text{m}^{-2}$, sin embargo, este valor es más bajo que los reportados en las investigaciones de **Acosta et al., (2016)** con $5,9 \times 10^{-3} \text{ g.mm.h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}.\text{m}^{-2}$ y **Acosta et al., (2015)** con $5,3 \times 10^{-3} \text{ g.mm.h}^{-1}.\text{Pa}^{-1}.\text{m}^{-2}$, quienes desarrollaron películas a base de almidón y gelatina. Esto demuestra que las películas formuladas en esta investigación presentan un mayor entrecruzamiento de las cadenas de polímeros y una menor porosidad, lo que provoca una menor permeabilidad al Vapor de Agua, demostrando resultados prometedores.

Tabla 13.

Transmisión del Vapor de Agua (WVTR) y Permeabilidad al vapor de Agua (WVP) de los recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y gelatina incorporados con aceite esencial de lavanda.

Concentración de Aceite Esencial	Réplicas	WVTR (g.h ⁻¹ .m ⁻²)	WVTR Promedio (g.h ⁻¹ .m ⁻²)	WVP (g.mm.h ⁻¹ .Pa ⁻¹ .cm ⁻²) x 10 ⁻⁶	WVP Promedio (g.mm.h ⁻¹ .Pa ⁻¹ .m ⁻²) x 10 ⁻⁶
0% (Control)	R1	12,719	13,823± 1,287 ^a	8,444	8,344± 0,803 ^c
	R2	13,514		7,496	
	R3	15,236		9,091	

1 % A.E	R1	13,514		10,903	10,809± 0,201 ^{bc}
	R2	14,971	13,69± 1,202 ^{ab}	10,946	
	R3	12,586		10,578	
2,5 % A.E	R1	11,526		13,852	14,040± 0,346 ^b
	R2	11,924	12,189± 0,827 ^{ab}	13,829	
	R3	13,116		14,440	
5% A.E	R1	10,996		18,021	18,726± 1,868 ^a
	R2	10,148	11,023± 0,889 ^{bc}	17,314	
	R3	11,924		20,844	
10% A.E	R1	8,479		17,031	19,641± 2,571 ^a
	R2	9,539	9,362± 0,809 ^c	19,721	
	R3	10,069		22,171	

Nota:^{a-c} Las letras diferentes en la misma columna indican que existe una diferencia significativa entre la WVTR y WVP de los tratamientos ($P \leq 0.05$).

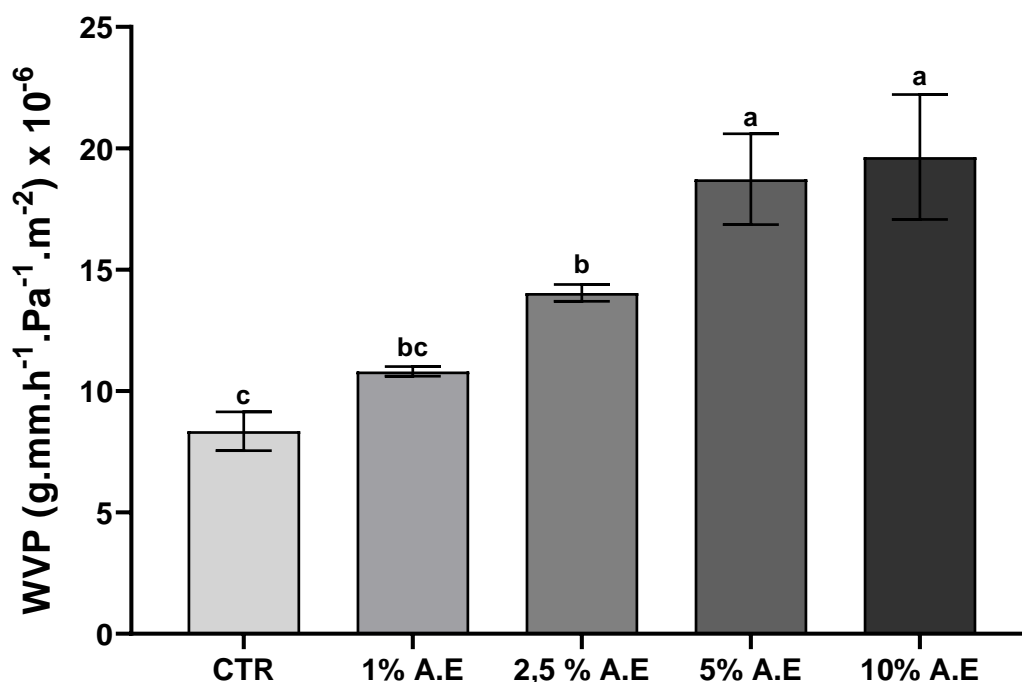
Diversos estudios como (**Desire et al., 2017; Iamareerat et al., 2018; Taqi et al., 2014**) muestran que la incorporación de aceites esenciales en efecto debería reducir gradualmente la WVP debido a que estos reducen la interacción de los grupos libres de las cadenas de polímeros. A diferencia de lo esperado la **Figura 13** muestra que la permeabilidad al vapor de agua (WVP) aumenta con la concentración gradual del aceite esencial, esta tendencia igualmente se puede observar en investigaciones como **Caetano et al., (2017); Valencia-Sullca et al., (2018); Zhou et al., (2021)**.

Según **Acosta et al., (2016)** el proceso de transmisión del vapor de agua depende del balance de las interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas de la matriz, así como su microestructura. El espesor afecta directamente la permeabilidad al vapor de agua, las películas con mayor concentración de aceite esencial exhiben un mayor espesor lo que aumenta significativamente la WVP. Además, como expresa **Maizura et al., (2007)** la incorporación de aceite esencial influye en la estructura del film, incrementando la porosidad y aumentando la probabilidad de que se presenten microfracturas que permiten una mayor difusión de vapor de agua.

La **Tabla 13** además muestra que únicamente la formulación 1% A.E no presenta una diferencia significativa ($p < 0,05$) con el control, demostrando así que una incorporación igual o superior a 2,5% de aceite esencial genera que la WVP incremente significativamente ($p < 0,05$). Los valores más altos de WVP se obtiene en las formulaciones de 5% A.E y 10% A.E, a pesar de que estas no presenten diferencias significativas entre sí ($p < 0,05$). La formulación de 2,5% A.E es la más óptima puesto que la WVP no aumenta drásticamente en comparación al control.

Figura 13.

Efecto de la concentración de aceite esencial en la formulación sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de los recubrimientos comestibles.



Nota:^{a-c} Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre la WVTR y WVP de los tratamientos ($P \leq 0.05$), de acuerdo a la ANOVA post hoc-HSD de Tukey.

3.1.3. Actividad Antimicrobiana

La actividad antimicrobiana es un parámetro de suma relevancia para la conservación de alimentos durante la cadena de transporte. Los aceites esenciales por naturaleza presentan actividad antimicrobiana frente a diversas cepas patogénicas (**Romeo et al., 2008**). El aceite de lavanda presenta principalmente alcoholes terpénicos entre los cuales se destaca el linalool y linalil acetato (**Cavanagh & Wilkinson, 2005**). El aceite de lavanda utilizado en la investigación está compuesto por: linalool (31,77%), linalil acetato (28,60 %), canfora (8,30 %), 1,8 cineolo (6,57 %), los compuestos terpénicos del aceite utilizado son menores a los presentados en la investigación de **Kwiatkowski et al., (2020)**, el cual presentó valores de 34,1% para linalool y 33,3 % para linalil acetato

Para el control positivo se utilizó discos de gentamicina puesto que presentaron los mejores resultados *in-vitro*. Como se puede observar en la **Tabla 14** se obtuvieron valores de 21,33 mm para *E. coli* (ATCC 11229) y 23,67 mm para *S. aureus*(ATCC

13150), estos valores son comparables a los obtenidos por **Shama et al., (2011)** en los cuales se observaron halos de inhibición de 20mm para *E. coli* y 24 mm para *S. aureus* al utilizar discos de gentamicina.

La **Tabla 14** muestra los halos de inhibición exhibidos por las películas biodegradables frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 11229) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 13150), como se puede observar el control y la formulación de 1% A.E no muestran actividad antimicrobiana, varios estudios como (**Debiagi et al., 2014; Oriani et al., 2014**), muestran que a bajas concentraciones de aceite esencial no se presenta actividad antimicrobiana.

A concentraciones superiores a 2,5% A.E se observa un halo de inhibición representativo, además, se destaca que la concentración de aceite esencial influye directamente sobre los halos de inhibición puesto que a mayor concentración de aceite esencial de lavanda se obtienen mayores halos de inhibición. En la publicación de **Jamróz et al., (2018)** a una concentración de 6% aceite esencial de lavanda se obtuvieron halos de 15,1 mm y 24,5 mm para *E. coli* y *S. aureus* respectivamente. En esta investigación el máximo valor de inhibición se presenta a una concentración de 10% A.E con valores de 11,33 mm (*E. coli* ATCC 11229) y 15,50 mm (*S. aureus* ATCC 13150). Los halos de inhibición obtenidos, son inferiores comparados a los presentados por **Jamróz et al., (2018)**, esto se puede deber a la procedencia del aceite esencial, la composición y pureza del mismo.

Tabla 14.

Halos de inhibición exhibidos por los recubrimientos comestibles enriquecidos con aceite esencial de Lavanda.

Concentración de Aceite Esencial	Réplicas	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
		Halo de Inhibición (mm)	Halo de Inhibición Promedio (mm)	Halo de Inhibición (mm)	Halo de Inhibición Promedio (mm)
0% (Control)	R1	6 (-)	6± 0 ^c	6 (-)	6 ^e
	R2	6 (-)		6 (-)	
	R3	6 (-)		6 (-)	
1 % A.E	R1	6 (-)	6,33± 0,57 ^c	7 (-)	6,67± 0,57 ^{de}
	R2	7 (-)		7 (-)	
	R3	6 (-)		6 (-)	
2,5 % A.E	R1	9 (+)	8,67 ± 1,53 ^{bc}	9 (+)	9,67± 1,16 ^{cd}
	R2	7 (-)		9 (+)	
	R3	10 (+)		11 (+)	
5% A.E	R1	10 (+)	10,33 ± 1,53 ^b	10 (+)	10,67± 1,16 ^c
	R2	9 (+)		12 (+)	

	R3	12	(+)		10	(+)	
	R1	10	(+)		15	(++)	
10% A.E	R2	11	(+)	$11,33 \pm 1,53^b$	14	(+)	$15,50 \pm 1,53^b$
	R3	13	(+)	(+)	17	(++)	(++)
Control	R1	21	(+++)		24	(+++)	
Positivo	R2	22	(+++)	$21,33 \pm 0,57^a$	25	(+++)	$23,67 \pm 1,53^a$
(Gentamicina)	R3	21	(+++)	(+++)	22	(+++)	(+++)

Nota:^{a-c} Las letras diferentes en la misma columna indican que existe una diferencia significativa los halos de exhibidos de los tratamientos ($P \leq 0.05$). Los símbolos representan no sensible (-), para diámetros menores de 8 mm; sensible (+), para diámetros de 9–14 mm; muy sensible (++) , para diámetros de 15 a 19 mm; extremadamente sensible (+++), para diámetros superiores a 20 mm.

En investigaciones en las cuales se usó diferentes tipos de aceite esencial, presentó una mayor actividad antimicrobiana. **Cruz-Tirado et al., (2020)** presenta halos de inhibición de 46,3 mm para *S. aureus* y 40,4 mm para *E. coli*, al utilizar aceite esencial de orégano a 10%. Otras investigaciones como **Maizura et al., (2007)** presenta halos de inhibición contra *E. coli* de 94,9mm al utilizar aceite de lemongrass; en la investigación de **Bharti et al., (2021)** en la cual se utilizó aceite esencial de *Carum carvise* exhiben halos de 26,3 mm para *S. aureus* y 10,33mm para *E. coli*. Los datos presentados anteriormente demuestran que a pesar de presentar actividad antimicrobiana el efecto del aceite esencial de lavanda no es tan potente comparado con el de otras plantas aromáticas.

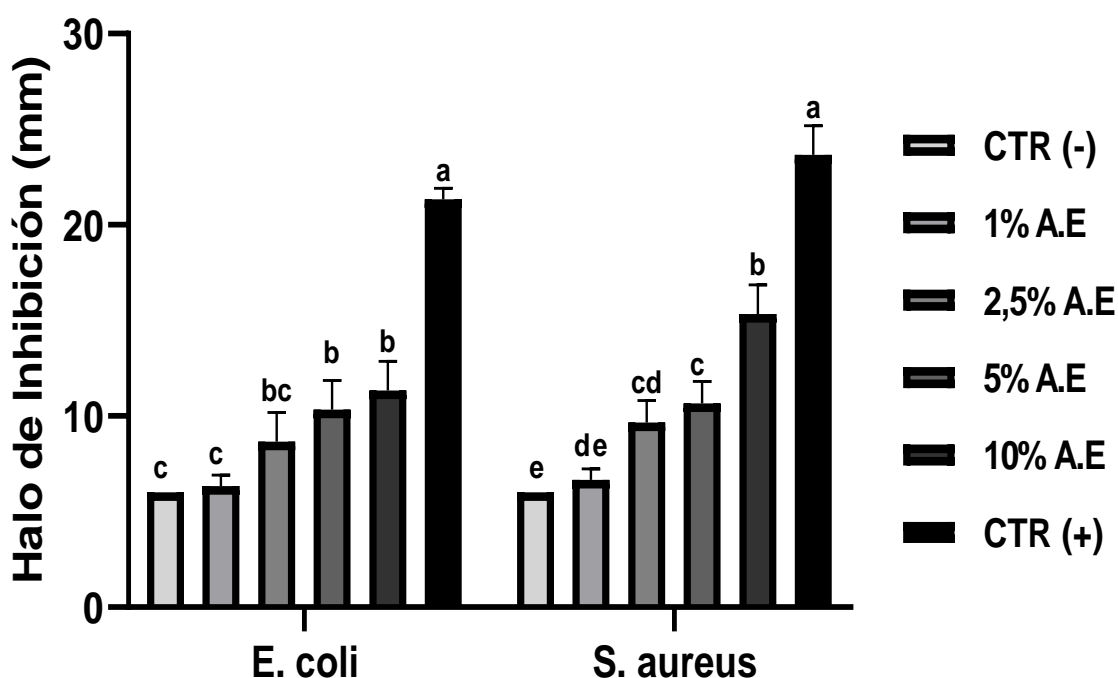
La **Figura 14** muestra una comparativa entre el efecto inhibitorio que presentan las películas sobre las cepas de *E. coli* (ATCC 11229) y *S. aureus* (ATCC 13150), como se puede observar la cepa de *S. aureus* (ATCC 13150) presenta una mayor sensibilidad a las formulaciones con mayor concentración de aceite de lavanda, esta tendencia se puede observar en investigaciones como **Bharti et al., (2021); Cruz-Tirado et al., (2020); Debiagi et al., (2014); Pelissari et al., (2009); Predoi et al., (2018)**, en las cuales los halos de inhibición de *E. coli* son inferiores a los de *S. aureus*. Esto sucede ya que los ácidos lipoteicoicos en la membrana celular de las bacterias gram positivas (*S. aureus*) pueden ayudar a la penetración de los componentes hidrofóbicos de los aceites esenciales, mientras que la doble membrana de las bacterias gram negativas (*E. coli*) limita la velocidad de difusión de los compuestos hidrofóbicos a través de la capa de lipopolisacáridos (**Jamróz et al., 2018**).

