

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



## FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

### CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

---

#### “UTILIZACIÓN DE HARINA DE PLÁTANO (*Musa balbisiana*), EN EL DESARROLLO DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES ACTIVAS”

---

Proyecto de trabajo de graduación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, bajo la modalidad de trabajo estructurado de manera independiente (TEMI), presentado como requisito a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Autor:** Gabriel Alejandro Moreno Toasa.

**Tutor (a):** Ing. MSc. Mirari Arancibia, PhD.

Ambato – Ecuador

2015

## APROBACIÓN DEL TUTOR (A)

Mirari Arancibia, PhD.

Siendo el Tutor (a) del Trabajo de Investigación realizado bajo el tema: “UTILIZACIÓN DE HARINA DE PLÁTANO (*Musa balbisiana*), EN EL DESARROLLO DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES ACTIVAS”, por el señor egresado Gabriel Alejandro Moreno Toasa; CERTIFICO que el estudio es idóneo y cumple con los requisitos de un trabajo de Investigación para ser sometido a la evaluación por parte de Tribunal de Grado designado por el Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

---

Ing. MSc. Mirari Arancibia, PhD.

## **AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

La responsabilidad del contenido del Proyecto de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente: “UTILIZACIÓN DE HARINA DE PLÁTANO (*Musa balbisiana*), EN EL DESARROLLO DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES ACTIVAS”, corresponde exclusivamente a Gabriel Alejandro Moreno Toasa y como patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

---

Gabriel Alejandro Moreno Toasa

AUTOR

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de Investigación bajo el tema: “UTILIZACIÓN DE HARINA DE PLÁTANO (*Musa balbisiana*), EN EL DESARROLLO DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES ACTIVAS”, ejecutado por el señor egresado Gabriel Alejandro Moreno Toasa; de acuerdo a las disposiciones emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Febrero de 2015

Para constancia firman:

---

Ing. Mg. Jaqueline Ortiz, PhD

---

Lcdo. Ignacio Echeverría, PhD

---

Ing. Mg. Liliana Acuario

## **DEDICATORIA**

### **A Dios y a la Virgencita de la Elevación**

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

### **A mi madre Mélida**

Por ser el pilar más importante el cual amo con mi vida, gracias por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, demostrándome que a pesar de las diversidades de la vida a logrado ser un excelente padre, madre y excepcional amiga, pero más que nada ha logrado llenarme de su infinito amor.

### **A mi padre Bayardo**

Por su gran ejemplo de perseverancia y constancia que lo caracteriza, y que a pesar de nuestra distancia, siento que estás conmigo siempre.

### **A mis familiares**

A mis queridos tíos: Homerito y Genito, por ser como unos padres para mí, apoyándome en todo momento, brindándome su cariño y comprensión. A mi primo David, por la gran lección de vida que me acabo de dar, el cual me demostró que la perseverancia, el esfuerzo y las ganas, hacen que la vida tenga sentido de vivirla y seguir adelante; a mi tía Elsitita y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de este trabajo de graduación.

¡Gracias a ustedes!

### **A katerin**

Por ser mi novia, amiga, confidente y acompañarme durante todo este arduo camino, pero sobre todo por compartir conmigo momentos llenos de alegría y fracasos.

### **A Carrie mi perrita**

Por todas esas noches eternas que estuvo junto a mi computador, brindándome cariño de la única forma inocente que lo hacen los animalitos. ¡Gracias por todo, nunca te olvidare!

### **A mis amigos**

Por ser como unos hermanos (as), siempre apoyándonos mutuamente en nuestra formación profesional y haciendo de esta un vínculo de amistad que trascenderá por años mis amigos: José Luis, Patricia, José, Diana, Gaby, Blanca, Verónica y Hannes.

A Vilma por haberme ayudado a realizar este trabajo.

Gabriel

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Universidad técnica de Ambato, en especial a la facultad de Ciencia e ingeniería en Alimentos, por haberme acogido y brindado toda la ayuda necesaria durante 6 maravillosos años, para convertirme en un excelente profesional de esta carrera que tanto me apasiona.

Un agradecimiento a la Unidad de investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA), al proyecto de Investigación Senior “Desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) de rechazo y su aplicación agroalimentaria” y es especial a su coordinadora, Ing. MSc. Mirari Arancibia, PhD. Quien se ha convertido en una segunda madre para mí, debido al gran apoyo, esfuerzo y dedicación brindado para el desarrollo de este trabajo de investigación. ¡Muchas gracias querida Mirari!

Un camino lleno de éxitos y satisfacciones está a punto de empezar.