En la **Figura 14** además se puede observar las diferencias significativas entre los halos de inhibición en el caso de *E. coli* (ATCC 11229) las concentraciones de 2,5 A.E, 5 % A.E y 10% A.E no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sí, pero si difieren

tanto del control negativo como positivo. Por otra parte, en el caso de *S. aureus*(ATCC 13150) la concentración de 2,5% A.E no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) de las concentraciones de 1% A.E y 5% A.E. Sin embargo, la concentración de 10% A.E difiere significativamente de todas las concentraciones ($p < 0,05$) convirtiéndola en la mejor concentración para la inhibición microbiana.

Figura 14.

Efecto de la concentración del aceite esencial de Lavanda sobre los halos de inhibición que presentan los recubrimientos comestibles.



Nota:^{a-e} Las letras diferentes indican que existe una diferencia significativa entre la WVTR y WVP de los tratamientos ($P \leq 0.05$), de acuerdo a la ANOVA post hoc-HSD de Tukey.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- Se logró obtener un biopolímero activo a base de almidón de yuca y gelatina enriquecido con diferentes concentraciones de aceite esencial de Lavanda “*Lavandula angustifolia Mill*”; las diferentes formulaciones desarrolladas exhiben características físico-químicas prometedoras y presentan una actividad antimicrobiana contra los patógenos *E.coli* y *S.aureus*, volviendo a las películas

biodegradables formuladas una alternativa al uso de plástico convencional en las cadenas de transporte de alimentos.

- Las películas biodegradables presentan un espesor óptimo en las formulaciones control con un valor de $144 \pm 13,12 \mu m$ y 1% A.E con un valor de $189 \pm 13,74 \mu m$, puestos que estas se encuentran dentro de los rangos establecidos por la norma internacional JIS la cual dictamina que el espesor de las películas biodegradables no debe exceder los 0,25 mm o $250 \mu m$.
- El porcentaje de humedad permite dictaminar si la película puede recubrir alimentos sin afectar sus propiedades; además se espera que la humedad sea baja para evitar el crecimiento microbiano. El valor más bajo de humedad se obtuvo en las películas de 2,5% A.E con un valor $16,970 \pm 0,465 \%$, en este punto no es recomendable usar concentraciones superiores a 2,5 % de aceite esencial, puesto que a partir de esta concentración la humedad de las películas incrementa.
- El valor de solubilidad permite determinar si las películas son resistentes frente al deterioro ocasionado por el contacto con el agua; por lo cual mientras más bajos sean los valores de solubilidad la película presentará una mayor resistencia a entornos húmedos. El valor óptimo de solubilidad se obtuvo en la formulación de 10% A.E con $26,871 \pm 1,071 \%$, puesto este es el más bajo en comparación a las otras formulaciones desarrolladas.
- La capacidad de hinchamiento más factible se presentó en las películas de 2,5 % A.E con un valor de $252,80 \pm 3,322\%$ y 5% A.E con $230,66 \pm 9,441\%$, puesto que se busca que las películas no presenten altos valores de capacidad de hinchamiento para propiciar que estas mantengan sus propiedades y actúen como barreras aún en entornos con abundante agua circundante. Se puede optar por las dos concentraciones para reducir significativamente la capacidad de hinchamiento, sin embargo, la formulación de 2,5% A.E permitirá optimizar el uso del aceite esencial.

- La mejor Tasa de Transmisión del Vapor de Agua (WVTR) se obtuvo a una concentración de 10% A.E con un valor de $9,362 \pm 0,809 \text{ (g.h}^{-1}\text{.m}^{-2}\text{)}$ y la mejor permeabilidad al vapor de agua (WVP) la exhiben las películas control con $8,344 \pm 0,803 \times 10^{-6} \text{ g.mm.h}^{-1}\text{.Pa}^{-1}\text{.m}^{-2}$, pero si se desea conferirles propiedades antimicrobianas, la mejor formulación es la de 2,5% A.E con un valor de $14,040 \pm 0,346 \times 10^{-6} \text{ g.mm.h}^{-1}\text{.Pa}^{-1}\text{.m}^{-2}$. En este caso se propicia que las WVTR y WVP sean lo más bajas posibles para evitar la transferencia de gases entre los alimentos y el entorno.
- Las películas biodegradables incorporadas con aceite esencial de lavanda presentan halos de inhibición a partir de una concentración de 2,5% A.E, no obstante, las películas con 10% A.E exhiben la mayor inhibición microbiana frente a *Escherichia coli* (ATCC 11229) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 13150) con valores de $11,33 \pm 1,53 \text{ mm}$ y $15,50 \pm 1,53 \text{ mm}$ respectivamente, demostrando así la acción antimicrobiana de las películas biodegradables elaboradas.

4.2. RECOMENDACIONES

- Examinar la estructura de las películas biodegradables elaboradas mediante microscopía electrónica, para establecer una relación entre las propiedades físico-químicas obtenidas y la microestructura de las películas.
- Realizar estudios enfocados en el uso de almidones fermentados en la formulación de películas biodegradables, puesto que estos pueden ayudar a

mejorar las propiedades físico-químicas de las películas, confiriéndoles a su vez una mayor resistencia al agua.

- A partir de esta investigación establecer protocolos para el escalado industrial, haciendo uso de tecnologías conocidas como la extrusión y termoprensado.
- Analizar la aplicación de las películas formuladas en alimentos o frutas de interés a nivel nacional, con el fin de brindar una alternativa para la reducción del plástico convencional.
- Comparar las propiedades de las películas al aplicar moldeo de monocapa y bicapa, para verificar cual método es el más óptimo para la realización de películas biodegradables enriquecidas con aceites esenciales.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-shafy, H. I., & Mansour, M. S. M. (2018). Solid waste issue: Sources , composition , disposal , recycling , and valorization. *Egyptian Journal of Petroleum*. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2018.07.003>
- Acosta, S., Chiralt, A., Santamarina, P., Rosello, J., González-Martínez, C., & Cháfer, M. (2016). Antifungal films based on starch-gelatin blend, containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, *61*, 233–240.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.008>

- Acosta, S., Jiménez, A., Cháfer, M., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2015). Physical properties and stability of starch-gelatin based films as affected by the addition of esters of fatty acids. *Food Hydrocolloids*, 49, 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.015>
- Aguilar, R., Valiente, Y., Oliver, D., Franco, C., Díaz, F., Méndez, F., & Luna, C. (2018). Inadequate use of solid waste and its impact on environmental pollution. *Sciéndo*, 21(4), 401–407. <https://doi.org/10.17268/scienco.2018.044>
- Aizan, W., Abdul, W., Ali, R. R., & Zakaria, N. (2015). *Studies on biodegradability , morphology and mechanical properties of low density polyethylene/sago based blends. October.*
- Al-Hassan, A. A., & Norziah, M. H. (2012). Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.015>
- Alamri, M. S., Qasem, A. A. A., Mohamed, A. A., Hussain, S., Ibraheem, M. A., Shamlan, G., Alqah, H. A., & Qasha, A. S. (2021). Food packaging's materials: A food safety perspective. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4490–4499. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2021.04.047>
- Alvis, A., Vélez, C. A., Villada, H. S., & Rada-Mendoza, M. (2008). Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa y determinación de la viscosidad de las pastas. *Informacion Tecnologica*, 19(1), 19–28. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642008000100004>
- Apriliyani, M., Purwadi, P., Manab, A., & Ikhwan, A. (2020). Characteristics of Moisture Content, Swelling, Opacity and Transparency with Addition Chitosan as Edible Films/Coating Base on Casein. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 18(1), 9–14. <https://doi.org/10.19026/AJFST.18.6041>
- Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food Poisoning and Staphylococcus aureus Enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751. <https://doi.org/10.3390/TOXINS2071751>
- Aristizábal, J., & Sánchez, T. (2007). Guía técnica para producción y análisis de

- almidón de yuca. *Boletín de Servicios Agrícolas Fao*, 163, 134.
<https://doi.org/9253056770-9789253056774>
- Arteaga, R., Saldaña, V., Estuardo, D., Linares, O., Alberto, C., Cornelio, F., Díaz, F. A., Julio, F., Cobian, M., & Rioja, L. (2018). *Inadecuado uso de residuos sólidos y su impacto en la contaminación ambiental*. 21(4), 401–407.
- Ashwar, B. A., Shah, A., Gani, A., Shah, U., Gani, A., Wani, A., Wani, S. M., & Masoodi, F. A. (2014). *Rice starch active packaging films loaded with antioxidants- Development and characterization*.
- Ashwar, B. A., Shah, A., Gani, A., Shah, U., Gani, A., Wani, I. A., Wani, S. M., & Masoodi, F. A. (2015). Rice starch active packaging films loaded with antioxidants-development and characterization. *Starch/Staerke*, 67(3–4), 294–302.
<https://doi.org/10.1002/star.201400193>
- Asiyanbi, T., Bio-Sawe, W., Idris, M., & Hammed, A. (2017). Gelatin-polysaccharide based materials: a review of processing and properties. *International Food Research Journal* 24 (Suppl): S313-S319 (December, 24(December), 313–319.
- ASTM. (1995). Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Material Book of ASTM Standard, 05.11, E96-95. *American Society of Testing and Material*, 95(Reapproved), 4–6.
- Baptista, J., Gaylarde, C., Beech, I., Bastos, A. C., da Silva Quaresma, V., & de Carvalho, D. G. (2019). Microplastics and attached microorganisms in sediments of the Vitória bay estuarine system in SE Brazil. *Ocean & Coastal Management*, 169, 247–253. <https://doi.org/10.1016/J.OCECOAMAN.2018.12.030>
- Bayata, A. (2019). Review on Nutritional Value of Cassava for Use as a Staple Food. *Science Journal of Analytical Chemistry*, 7(4), 83.
<https://doi.org/10.11648/j.sjac.20190704.12>
- Bergo, P., & Sobral, P. J. A. (2007). Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. *FOOD HYDROCOLLOIDS*, 21, 1285–1289.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.09.014>
- Berk, Z. (2018). Food packaging. *Food Process Enginnering and Technology*, 625–641.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812018-7.00027-0>

- Bharti, S. K., Pathak, V., Alam, T., Arya, A., Singh, V. K., Verma, A. K., & Rajkumar, V. (2021). Starch bio-based composite active edible film functionalized with *Carum carvi* L. essential oil: antimicrobial, rheological, physic-mechanical and optical attributes. *Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05028-1>
- Bonilla, J., Talón, E., Atarés, L., Vargas, M., & Chiralt, A. (2013). Effect of the incorporation of antioxidants on physicochemical and antioxidant properties of wheat starch-chitosan films. *Journal of Food Engineering*, *118*(3), 271–278. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.008>
- Bustamantes, R., & Peralta, M. (2018). *Caracterización de Biopolímero Obtenido a partir de Leche de Vaca y Almidón de Yuca*. Universidad de Guayaquil.
- Caetano, K. dos S., Hessel, C. T., Tondo, E. C., Flôres, S. H., & Cladera-Olivera, F. (2017). Application of active cassava starch films incorporated with oregano essential oil and pumpkin residue extract on ground beef. *Journal of Food Safety*, *37*(4), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfs.12355>
- Castro, M., Mantuano, M.-I., Coloma, J.-L., & Santacruz, S. (2017). *Utilisation of Cassava Starch Edible Films containing Salicylic Acid on Papaya (Carica papaya L .) Preservation Utilización de Películas Comestibles de Almidón de Yuca y Ácido Salicílico en la Conservación de Papaya (Carica papaya L .)*. 39(1).
- Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2005). Lavender essential oil: a review. *Australian Infection Control*, *10*(1), 35–37. <https://doi.org/10.1071/hi05035>
- Charro, M. (2015). *Obtención de Plásticos Biodegradables a partir de Patata*. Universidad Central del Ecuador.
- Chisenga, S. M., Workneh, T. S., Bultosa, G., & Alimi, B. A. (2019). Progress in research and applications of cassava flour and starch: a review. *Journal of Food Science and Technology*, *56*(6), 2799–2813. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03814-6>
- Chiumarelli, M., & Hubinger, M. D. (2014). Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. *Food Hydrocolloids*, *38*(July 2012), 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.11.013>

- Croxen, M., Law, C., Scholz, R., Keeney, K., Wlodarska, M., & Finlay, L. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, *26*(4), 822–880. <https://doi.org/10.1128/CMR.00022-13>
- Cruz-Tirado, J. P., Barros Ferreira, R. S., Lizárraga, E., Tapia-Blácido, D. R., Silva, N. C. C., Angelats-Silva, L., & Siche, R. (2020). Bioactive Andean sweet potato starch-based foam incorporated with oregano or thyme essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*, *23*(December 2019), 100457. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100457>
- da Silva, J. B. A., Pereira, F. V., & Druzian, J. I. (2012). Cassava Starch-Based Films Plasticized with Sucrose and Inverted Sugar and Reinforced with Cellulose Nanocrystals. *Journal of Food Science*, *77*(6). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02710.x>
- Daza, L. D., Eim, V. S., & Váquiro, H. A. (2021). Influence of Ulluco Starch Concentration on the Physicochemical Properties of Starch–Chitosan Biocomposite Films. *Polymers*, *13*(23), 4232. <https://doi.org/10.3390/polym13234232>
- Debiagi, F., Kobayashi, R. K. T., Nakazato, G., & Panagio, L. A. (2014). Biodegradable active packaging based on cassava bagasse , polyvinyl alcohol and essential oils. *Industrial Crops & Products*, *52*, 664–670. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.032>
- Desire, A., Charlemagne, N., Achille, T., Catherine, D., Georges, A., & Marianne, S. (2017). Water Vapor Permeability of Edible Films Based on Improved Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Native Starches. *Journal of Food Processing & Technology*, *08*(03). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000665>
- Di Pierro, P., Chico, B., Villalonga, R., Mariniello, L., Damiao, A. E., Masi, P., & Porta, R. (2006). Chitosan-whey protein edible films produced in the absence or presence of transglutaminase: Analysis of their mechanical and barrier properties. *Biomacromolecules*, *7*(3), 744–749. <https://doi.org/10.1021/bm050661u>
- Earn, A., Bucci, K., & Rochman, C. M. (2021). A systematic review of the literature on plastic pollution in the Laurentian Great Lakes and its effects on freshwater biota. *Journal of Great Lakes Research*, *47*(1), 120–133.

<https://doi.org/10.1016/J.JGLR.2020.11.001>

- Esteghlal, S., Niakosari, M., Hosseini, S. M. H., Mesbahi, G. R., & Yousefi, G. H. (2016). Gelatin-hydroxypropyl methylcellulose water-in-water emulsions as a new bio-based packaging material. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 86). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.065>
- Eufrazio da Costa, T., de Lima, R., Mendes, E., Aroucha, M., & Klebson, F. (2020). *Filmes comestíveis de blendas poliméricas de quitosana , pectina e fécula de mandioca Edible films from polymeric blends of chitosan , pectin and cassava starch*. 4, 391–397. <https://doi.org/10.18378/rvads.v15i4.6713>
- Fontes, L. C. B., Ramos, K. K., Sivi, T. C., & Queiroz, F. P. C. (2011). Biodegradable edible films from renewable sources-potential for their application in fried foods. *American Journal of Food Technology*, 6(7), 555–567. <https://doi.org/10.3923/AJFT.2011.555.567>
- Galus, S., & Kadzińska, J. (2016). Moisture Sensitivity, Optical, Mechanical and Structural Properties of Whey Protein-Based Edible Films Incorporated with Rapeseed Oil. *Food Technology and Biotechnology*, 54(1), 78. <https://doi.org/10.17113/FTB.54.01.16.3889>
- Geueke, B., Groh, K., & Muncke, J. (2018). Food packaging in the circular economy: Overview of chemical safety aspects for commonly used materials. *Journal of Cleaner Production*, 193, 491–505. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2018.05.005>
- Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.1700782>
- Giovannini, D., Gismondi, A., Basso, A., Canuti, L., Braglia, R., Canini, A., Mariani, F., & Cappelli, G. (2016). *Lavandula angustifolia* mill. Essential oil exerts antibacterial and anti-inflammatory effect in macrophage mediated immune response to staphylococcus aureus. *Immunological Investigations*, 45(1), 11–28. <https://doi.org/10.3109/08820139.2015.1085392>
- Guerrero-beltrán, M. C. V. J. A. (2013). *Recubrimientos de frutas con biopelículas*. 5–14.

- He, R., Fu, N.-F., Chen, H.-M., Ye, J.-Q., Chen, L.-Z., Pu, Y.-F., & Zhang, W.-M. (2020). Comparison of the structural characteristics and physicochemical properties of starches from sixteen cassava germplasms cultivated in China. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 693–707. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1752714>
- Hennekinne, J., De Buyser, M., & Dragacci, S. (2012). Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 815–836. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6976.2011.00311.X>
- Hermabessiere, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jezequel, R., Soudant, P., & Duflos, G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere*, 182, 781–793. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.05.096>
- Herman, K., Hall, J., & Gould, L. (2015). Outbreaks attributed to fresh leafy vegetables, United States, 1973-2012. *Epidemiology and Infection*, 143(14), 3011–3021. <https://doi.org/10.1017/S0950268815000047>
- Himanshu, M., & Bindu, G. (2015). The role of food packaging. *Global Challenges and Innovations in Science and Management*. https://www.researchgate.net/publication/344124833_The_role_of_food_packaging
- Hinostroza, F., Mendoza, M., Navarrete, M., & Muñoz, X. (2014). Cultivo de yuca en el Ecuador. *INIAP*, 436, 1–28. <http://www.agricultura.gob.ec/sinagap/>
- Hussain, A., Anwar, F., Nigam, P., Sarker, S., Moore, J., Rao, J., & Mazumdar, A. (2011). Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using resazurin as an indicator of cell growth. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4), 1199–1206. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.10.005>
- Hussain, M. A. (2016). Food contamination: Major challenges of the future. *Foods*, 5(2), 1–2. <https://doi.org/10.3390/foods5020021>
- Iamareerat, B., Singh, M., Sadiq, M. B., & Anal, A. K. (2018). Reinforced cassava starch based edible film incorporated with essential oil and sodium bentonite nanoclay as food packaging material. *Journal of Food Science and Technology*,

55(5), 1953–1959. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3100-7>

- Indrianti, N., Pranoto, Y., & Abbas, A. (2018). Preparation and characterization of edible films made from modified sweet potato starch through heat moisture treatment. *Indonesian Journal of Chemistry*, *18*(4), 679–687. <https://doi.org/10.22146/ijc.26740>
- Insawang, S., Pripdeevech, P., Tanapichatsakul, C., Khruengsai, S., Monggoot, S., Nakham, T., Artrod, A., D'Souza, P. E., & Panuwet, P. (2019). Essential Oil Compositions and Antibacterial and Antioxidant Activities of Five *Lavandula stoechas* Cultivars Grown in Thailand. *Chemistry and Biodiversity*, *16*(10). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900371>
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (2013). INIAP Portoviejo-651 Variedad de yuca para la producción de almidón. *Estación Experimental Portoviejo - INIAP*.
- ISO 6647-1:2020. (2020). *ISO 6647-1:2020(en), Rice — Determination of amylose content FORMATO DIDE-PRY-002-2017 15 — Part 1: Spectrophotometric method with a defatting procedure by methanol and with calibration solutions of potato amylose and waxy rice amylopectin*. <http://www.ihsti.com/tempimg/2D2F32-CIS888614800322985.pdf>
- Jamróz, E., Juszczak, L., & Kucharek, M. (2018). Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, *114*(2017), 1094–1101. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.014>
- Japanese Standards Association. (2019). *Japanese Industrial Standard (JIS) Z 1707. 2019*.
- Jeevahan, J., & Govindaraj, M. (2017). *A Brief Review on Edible Food Packaging Materials. October*.
- Kadariya, J., Smith, T. C., & Thapaliya, D. (2014). *Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. BioMed Research International, 2014*. <https://doi.org/10.1155/2014/827965>

- Kamala, K., & Kumar, V. P. (2018). Food Products and Food Contamination. In *Microbial Contamination and Food Degradation*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811515-2.00001-9>
- K  rouanton, A., Hennekinne, J. A., Letertre, C., Petit, L., Chesneau, O., Brisabois, A., & De Buyser, M. L. (2007). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. *International Journal of Food Microbiology*, *115*(3), 369–375. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2006.10.050>
- Kwiatkowski, P.,  opusiewicz,  ., Kostek, M., Dro lowska, E., Pruss, A., Wojciuk, B., Sienkiewicz, M., Ziel nska-Bli zniewska, H., & Do egowska, B. (2020). The antibacterial activity of lavender essential oil alone and in combination with octenidine Dihydrochloride against MRSA strains. *Molecules*, *25*(1). <https://doi.org/10.3390/molecules25010095>
- Li, P., Wang, X., Su, M., Zou, X., Duan, L., & Zhang, H. (2020). Characteristics of Plastic Pollution in the Environment: A Review. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *0123456789*. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02820-1>
- Luna, J. J., Arenas, M. M. P., Pe a, C. M. de la, & Silva, J. L. (2019). The Role of Pathogenic *E. coli* in Fresh Vegetables: Behavior, Contamination Factors, and Preventive Measures. *International Journal of Microbiology*, *2019*. <https://doi.org/10.1155/2019/2894328>
- Macena, M., Carvalho, R., & Cruz-Lopes, L. P. (2021). Plastic Food Packaging: Perceptions and Attitudes of Portuguese Consumers about Environmental Impact and Recycling. *Sustainability*, *Vol. 13*, *13*(17), 9953. <https://doi.org/10.3390/SU13179953>
- Maizura, M., Fazilah, A., Norziah, M. H., & Karim, A. A. (2007). Antibacterial activity and mechanical properties of partially hydrolyzed sago starch-alginate edible film containing lemongrass oil. *Journal of Food Science*, *72*(6). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00427.x>
- Mariniello, L., Giosafatto, C. V. L., Di Pierro, P., Sorrentino, A., & Porta, R. (2010). Swelling, mechanical, and barrier properties of albedo-based films prepared in the

- presence of phaseolin cross-linked or not by transglutaminase. *Biomacromolecules*, 11(9), 2394–2398. <https://doi.org/10.1021/bm100566j>
- Marsh, K., & Bugusu, B. (2007). Food packaging - Roles, materials, and environmental issues: Scientific status summary. *Journal of Food Science*, 72(3). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x>
- McAuley, M., McMillan, K., Moore, S., Fegan, N., & Fox, E. (2014). Prevalence and characterization of foodborne pathogens from Australian dairy farm environments. *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7402–7412. <https://doi.org/10.3168/JDS.2014-8735>
- Medina, C., Goyanes, S., & Bernal, C. (2015). *Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer*. April 2018. <https://doi.org/10.1002/star.201500033>
- Medina, C., Gutiérrez, T. J., Goyanes, S., Bernal, C., & Famá, L. (2016). Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*, 151, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.025>
- Medina Jaramillo, C., Gutiérrez, T. J., Goyanes, S., Bernal, C., & Famá, L. (2016). Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*, 151, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.025>
- Mehdizadeh, T., Tajik, H., Razavi Rohani, S. M., & Oromiehie, A. R. (2012). Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. *Veterinary Research Forum: An International Quarterly Journal*, 3(3), 167–173. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25610564> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4299978>
- Mohamed, R., Mohd, N., Nurazzi, N., Siti Aisyah, M. I., & Mohd Fauzi, F. (2017). Swelling and tensile properties of starch glycerol system with various crosslinking agents. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 223(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/223/1/012059>
- Mohamed, S. A. A., El-sakhawy, M., & El-sakhawy, M. A. (2020). Polysaccharides,

- Protein and Lipid -Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review. *Elsevier*, 116178. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>
- Moosavian, V., Mehdi Marvizadeh, M., & Nafchi, A. M. (2017). Biodegradable Films Based on Cassava Starch/Mentha piperita Essence: Fabrication, Characterization and Properties. *Journal of Chemical Health Risks*, 7(3), 239–245. www.jchr.org
- Mustapa, R., Restuhadi, F., & Efendi, R. (2017). Utilization of chitosan as a basic material for making edible films from yellow sweet potato starch. *Electronic Publishing*, 26(3), 1–5.
- Navia Porras, D. P., Gordillo Suárez, M., Hernández Umaña, J., & Poveda Perdomo, L. G. (2019). Optimization of Physical, Optical and Barrier Properties of Films Made from Cassava Starch and Rosemary Oil. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(1), 127–140. <https://doi.org/10.1007/s10924-018-1316-2>
- Nugroho, A., Basito, & Baskara, K. (2013). Kajian pembuatan edible film tapioka dengan pengaruh penambahan pektin beberapa jenis kulit pisang terhadap karakteristik fisik dan mekanik. *J. Teknosains Pangan*, 2(1), 73–79. www.ilmupangan.fp.uns.ac.id
- Oriani, V. B., Molina, G., Chiumarelli, M., Pastore, G. M., & Hubinger, M. D. (2014). Properties of cassava starch-based edible coating containing essential oils. *Journal of Food Science*, 79(2). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12332>
- Orosco, R. (2019). *Caracterización Funcional Del Almidón de Dos Genotipos de Oca (Oxalis tuberosa Molina) Cultivadas con Dos Aplicaciones de Fertilizantes Nitrogenados y Fosfatados* (Vol. 52, Issue 1). UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.
- Pelissari, F., Grossmann, M., Yamashita, F., & Pineda, E. (2009). *Antimicrobial , Mechanical , and Barrier Properties of Cassava Starch - Chitosan Films Incorporated with Oregano Essential Oil*. 7499–7504. <https://doi.org/10.1021/jf9002363>
- Piñeros-hernandez, D., Medina-jaramillo, C., López-córdoba, A., & Goyanes, S. (2016). *Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging*. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.034>

- Piñeros, D., Medina, C., López, A., & Goyanes, S. (2017). Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids*, *63*, 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.034>
- Predoi, D., Iconaru, S. L., Buton, N., Badea, M. L., & Marutescu, L. (2018). Antimicrobial activity of new materials based on lavender and basil essential oils and hydroxyapatite. *Nanomaterials*, *8*(5). <https://doi.org/10.3390/nano8050291>
- Rai, P. K. (2016). Particulate Matter and Its Size Fractionation. *Biomagnetic Monitoring of Particulate Matter*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805135-1.00001-9>
- Rather, I. A., Koh, W. Y., Paek, W. K., & Lim, J. (2017). The sources of chemical contaminants in food and their health implications. *Frontiers in Pharmacology*, *8*(NOV). <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00830>
- Reinhart, D., Bolyard, S. C., & Berge, N. (2016). Grand Challenges - Management of municipal solid waste. *Waste Management*, *49*, 1–2. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2016.02.020>
- Resianingrum, R., Atmaka, W., Khasanah, L. U., Kawiji, K., Utami, R., & Praseptiangga, D. (2016). Characterization of cassava starch-based edible film enriched with lemongrass oil (*Cymbopogon citratus*). *Nusantara Bioscience*, *8*(2), 278–282. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n080223>
- Riaz, A., Lagnika, C., Luo, H., Dai, Z., Nie, M., Hashim, M. M., Liu, C., Song, J., & Li, D. (2020). Chitosan-based biodegradable active food packaging film containing Chinese chive (*Allium tuberosum*) root extract for food application. *International Journal of Biological Macromolecules*, *150*, 595–604. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.078>
- Riaz, A., Lagnika, C., Luo, H., Nie, M., Dai, Z., Liu, C., Abdin, M., Hashim, M. M., Li, D., & Song, J. (2020). Effect of Chinese chives (*Allium tuberosum*) addition to carboxymethyl cellulose based food packaging films. *Carbohydrate Polymers*, *235*(February), 115944. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115944>
- Rodriguez, J., & Pilosof, A. (2011). Protein–polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocolloids*, *25*(8), 1925–1937. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2011.02.023>