Gabriel

## INDICE DE CONTENIDOS

<b>PORTADA</b> .....	<b>I</b>
<b>APROBACIÓN DEL TUTOR (A)</b> .....	<b>II</b>
<b>AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>III</b>
<b>APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO</b> .....	<b>IV</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>V</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>VII</b>
<b>CAPITULO I</b> .....	<b>1</b>
<b>EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Tema. ....	1
1.2. Planteamiento del problema. ....	1
1.2.1. Contextualización.....	1
Contextualización macro. ....	1
Contextualización meso.....	8
Contextualización micro.....	9
1.2.2. Análisis crítico. ....	10
1.2.3. Prognosis.....	11
1.2.4. Formulación del problema.....	11
1.2.5. Preguntas directrices. ....	12
1.2.6. Delimitación. ....	12
1.3. Justificación. ....	12
1.4. Objetivos.....	13
1.4.1. Objetivo General. ....	13



1.4.2. Objetivos Específicos.....	13
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>14</b>
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>14</b>
2.1. Antecedentes Investigativos. ....	14
2.2. Fundamentación Filosófica. ....	19
2.3. Fundamentación legal.....	20
2.4. Categorías Fundamentales.....	22
2.4.1. Marco Teórico de la Variable Independiente. ....	23
2.4.2. Marco Teórico de la variable Dependiente. ....	29
2.5. Hipótesis.....	29
2.5.1. Hipótesis nula. ....	29
2.5.2. Hipótesis alternativa.....	29
2.6. Señalamiento de variables.....	30
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>31</b>
<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>31</b>
3.1. Enfoque. ....	31
3.2. Modalidad básica de la investigación.....	31
3.3. Nivel o tipo de investigación.....	32
3.4. Método y técnicas de Investigación.....	33
3.4.1. Materia Prima. ....	33
3.4.2. Desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano ( <i>Musa balbisiana</i> ).....	33
Primera Capa.....	33
Segunda Capa.....	34

3.4.3. Caracterización de las películas.....	34
Propiedades físico-químicas de las películas biodegradables activas.....	34
3.4.4. Contenido de Materia seca y Humedad.....	34
3.4.5. Espectroscopia de Infrarrojo FTIR-ATR.....	35
3.4.6. Espesor.....	35
3.4.7. Propiedades mecánicas.....	35
3.4.8. Permeabilidad al vapor de agua.....	35
3.4.9. Solubilidad de las películas (SP).....	36
3.4.10. Resistencia al agua.....	36
Propiedades ópticas.....	37
3.4.11. Color.....	37
3.4.12. Barreras a la luz y transparencia (UV-VIS).....	37
Propiedades activas.....	37
3.4.13. Actividad antimicrobiana.....	37
Biodegradación.....	38
3.4.14. Caracterización del suelo.....	38
Contenido de humedad.....	38
Determinación del potencial de hidrógeno pH.....	38
Microorganismos del suelo.....	38
3.4.15. Ensayo enterrado.....	39
3.4.16. % Materia seca.....	40
3.4.17. Contenido de nitrógeno total en el suelo.....	40
3.4.18. Análisis estadístico.....	41

3.5.	Población y Muestra. ....	41
3.5.1.	Población.....	41
3.5.2.	Muestra.....	42
3.5.3.	Diseño Experimental.....	42
	Factores y niveles de estudio: Los factores y niveles de estudio se presentan en la Tabla 2.....	42
	Tratamientos. ....	42
3.6.	Operacionalización de variables. ....	43
3.7.	Recolección de información. ....	44
3.8.	Procesamiento y análisis. ....	44
	<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>45</b>
	<b>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>45</b>
4.1.	Análisis de los resultados.....	45
4.1.1.	Propiedades fisicoquímicas de las películas biodegradables activas.....	45
4.1.2.	Espesor de las películas.....	47
4.1.3.	Espectroscopia de infrarrojo FTIR-ART. ....	48
4.1.4.	Propiedades mecánicas. ....	55
	Propiedades de barrera al agua. ....	58
4.1.5.	Permeabilidad al vapor de agua (PVA). ....	58
4.1.6.	Solubilidad de las películas (SP).....	61
4.1.7.	Resistencia al agua.....	63
4.1.8.	Propiedades ópticas. ....	66
	Propiedades activas.....	70
4.1.9.	Actividad antimicrobiana.....	70

Biodegradación.....	71
4.1.10. Características de suelo.....	71
4.1.11. Ensayo de enterrado.....	72
4.2. Verificación de la hipótesis.....	77
<b>CAPÍTULO V .....</b>	<b>78</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>78</b>
<b>CAPÍTULO VI .....</b>	<b>79</b>
<b>PROPUESTA* .....</b>	<b>79</b>
6.1. Datos informativos.....	79
6.2. Antecedentes de la propuesta.....	79
6.3. Justificación .....	80
6.4. Objetivos.....	81
6.4.1. Objetivo General.....	81
6.4.2. Objetivos específicos .....	81
6.5. Análisis de factibilidad.....	82
6.6. Fundamentación.....	83
6.7. Metodología.....	85
6.8. Administración.....	87
6.9. Previsión de la evolución.....	88
6.10. Aplicación del sistema modelo.....	89
6.11. Conclusiones.....	95
6.12. Recomendaciones .....	95
<b>CAPÍTULO VII .....</b>	<b>96</b>

	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>96</b>
7.1.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
	<b>CAPÍTULO VIII.....</b>	<b>113</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>113</b>
8.1.	Hoja de cata para la evaluación sensorial del orito ( <i>Musa acuminata</i> AA).....	113
8.2.	Análisis del contenido de nitrógeno total en muestras de suelo inicial (día 0) y final (día 30), certificado a través del laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL). .....	114