- Rojhan, M., & Nouri, L. (2013). Antimicrobial , Physicochemical , Mechanical , and Barrier Properties of Tapioca Starch Films Incorporated with Eucalyptus Extract. *Journal of Chemical Health Risks*, 3(3), 43–52.
- Romeo, F. V., De Luca, S., Piscopo, A., & Poiana, M. (2008). Antimicrobial effect of some essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 20(4), 373–379. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9700034>
- Romero Alcedo, M. (2018). Usos Tradicionales Y Actuales De Los Aceites Esenciales. *Universidad de Sevilla*, 15. [https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/82290/TFG - Maria Romero Alcedo.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/82290/TFG_Maria_Romero_Alcedo.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Santana, O., Cabrera, R., & Herraiz, D. (2012). *Perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha (España)*. 63(2), 214–222.
- Shama, A., Yahya, A., Salih, W., & Abdelgadir, W. (2011). Antimicrobial Activity of the Masticatory Cola acuminat a Nut (Gooro). *Current Research Journal of Biological Sciences*, 3(4), 357–362.
- Soares, R. M. D., Scremin, F. F., & Soldi, V. (2005). Thermal stability of biodegradable films based on soy protein and corn starch. *Macromolecular Symposia*, 229, 258–265. <https://doi.org/10.1002/MASY.200551132>
- Souza, A. C., Goto, G. E. O., Mainardi, J. A., Coelho, A. C. V., & Tadini, C. C. (2013). Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. *LWT - Food Science and Technology*, 54(2), 346–352. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.017>
- Souza, C. O., Silva, L. T., Silva, J. R., Jorge, A. L., Veiga-santos, P., Druzian, J. I., & Jo, R. (2011). Mango and Acerola Pulps as Antioxidant Additives in Cassava Starch Bio-based Film. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2248–2254.
- Supardan, M. D., Annisa, Y., Arpi, N., Aida, W., & Mustapha, W. (2016). *Cassava Starch Edible Film Incorporated with Lemongrass Oil: Characteristics and Application*. April. <https://doi.org/10.18517/ijaseit.6.2.736>

- Šuput, D., Lazić, V., Pezo, L., Markov, S., Vaštag, Ž., Popović, L., Radulović, A., Ostojić, S., Zlatanović, S., & Popović, S. (2016). Characterization of starch edible films with different essential oils addition. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *66*(4), 277–285. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2016-0008>
- Taqi, A., Mutihac, L., & Stamatina, I. (2014). Physical and barrier properties of apple pectin/cassava starch composite films incorporating laurus nobilis l. oil and oleic acid. *Journal of Food Processing and Preservation*, *38*(4), 1982–1993. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12174>
- Thakur, R., Saberi, B., Pristijono, P., Golding, J., Stathopoulos, C., Scarlett, C., Bowyer, M., & Vuong, Q. (2016). Characterization of rice starch- κ -carrageenan biodegradable edible film. Effect of stearic acid on the film properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *93*, 952–960. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.053>
- Tongdeesoontorn, W., Mauer, L. J., & Wongruong, S. (2012). Mechanical and Physical Properties of Cassava Starch-Gelatin Composite Films. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, *September 2013*, 37–41. <https://doi.org/10.1080/00914037.2011.610049>
- Ukaogo, P. O., Ewuzie, U., & Onwuka, C. V. (2020). Environmental pollution: causes, effects, and the remedies. In *Microorganisms for Sustainable Environment and Health*. INC. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819001-2.00021-8>
- United States Environmental Protection Agency. (2014). Reducing Wasted Food & Packaging: A Guide for Food Services and Restaurants United States Environmental Protection Agency. *EPA*.
- Valencia-Sullca, C., Vargas, M., Atarés, L., & Chiralt, A. (2018). Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, *75*, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.008>
- Wang, K., Wang, W., Ye, R., Liu, A., Xiao, J., Liu, Y., & Zhao, Y. (2017). Mechanical properties and solubility in water of corn starch-collagen composite films: Effect of starch type and concentrations. In *Food Chemistry* (Vol. 216). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.048>
- Weintin, M., Lewis, J., Bobenchik, A., Campeau, S., Cullen, S., Galas, M., & Gold, H.

- (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (30th ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>
- Wyrwa, J., & Barska, A. (2017). Innovations in the food packaging market : active packaging. *European Food Research and Technology*, 243(10), 1681–1692. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2878-2>
- Yang, S.-C., Lin, C.-H., Aljuffali, I. A., & Fang, J.-Y. (2017). Current pathogenic Escherichia coli foodborne outbreak cases and therapy development. *Archives of Microbiology* 2017 199:6, 199(6), 811–825. <https://doi.org/10.1007/S00203-017-1393-Y>
- Yanwong, S., & Threepopnatkul, P. (2015). Effect of peppermint and citronella essential oils on properties of fish skin gelatin edible films. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 87(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/87/1/012064>
- Yildirim, S., & Röcker, B. (2018). Active packaging. *Nanomaterials for Food Packaging: Materials, Processing Technologies, and Safety Issues*, 173–202. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51271-8.00007-3>
- Zhou, Y., Wu, X., Chen, J., & He, J. (2021). Effects of cinnamon essential oil on the physical, mechanical, structural and thermal properties of cassava starch-based edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 184(June), 574–583. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.067>
- Zhu, F. (2021). Polysaccharide based films and coatings for food packaging : Effect of added polyphenols. *Food Chemistry*, 359(March), 129871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129871>

ANEXO A

DATOS OBTENIDOS EXPERIMENTALMENTE DE LOS ANÁLISIS: FÍSICOQUÍMICOS (ESPESOR, SOLUBILIDAD, HUMEDAD, CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO, PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA) Y MICROBIOLÓGICO (HALOS DE INHIBICIÓN CONTRA *E. coli* Y *S. aureus*)

	ESPESOR (μm)														
	CONTROL			1% A.E			2,5% A.E			5% A.E			10% A.E		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Réplicas															
Punto 1	150	140	120	200	170	220	270	290	220	370	370	400	460	480	550
Punto 2	130	130	130	210	180	190	250	230	240	390	430	410	500	450	510
Punto 3	180	140	150	190	170	210	280	270	290	400	420	430	490	510	520
Punto 4	190	100	170	170	190	200	320	290	300	430	450	450	500	550	490
Punto 5	140	150	140	190	160	180	310	300	260	360	360	390	440	470	550
Promedio (μm)	158	132	142	192	174	200	286	276	262	390	406	416	478	492	524
Promedio Total (μm)	144			189			275			404			498		
Media	25,884	19,235	19,235	14,832	11,402	15,811	28,810	27,928	33,466	27,386	39,115	24,083	26,833	38,987	26,077
SD	13,115			13,317			12,055			13,115			23,580		

Anexo A-1. Datos Obtenidos del espesor medido con micrómetro de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.

	HUMEDAD (%)														
	CONTROL			1% A.E			2,5% A.E			5% A.E			10% A.E		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Réplicas															
Peso Inicial (g)	0,0676	0,0509	0,0532	0,1015	0,0655	0,0681	0,1079	0,1028	0,096	0,1106	0,0972	0,0495	0,0749	0,0939	0,1046
Peso Final (g)	0,0552	0,0402	0,0428	0,0847	0,0537	0,0554	0,0898	0,0857	0,0792	0,087	0,076	0,0397	0,0582	0,0719	0,0811
Humedad (%)	18,343	21,022	19,549	16,552	18,015	18,649	16,775	16,634	17,500	21,338	21,811	19,798	22,296	23,429	22,467
Promedio (%)	19,638			17,739			16,970			20,982			22,731		

Media	19,577	17,694	16,961	20,946	22,720
SD	1,341	1,076	0,465	1,052	0,611

Anexo A-2. Datos Obtenidos de la humedad de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos

Anexo A-3. Datos Obtenidos del porcentaje de solubilidad de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.

Réplicas	SOLUBILIDAD (%)														
	CONTROL			1% A.E			2,5% A.E			5% A.E			10% A.E		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Peso Papel Filtro (g)	0,3784	0,3754	0,3688	0,3808	0,3737	0,3894	0,3715	0,3851	0,3703	0,374	0,3838	0,3802	0,3965	0,3892	0,3695
Peso Inicial Película (g)	0,0402	0,0973	0,0694	0,1492	0,1437	0,1295	0,1585	0,1147	0,1322	0,1529	0,1327	0,1367	0,0862	0,1119	0,0655
Peso Final (g)	0,3942	0,4105	0,3946	0,4608	0,4476	0,4551	0,4682	0,4561	0,4544	0,4799	0,4751	0,4747	0,4603	0,4697	0,4176
Peso Final Película (g)	0,0158	0,0351	0,0258	0,08	0,0739	0,0657	0,0967	0,071	0,0841	0,1059	0,0913	0,0945	0,0638	0,0805	0,0481
Solubilidad (%)	60,697	63,926	62,824	46,381	48,573	49,266	38,991	38,099	36,384	30,739	31,198	30,871	25,986	28,061	26,565
Promedio (%)	62,482			48,074			37,825			30,936			26,871		
Media	62,453			48,042			37,793			30,935			26,843		
SD	1,642			1,506			1,325			0,236			1,071		

Réplicas	CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO (%)														
	CONTROL			1% A.E			2,5% A.E			5% A.E			10% A.E		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Peso Inicial (g)	0,0817	0,076	0,0866	0,1128	0,1166	0,1133	0,165	0,1981	0,2062	0,1257	0,1297	0,153	0,2792	0,2213	0,2143

Peso Final (g)	0,3951	0,3674	0,4123	0,4612	0,5036	0,48	0,5875	0,6922	0,7277	0,4292	0,4236	0,4956	0,8074	0,6522	0,6805
Hinchamiento (%)	383,599	383,421	376,097	308,865	331,904	323,654	256,061	249,419	252,910	241,448	226,600	223,922	189,183	194,713	217,545

PERMEABILIDAD VAPOR DE AGUA

SD	4,281		11,673			3,322			9,441				15,035		
-----------	-------	--	--------	--	--	-------	--	--	-------	--	--	--	--------	--	--

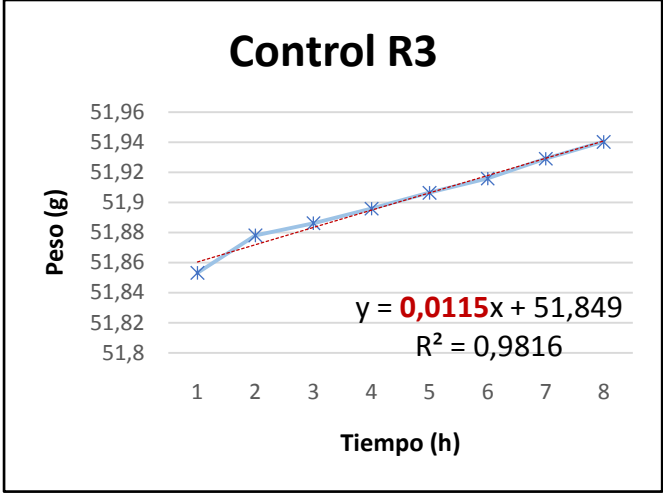
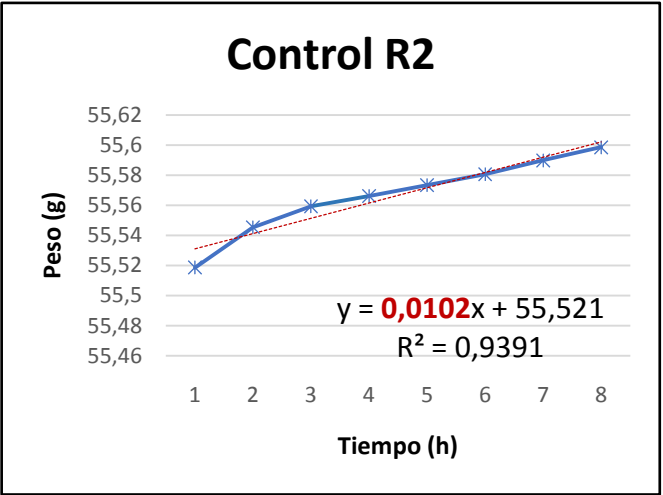
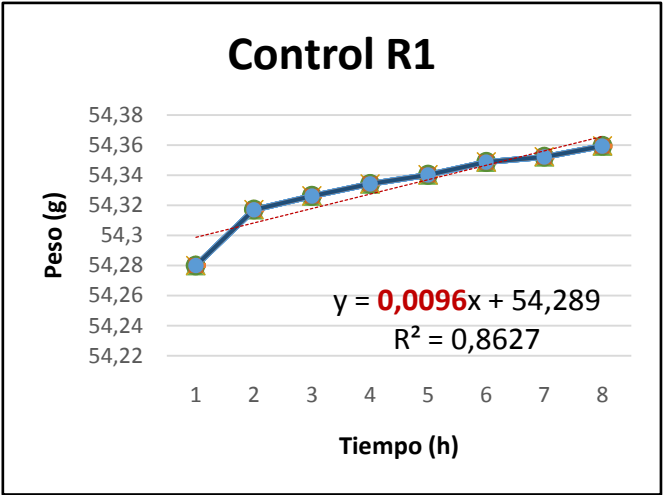
Anexo A-4. Datos Obtenidos de la capacidad de hinchamiento de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.

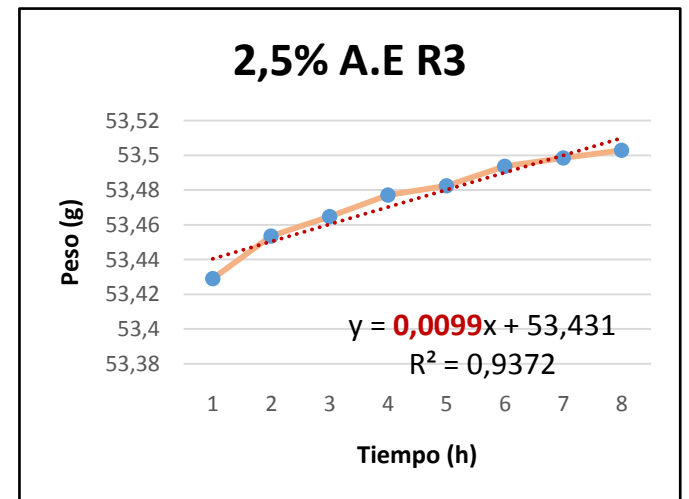
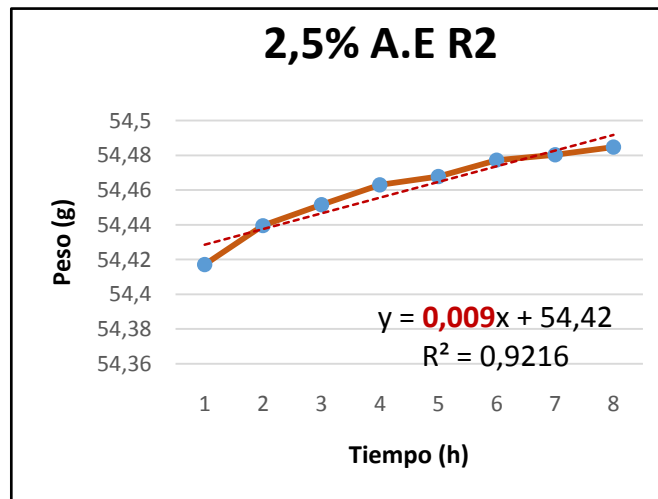
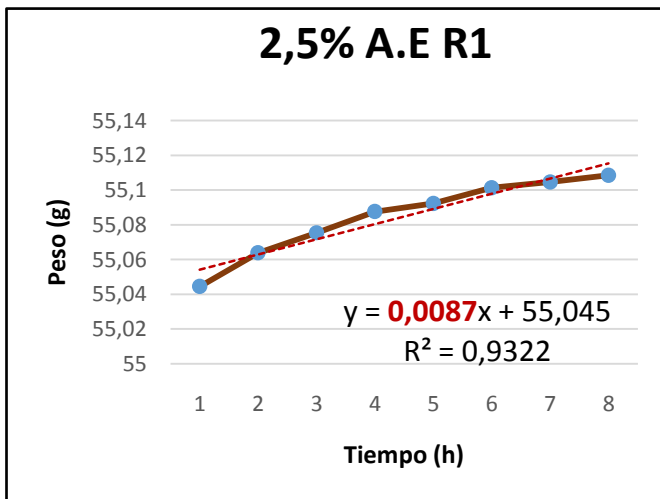
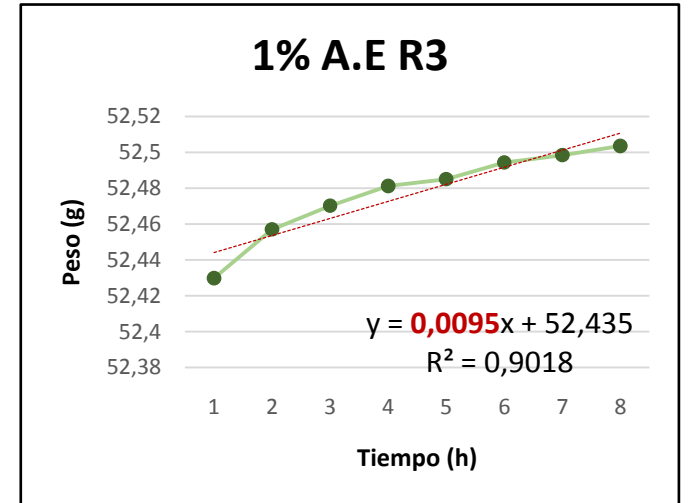
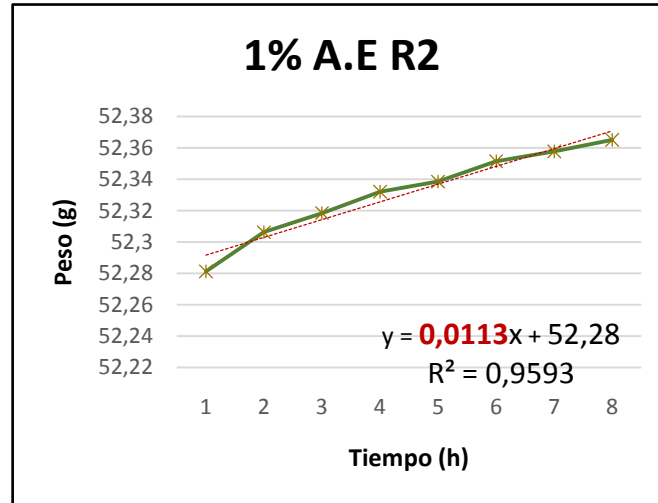
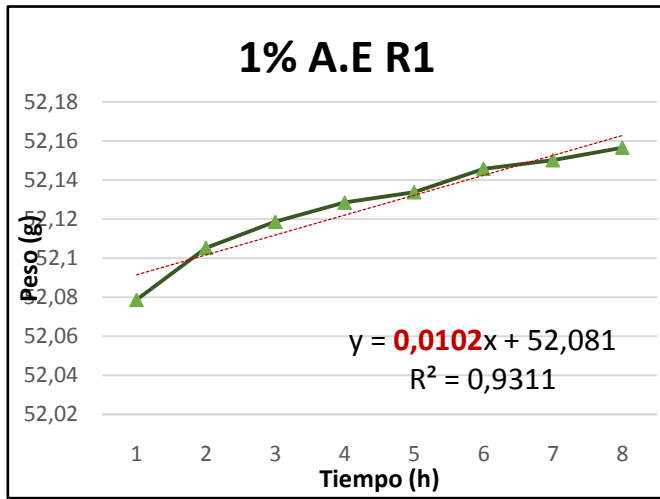
Anexo A-5. Datos Obtenidos de la transferencia del vapor de agua (WVTR) y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.

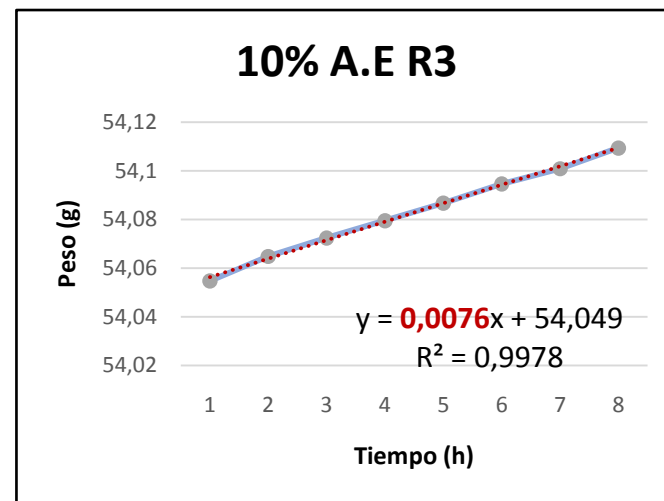
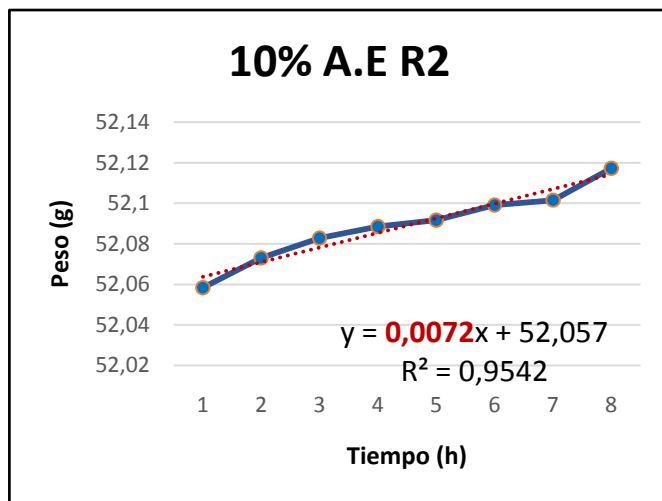
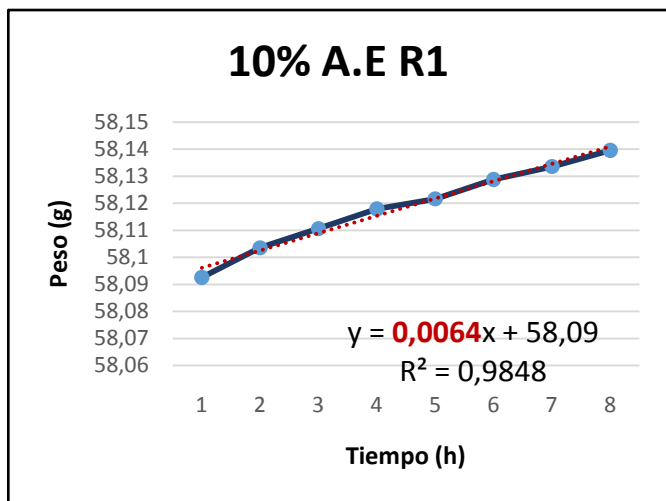
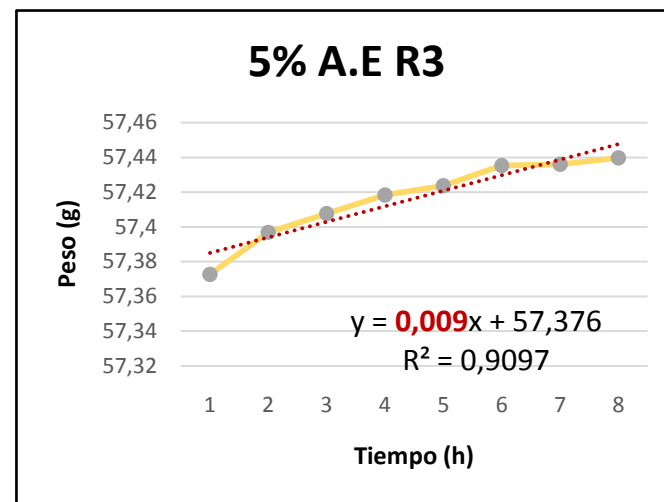
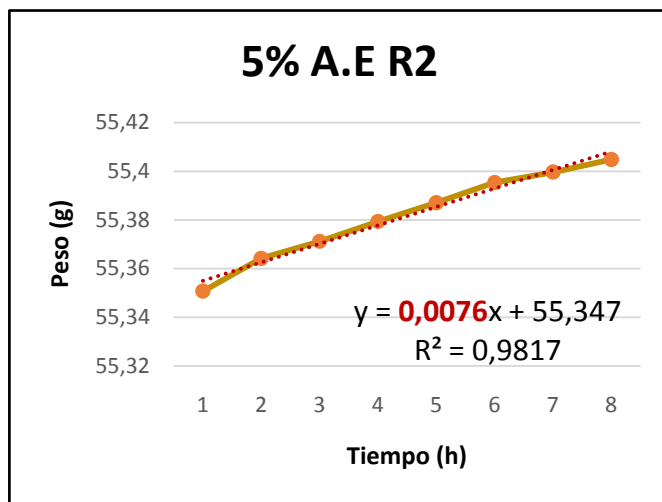
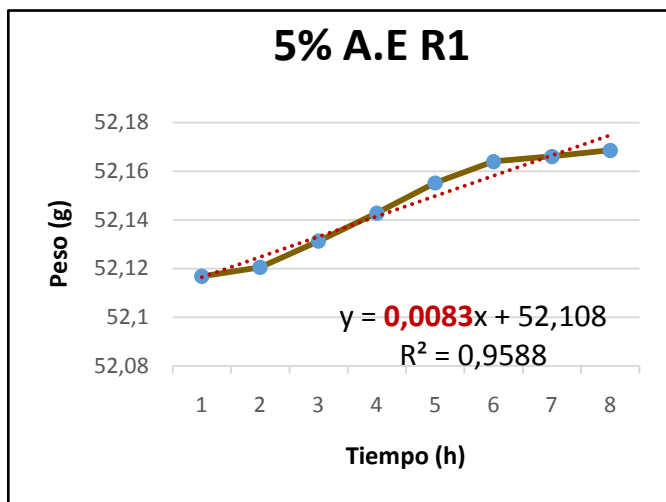
	CONTROL			1% A.E			2,5% A.E			5% A.E			10% A.E		
Réplicas	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Peso (g) 1 Hora	54,2800	55,5186	51,8532	52,0787	52,2812	52,4298	55,0445	54,4171	53,4291	52,1168	55,3507	57,3727	58,0925	52,0584	54,0547
Peso (g) 2 Horas	54,3171	55,5454	51,8781	52,1053	52,3062	52,457	55,0639	54,4395	53,4535	52,1205	55,3642	57,3969	58,1035	52,0731	54,0648
Peso (g) 3 Horas	54,3262	55,5594	51,8862	52,1187	52,3184	52,4702	55,0754	54,4516	53,4648	52,1313	55,3712	57,4077	58,1106	52,0828	54,0724
Peso (g) 4 Horas	54,3342	55,5662	51,8959	52,1285	52,332	52,4812	55,0876	54,463	53,477	52,1428	55,3794	57,4184	58,1179	52,0885	54,0795
Peso (g) 5 Horas	54,3402	55,5734	51,9065	52,1338	52,3384	52,485	55,0923	54,4678	53,4824	52,1552	55,3871	57,4237	58,1216	52,0917	54,0867
Peso (g) 6 Horas	54,3487	55,5806	51,9159	52,1458	52,3513	52,4943	55,1013	54,4772	53,4936	52,164	55,3954	57,4352	58,1288	52,0991	54,0946
Peso (g) 7 Horas	54,3522	55,5898	51,9291	52,1502	52,3576	52,4984	55,1046	54,4803	53,4983	52,1661	55,3997	57,436	58,1336	52,1015	54,1009
Peso (g) 8 Horas	54,3594	55,5986	51,9403	52,1566	52,365	52,5035	55,1085	54,4847	53,5028	52,1686	55,4049	57,4397	58,1396	52,1172	54,1094
g/h	0,0096	0,0102	0,0115	0,0102	0,0113	0,0095	0,0087	0,009	0,0099	0,0083	0,00766	0,009	0,0064	0,0072	0,0076
WVTR (g .h⁻¹. m⁻²)	12,719	13,514	15,236	13,514	14,971	12,586	11,526	11,924	13,116	10,996	10,148	11,924	8,479	9,539	10,069
WVTR Promedio (g .h⁻¹. m⁻²)		13,823			13,690			12,189			11,023			9,362	
Media		13,745			13,621			12,152			10,975			9,314	
SD		1,287			1,202			0,827			0,888			0,809	
WVP (g.mm.h⁻¹.Pa⁻¹.m⁻²) *10⁻⁶	8,444	7,496	9,091	10,903	10,946	10,578	13,852	13,829	14,440	18,021	17,314	20,844	17,031	19,721	22,171
WVP Promedio (g.mm.h⁻¹.Pa⁻¹.m⁻²) *10⁻⁶		8,344			10,809			14,040			18,726			19,641	

Media (* 10⁻⁶)	8,291	10,806	14,035	18,608	19,414
SD	0,803	0,201	0,346	1,868	2,571

Anexo A-6. Gráficas obtenidas a partir de las variaciones de pesos de los sistemas para el cálculo de la transferencia del vapor de agua (WVTR) y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas biodegradables con tres réplicas para todos los tratamientos.







ANEXO B

CÁLCULOS REALIZADOS PARA LA OBTENCIÓN DEL PORCENTAJE DE AMILOSA Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS COMO ESPESOR, SOLUBILIDAD, HUMEDAD, CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO, PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA

Anexo B-1. Cálculo demostrativo realizado para obtener el promedio del espesor de las películas biodegradables.

Control R1

Datos:

	(um)
Punto 1	150
Punto 2	130
Punto 3	180
Punto 4	190
Punto 5	140

$$\text{Espesor Promedio (um)} = \frac{150 + 130 + 180 + 190 + 140}{5}$$

$$\text{Espesor Promedio (um)} = 158$$

Anexo B-2. Cálculo demostrativo realizado para obtener la humedad de las películas biodegradables.

Control R1

Datos:

Peso Inicial (g)	0,0676
Peso Final (g)	0,0552

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{Peso Inicial} - \text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} * 100$$

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{0,0676 \text{ g} - 0,0552 \text{ g}}{0,0676 \text{ g}} * 100$$

$$\text{Humedad (\%)} = 18,343 \%$$

Anexo B-3. Cálculo demostrativo realizado para obtener la solubilidad de las películas biodegradables.

Control

R1

Datos:

Peso Papel Filtro (g)	0,3784
Peso Inicial Película (g)	0,0402
Peso Final (g)	0,3942
Peso Final Película (g)	0,0158

$$\text{Peso Final Película (g)} = [\text{Peso Papel Filtro (g)} + \text{Peso Inicial Película (g)}] - \text{Peso Final (g)}$$

$$\text{Peso Final Película} = [0,3784 + 0,0402 - 0,3942] \text{ g}$$

Peso Final Película = 0,0158 g

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{\text{Peso Inicial Película} - \text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial Película}} * 100$$

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{0,0402 \text{ g} - 0,3942 \text{ g}}{0,0402 \text{ g}} * 100$$

Solubilidad (%) = 60,697 %

Anexo B-4. Cálculo demostrativo realizado para obtener la capacidad de hinchamiento de las películas biodegradables.

Control R1

Datos:

Peso Inicial (g)	0,0817
Peso Final (g)	0,3951

$$\text{Capacidad de Hinchamiento (\%)} = \frac{\text{Peso Inicial} - \text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} * 100$$

$$\text{Capacidad de Hinchamiento (\%)} = \frac{0,0817 \text{ g} - 0,3951 \text{ g}}{0,0817 \text{ g}} * 100$$

Capacidad de Hinchamiento (%) = 381,039 %

Anexo B-5. Cálculo demostrativo realizado para obtener la transferencia del vapor de agua (WVTR) y permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas biodegradables.

Control R1

Datos:

g/h	0,0096
Diámetro de contacto del sistema (m)	0,031
Presión Vapor de Agua a 25°C (Pa)	3173

Área de Contacto:

$$\text{Área} = \pi * \frac{D^2}{4}$$

$$\text{Área} = \pi * \frac{(0,031 \text{ m})^2}{4}$$

$$\text{Área} = 7,548 \times 10^{-4} \text{ m}^2$$

Transferencia Del Vapor De Agua (WVTR)

$$\text{WVTR} = \frac{\text{g}}{\text{h}} * \frac{1}{\text{Área}}$$

$$\text{WVTR} = 0,0096 \frac{\text{g}}{\text{h}} * \frac{1}{7,548 \times 10^{-4} \text{ m}^2}$$

$$\text{WVTR} = 12,719 \frac{\text{g}}{\text{h.m}^2}$$

Permeabilidad al Vapor De Agua (WVP)

$$\text{WVP} = \frac{\text{WVTR} * e}{P_0 \cdot (\text{RH}_1 - \text{RH}_2)}$$

$$\text{WVP} = \frac{12,719 \frac{\text{g}}{\text{h.m}^2} * 0,158 \text{ mm}}{3173 \cdot (75 - 0)}$$

$$\text{WVP} = 8,444 \times 10^{-6} \text{ (g.mm.h}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1} \cdot \text{m}^{-2})$$

ANEXO C

**ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS DATOS
EXPERIMENTALES (STATGRAPHICS):
FISICOQUÍMICOS (ESPESOR, SOLUBILIDAD,
HUMEDAD, CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO,
PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA) Y
MICROBIOLÓGICO (HALOS DE INHIBICIÓN CONTRA
E. coli Y *S. aureus*)**

Anexo C-1. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) del espesor de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración de Aceite	4	262126	65531,6	267,99	0,000
Error	10	2445	244,5		
Total	14	264572			

Medias

Concentración de Aceite	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Control	3	144,00	13,11	(123,88. 164,12)
Aceite 1%	3	188,67	13,32	(168,55. 208,78)
Aceite 2,5%	3	274,67	12,06	(254,55. 294,78)
Aceite 5%	3	404,00	13,11	(383,88. 424,12)
Aceite 10%	3	498,0	23,6	(477,9. 518,1)

Desv.Est. agrupada = 15,6376

Prueba de Comparación de Tukey con un nivel de confianza de 95%

Concentración de Aceite	N	Media	Agrupación
Aceite 10%	3	498,0	A
Aceite 5%	3	404,00	B
Aceite 2,5%	3	274,67	C
Aceite 1%	3	188,67	D
Control	3	144,00	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo C-2. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la humedad de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración de Aceite	4	66,288	16,5719	17,81	0,000
Error	10	9,306	0,9306		
Total	14	75,594			

Medias

Concentración de Aceite	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Control	3	19,638	1,341	(18,397. 20,879)
Aceite 1%	3	17,739	1,076	(16,498. 18,980)
Aceite 2,5%	3	16,970	0,465	(15,729. 18,211)
Aceite 5%	3	20,982	1,052	(19,741. 22,223)
Aceite 10%	3	22,731	0,611	(21,490. 23,972)

Desv.Est. agrupada = 0,964701

Prueba de Comparación de Tukey con un nivel de confianza de 95%

Concentración de Aceite	N	Media	Agrupación		
Aceite 10%	3	22,731	A		
Aceite 5%	3	20,982	A	B	
Control	3	19,638		B	C
Aceite 1%	3	17,739			C D
Aceite 2,5%	3	16,970			D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo C-3. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la solubilidad de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración de Aceite	4	2466,74	616,686	389,26	0,000
Error	10	15,84	1,584		
Total	14	2482,59			

Medias

Concentración de Aceite	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Control	3	62,482	1,642	(60,863. 64,101)
Aceite 1%	3	48,074	1,506	(46,454. 49,693)
Aceite 2,5%	3	37,825	1,325	(36,206. 39,444)
Aceite 5%	3	30,936	0,236	(29,317. 32,555)
Aceite 10%	3	26,871	1,071	(25,251. 28,490)

Desv.Est. agrupada = 1,25866

Prueba de Comparación de Tukey con un nivel de confianza de 95%

Concentración de Aceite	N	Media	Agrupación
Control	3	62,482	A
Aceite 1%	3	48,074	B
Aceite 2,5%	3	37,825	C
Aceite 5%	3	30,936	D
Aceite 10%	3	26,871	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo C-4. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la capacidad de hinchamiento de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración de Aceite	4	64171,1	16042,8	166,83	0,000
Error	10	961,6	96,2		
Total	14	65132,7			

Medias

Concentración de Aceite	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Control	3	381,04	4,28	(368,42. 393,65)
Aceite 1%	3	321,47	11,67	(308,86. 334,09)
Aceite 2,5%	3	252,80	3,32	(240,18. 265,41)
Aceite 5%	3	230,66	9,44	(218,04. 243,27)
Aceite 10%	3	200,48	15,03	(187,87. 213,10)

Desv.Est. agrupada = 9,80617

Prueba de Comparación de Tukey con un nivel de confianza de 95%

Concentración de Aceite	N	Media	Agrupación
Control	3	381,04	A
Aceite 1%	3	321,47	B
Aceite 2,5%	3	252,80	C
Aceite 5%	3	230,66	C
Aceite 10%	3	200,48	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo C-5. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la Transferencia del Vapor de Agua (WVTR) de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración de Aceite	4	0,4238	0,10594	10,13	0,002
Error	10	0,1046	0,01046		
Total	14	0,5283			

Medias

Concentración de Aceite	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Control	3	1,3823	0,1287	(1,2507. 1,5138)
Aceite 1%	3	1,3690	0,1202	(1,2375. 1,5006)
Aceite 2,5%	3	1,2189	0,0827	(1,0873. 1,3504)
Aceite 5%	3	1,1023	0,0888	(0,9707. 1,2338)
Aceite 10%	3	0,9362	0,0809	(0,8047. 1,0678)

Desv.Est. agrupada = 0,102266

Prueba de Comparación de Tukey con un nivel de confianza de 95%

Concentración de Aceite	N	Media	Agrupación	
Control	3	1,3823	A	
Aceite 1%	3	1,3690	A	B
Aceite 2,5%	3	1,2189	A	B
Aceite 5%	3	1,1023		B C
Aceite 10%	3	0,9362		C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo C-6. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de la Permeabilidad al Vapor de Agua (WVP) de las películas en relación a la concentración del aceite esencial añadido a la formulación.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración de Aceite	4	287,55	71,887	32,97	0,000
Error	10	21,80	2,180		
Total	14	309,35			

Medias

Concentración de Aceite	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Control	3	8,344	0,803	(6,444. 10,243)
Aceite 1%	3	10,809	0,201	(8,909. 12,708)
Aceite 2,5%	3	14,040	0,346	(12,141. 15,940)
Aceite 5%	3	18,73	1,87	(16,83. 20,63)
Aceite 10%	3	19,64	2,57	(17,74. 21,54)

Desv.Est. agrupada = 1,47656

Prueba de Comparación de Tukey con un nivel de confianza de 95%

Concentración de Aceite	N	Media	Agrupación	
Aceite 10%	3	19,64	A	
Aceite 5%	3	18,73	A	
Aceite 2,5%	3	14,040	B	
Aceite 1%	3	10,809	B	C
Control	3	8,344	C	

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo C-7. Análisis de Varianza y Prueba de Comparación de Tukey (95%) de los Halos de Inhibición exhibidos por la película biodegradable.

***E. coli* (ATCC 11229)**

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración	5	476,67	95,333	74,61	0,000
Error	12	15,33	1,278		
Total	17	492,00			

Medias

Concentración	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1% A.E	3	6,333	0,577	(4,911; 7,755)
10% A.E	3	11,333	1,528	(9,911; 12,755)
2,5% A.E	3	8,667	1,528	(7,245; 10,089)
5% A.E	3	10,333	1,528	(8,911; 11,755)
CTR (-)	3	6,000	0,000	(4,578; 7,422)
CTR (+)	3	21,333	0,577	(19,911; 22,755)

Desv.Est. agrupada = 1,13039

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Concentración	N	Media	Agrupación	
CTR (+)	3	21,333	A	
10% A.E	3	11,333	B	
5% A.E	3	10,333	B	
2,5% A.E	3	8,667	B	C
1% A.E	3	6,333	C	
CTR (-)	3	6,000	C	

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

***S. aureus*(ATCC 13150)**

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Concentración	5	656,67	131,333	102,78	0,000
Error	12	15,33	1,278		
Total	17	672,00			

Medias

Concentración	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1% A.E	3	6,667	0,577	(5,245; 8,089)
10% A.E	3	15,333	1,528	(13,911; 16,755)
2,5% A.E	3	9,667	1,155	(8,245; 11,089)
5% A.E	3	10,667	1,155	(9,245; 12,089)
CTR (-)	3	6,000	0,000	(4,578; 7,422)
CTR (+)	3	23,667	1,528	(22,245; 25,089)

Desv.Est. agrupada = 1,13039

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

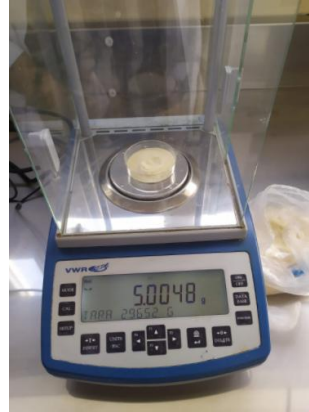
Concentración	N	Media	Agrupación		
CTR (+)	3	23,667	A		
10% A.E	3	15,333	B		
5% A.E	3	10,667	C		
2,5% A.E	3	9,667	C	D	
1% A.E	3	6,667		D	E
CTR (-)	3	6,000			E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

ANEXO D

**FOTOGRAFÍAS DEL PROCEDIMIENTO DE
ELABORACIÓN DE LAS PELÍCULAS
BIODEGRADABLES, LAS PRUEBAS FÍSICOQUÍMICAS
Y MICROBIOLÓGICAS**

ELABORACIÓN DE LAS PELÍCULAS BIODEGRADABLES



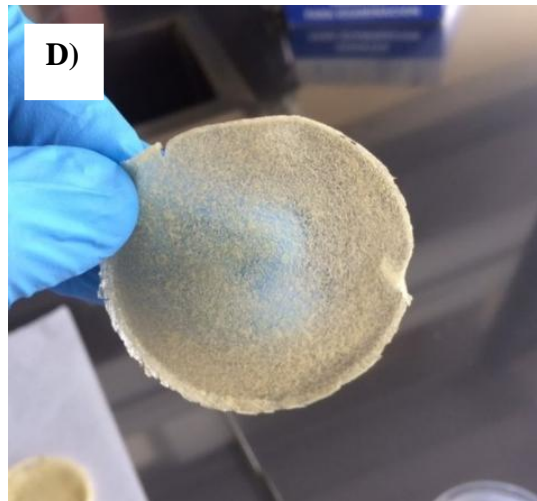
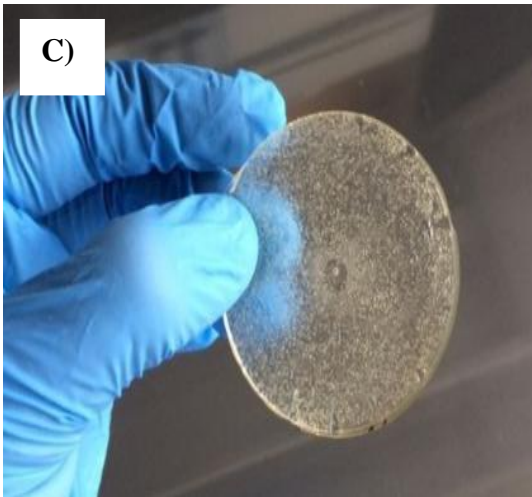
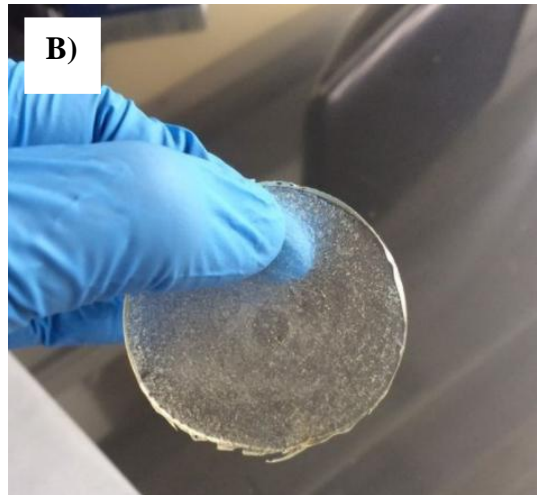
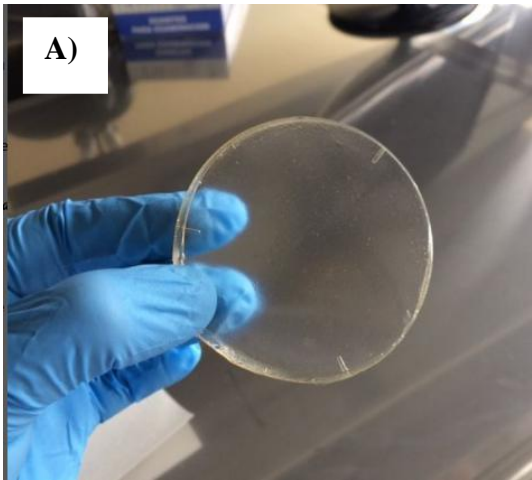
Anexo D-1. Pesaje de los ingredientes de acuerdo al volumen de solución a preparar.

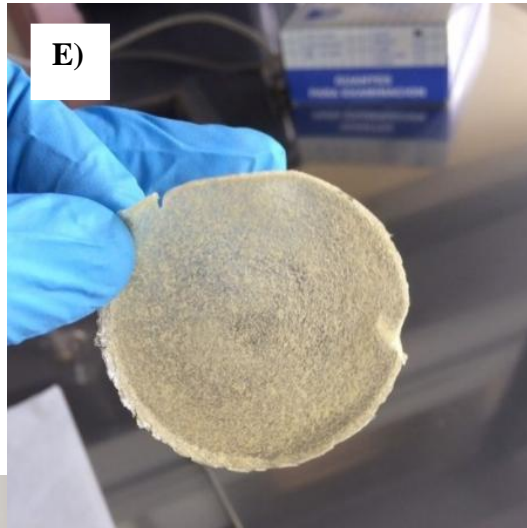


Anexo D-2. Mezcla de los ingredientes.



Anexo D-4. Secado de las películas en la incubadora a 50°C por 24 horas.





Anexo D-5. Películas Obtenidas después del proceso de secado **A)** Control; **B)** 1% A.E; **C)** 2,5% A.E; **D)** 5% A.E; **E)** 10% A.E



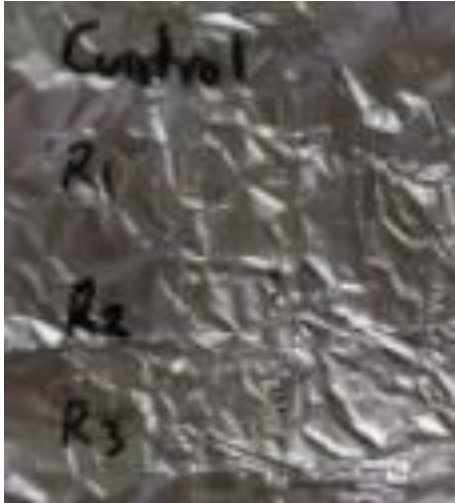
Anexo D-6. Preparación de las muestras (20 * 20 mm) para las pruebas de solubilidad, capacidad de hinchamiento y humedad.

*Anexo D- 6.Preparación de las muestras (20 * 20 mm) para las pruebas de solubilidad, capacidad de hinchamiento y humedad.*

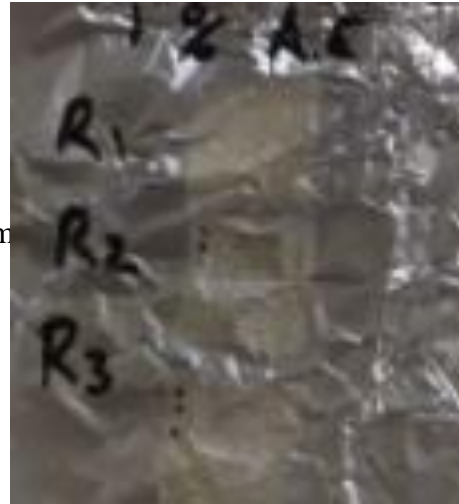
ESPESOR



HUMEDAD



or con el m



Anexo D-8. Películas (20 * 20mm) previamente pesadas para la prueba de humedad.



Anexo D-9. Películas (20 * 20mm) posterior del proceso de secado a 110°C por 24 horas



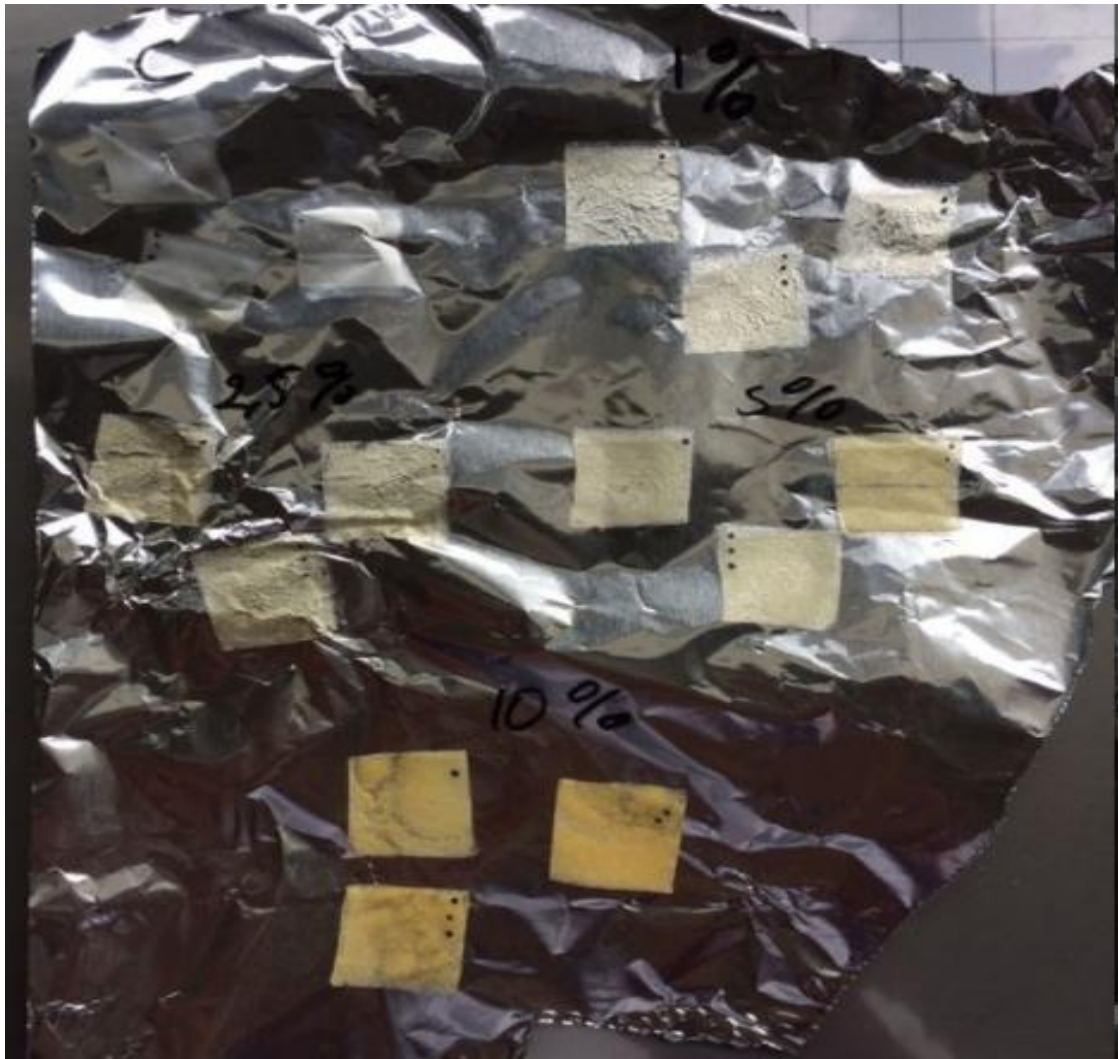
Anexo D-10. Películas (20 * 20mm) pre-tratadas a 110°C por 24 horas.

SOLUBILIDAD



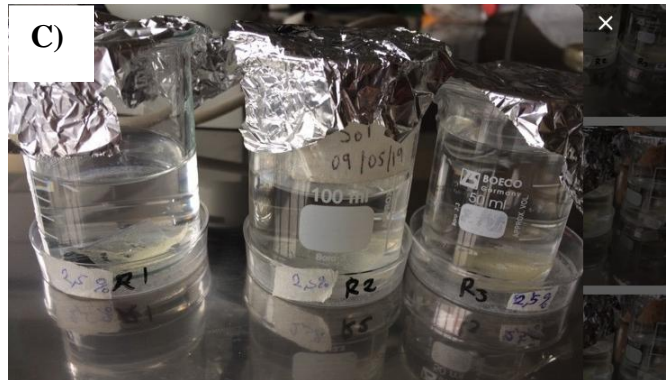
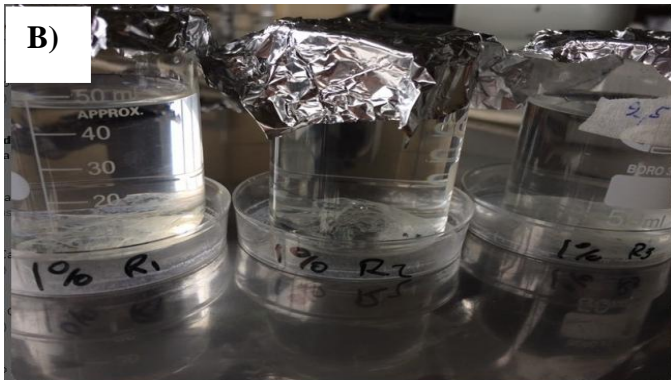
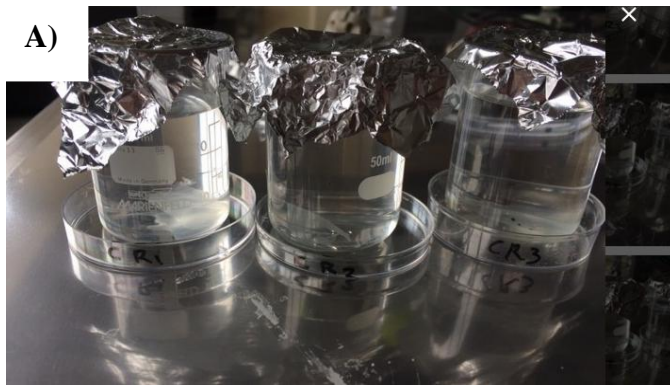


Anexo D-11. Películas recuperadas en papel filtro y secadas a 110°C durante 24 horas



Anexo D-12. Muestras de películas previamente tratadas a 60°C por 24 horas para las pruebas de capacidad de hinchamiento.

CAPACIDAD DE HINCHAMIENTO



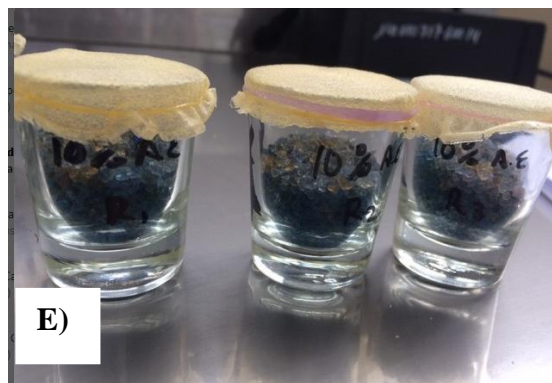
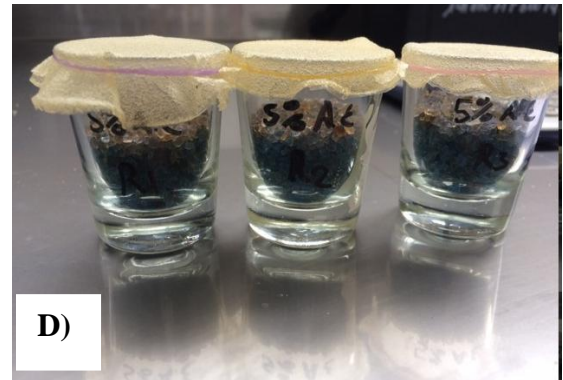
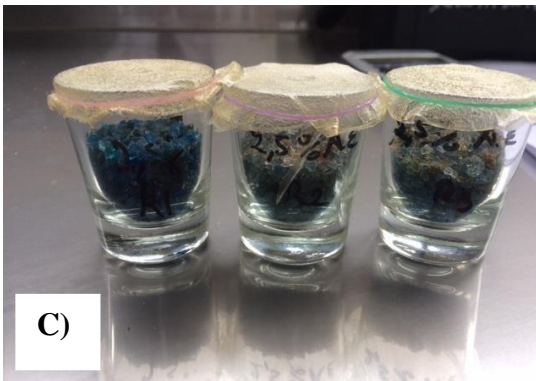
PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA



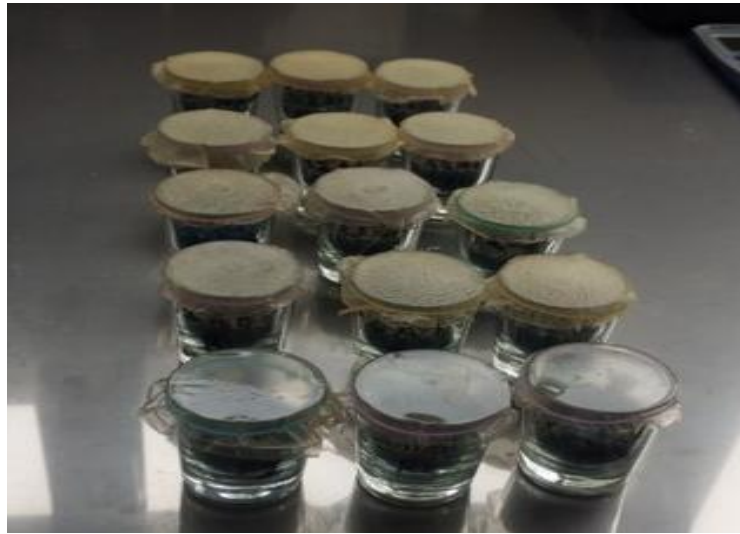
Anexo D-13. Réplicas de las muestras de la película biodegradable en una solución 0,01M de NaCl para medir la capacidad de hinchamiento. A) Control; B) 1% A.E; C) 2,5% A.E; D) 5% A.E; E) 10% A.E

A)

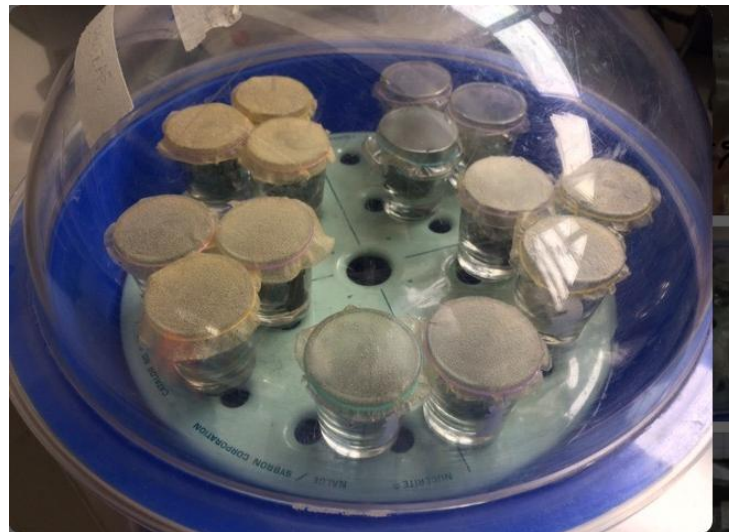
B)



Anexo D-14. Réplicas DE Sistemas elaborados con gel de sílica (10 g) y las películas biodegradables.
A) Control; B) 1% A.E; C) 2,5% A.E; D) 5% A.E; E) 10% A.E



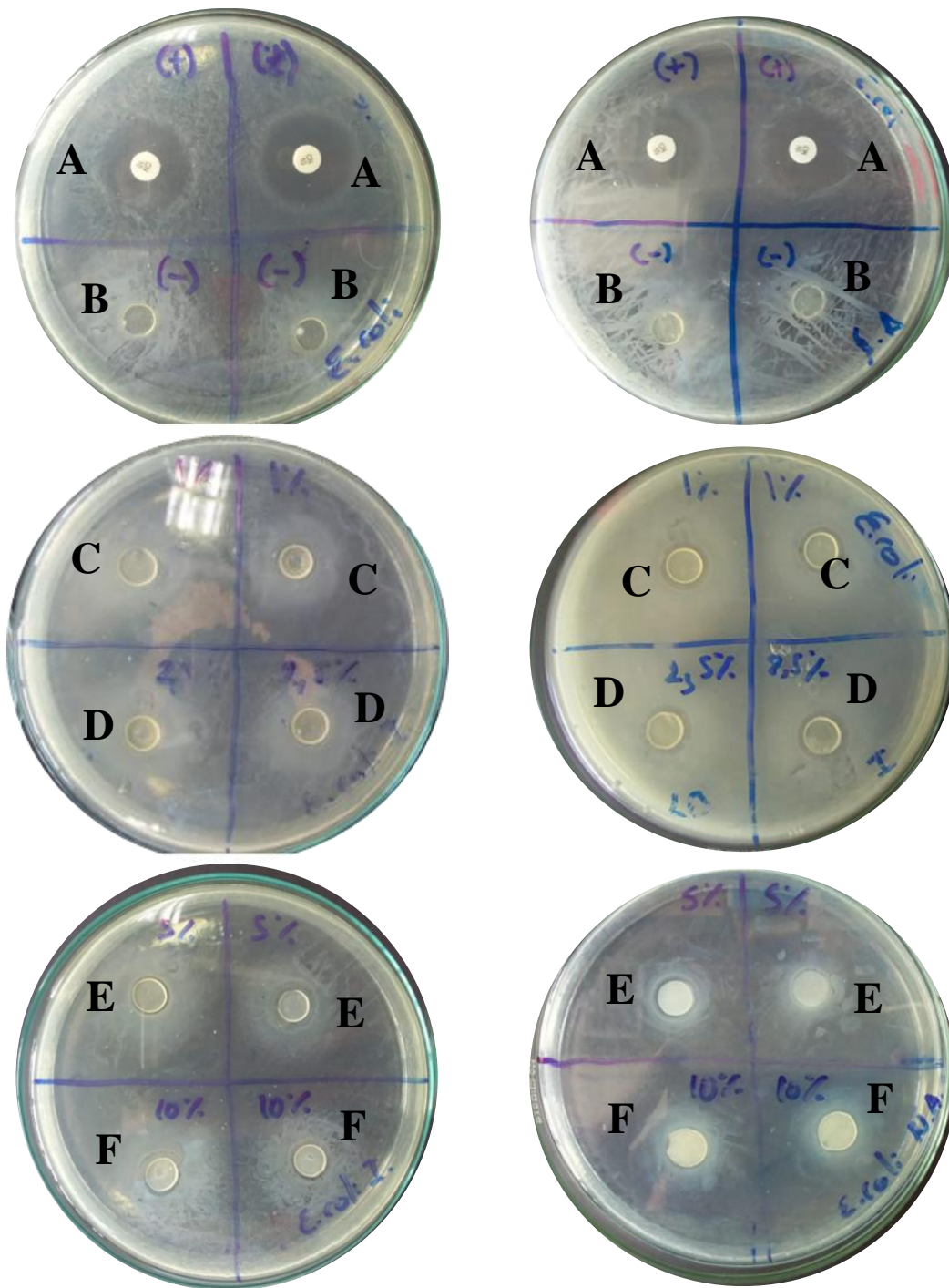
Anexo D-15. Conjunto de sistema de sistemas elaborados con gel de sílica (10 g) y películas con diferente concentración de aceite esencial.



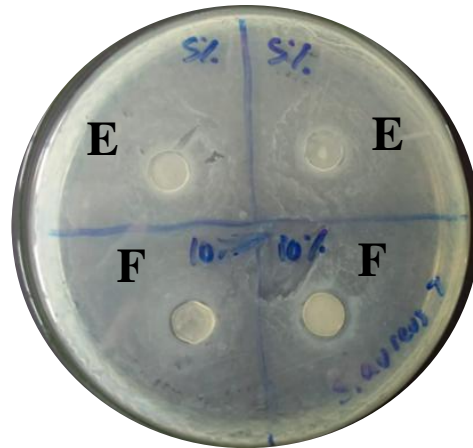
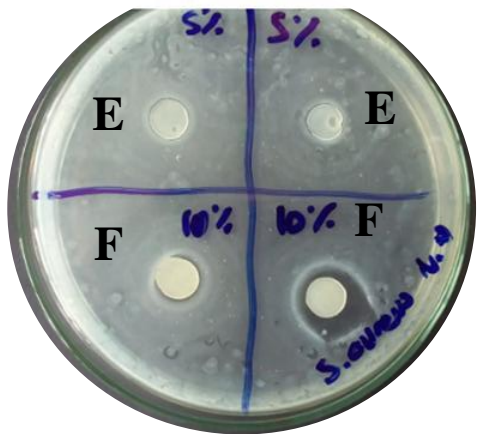
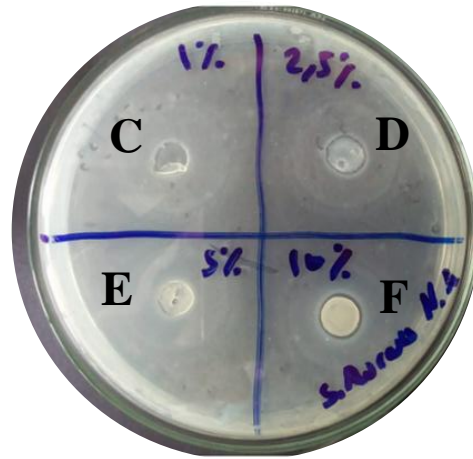
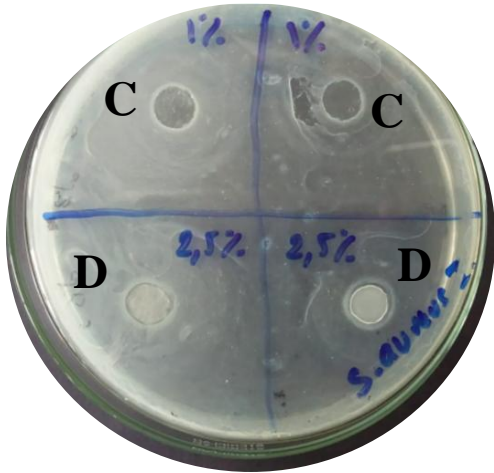
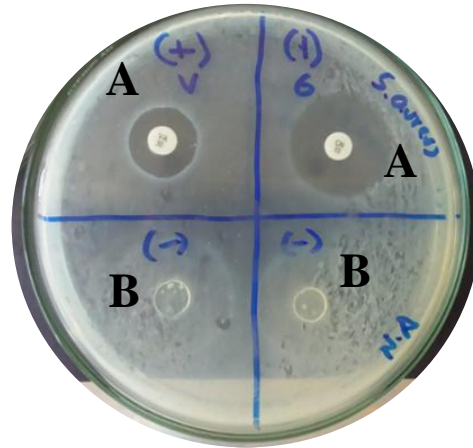
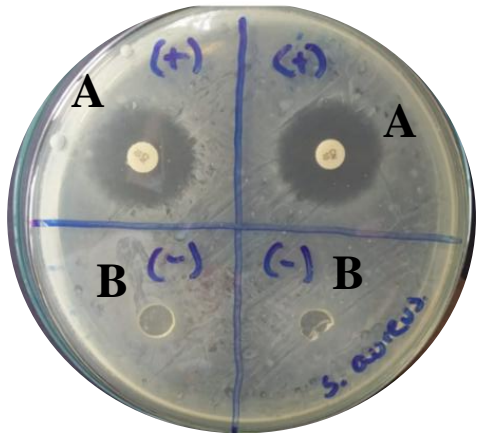
Anexo D-16. Conjunto de sistema de sistemas elaborados con gel de sílica (10 g) y películas con diferente concentración de aceite esencial, dentro del desecador con humedad relativa de 75%.

17. Halos de inhibición por los discos de las películas biodegradables contra *E. coli* (ATCC 11229). A) Control Positivo (Discos de Antibióticos); B) Control Negativo; C) 1% A.E; D) 2,5%; E) 5% A.E; F) 10% A.E

Halos de inhibición por los discos de las películas biodegradables contra *E. coli* (ATCC 11229). A) Control Positivo (Discos de Antibióticos); B) Control Negativo; C) 1% A.E; D) 2,5%; E) 5% A.E; F) 10% A.E



Anexo D-18. Halos de Inhibición exhibidos por los discos de las películas biodegradables contra *S. aureus* (ATCC 13150). A) Control Positivo (Discos de Antibióticos); B) Control Negativo; C) 1% A.E; D) 2,5%; E) 5% A.E; F) 10% A.E



ANEXO E

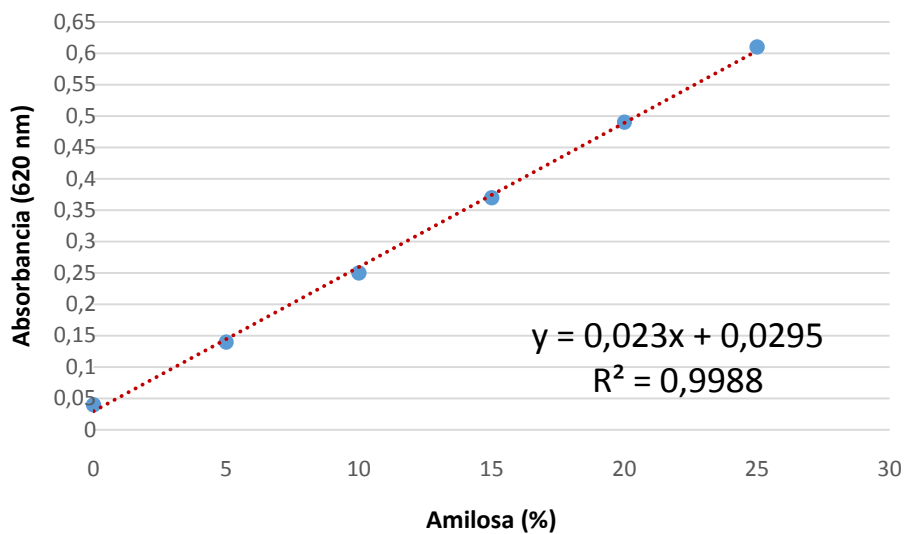
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AMILOSA Y AMILOPECTINA DEL ALMIDÓN DE YUCA

Anexo E-1. Conjunto de soluciones de calibración establecidos en la norma ISO 6647-1:2020.

Amilosa (ml)	Amilopectina (ml)	Solución de NaOH 0,09 M (ml)	Porcentaje de amilosa (%)	Absorbancia λ 620nm
-------------------------	------------------------------	---	--------------------------------------	---

0	18	2	0	0,04
1	17	2	5	0,14
2	16	2	10	0,25
3	15	2	15	0,37
4	14	2	20	0,49
5	13	2	25	0,61

Anexo E-2. Curva de Calibración del porcentaje de amilosa.



Anexo E-3. Calculo del porcentaje de amilosa y amilopectina del almidón de yuca.

Amilosa (%)

$$y = 0,023x + 0,0295$$

$$0,41 = 0,023x + 0,0295$$

$$x = \frac{0,41 - 0,0295}{0,023}$$

$$\text{Amilosa} = 16,543\%$$

$$\lambda \text{ 620nm Obtenido} = 0,41$$

Amilopectina (%)

$$\text{Amilopectina} = 100\% - \% \text{ Amilosa}$$

$$\text{Amilopectina} = 100\% - 16,543\%$$

$$\text{Amilopectina} = 83,457\%$$