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 2.** Capacidad de la producción de bioplásticos por región. Proyección para el año 2015 (*European bioplastics*, 2012). ..... 5
- Figura 4.** Exportación del banano en toneladas métricas (MAGAP, 2014)..... 24
- Figura 5.** Producción local de productos derivados del plátano (Rendon & Ayllón, 2009)..... 26
- Figura 6.** Estructura química del cineol y geraniol, componentes mayoritarios de los aceites esenciales de eucalipto y geranio. **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T. .... 28
- Figura 7.** Películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), utilizando la técnica de moldeo o “casting” en bicapa. .... 45
- Figura 8.** Espectros de infrarrojo de las películas biodegradables activas de harina de plátano (*Musa balbisiana*). Control (línea roja); AEs Geranio 0,5 % (línea violeta); AEs Geranio 1,0 % (línea fucsia), AEs Geranio 1,5 % (línea turquesa); AEs Eucalipto 0,5 % (línea verde); AEs Eucalipto 1,0 % (línea naranja); AEs Eucalipto 1,5 % (línea café). ..... 48
- Figura 9.** Ampliación de banda de las películas biodegradables activas. Control (línea roja); AEs Geranio 0,5 % (línea violeta); AEs Geranio 1,0 % (línea fucsia), AEs Geranio 1,5 % (línea turquesa); AEs Eucalipto 0,5 % (línea verde); AEs Eucalipto 1,0 % (línea naranja); AEs Eucalipto 1,5 % (línea café). ..... 49
- Figura 10.** Ampliación de banda de las películas biodegradables activas (harina de plátano). **A)** En el intervalo de longitud de onda de  $1170\text{ cm}^{-1}$  -  $900\text{ cm}^{-1}$ ; **B)** En el intervalo de longitud de onda de  $1700\text{ cm}^{-1}$  -  $1400\text{ cm}^{-1}$ . Control (línea roja); AEs Geranio 0,5 % (línea violeta); AEs Geranio 1,0 % (línea fucsia), AEs Geranio 1,5 % (línea turquesa); AEs Eucalipto 0,5 % (línea verde); AEs Eucalipto 1,0 % (línea naranja); AEs Eucalipto 1,5 % (línea café). ..... 50
- Figura 11.** Espectros comprendidos entre intervalo de longitud de onda de  $500\text{ cm}^{-1}$  -  $1500\text{ cm}^{-1}$ . Control (línea roja); AEs Geranio 0,5 % (línea violeta); AEs Geranio 1,0 % (línea fucsia), AEs Geranio 1,5 % (línea turquesa); AEs Eucalipto 0,5 % (línea verde); AEs Eucalipto 1,0 % (línea naranja) y AEs Eucalipto 1,5 % (línea café). ..... 52
- Figura 12.** Espectros de infrarrojo de las películas biodegradables activas en condiciones ambientales: **A)** En el intervalo de longitud de onda de  $2975\text{ cm}^{-1}$  -  $2850\text{ cm}^{-1}$ ; **B)** En el intervalo de longitud de onda de  $1065\text{ cm}^{-1}$  -  $975\text{ cm}^{-1}$ . Control (línea roja), Aceite esencial de geranio a concentración 0,5 % (línea violeta); concentración 1,0 % (línea fucsia) y concentración 1,5 % (línea turquesa). ..... 53

**Figura 13.** Espectros de infrarrojo de las películas biodegradables activas en condiciones ambientales: **A)** En el intervalo de longitud de onda de  $2972\text{ cm}^{-1}$  -  $2841\text{ cm}^{-1}$ ; **B)** En el intervalo de longitud de onda de  $1465\text{ cm}^{-1}$  -  $1303\text{ cm}^{-1}$ ; **C)** En el intervalo de longitud de onda de  $872\text{ cm}^{-1}$  -  $830\text{ cm}^{-1}$ . Control (línea azul), Aceite esencial de eucalipto a concentración 0,5 % (línea verde); concentración 1,0 % (línea naranja); concentración 1,5 % (línea café). ..... 54

**Figura 14.** Fuerza de Punción (N), siguiendo el método descrito por Arancibia (2014). **A:** Analizador de textura TA.XT2 plus + muestra (película). **B, C:** Proceso de punción de la película. **D:** Rotura de película..... 55

**Figura 15.** Fuerza de punción (N) de las películas biodegradables activas de harina de plátano (*Musa balbisiana*). Control (línea café); AEs Geranio 0,5 % (línea azul); AEs Geranio 1,0 % (línea rosado), AEs Geranio 1,5 % (línea amarillo); AEs Eucalipto 0,5 % (línea naranja); AEs Eucalipto 1,0 % (línea turquesa) y AEs Eucalipto 1,5 % (línea violeta). ..... 56

**Figura 16.** Permeabilidad al vapor de agua (PVA). **A:** Recipientes (película + gel de sílice). **B:** Desecador con agua destilada (100 % HR). **C:** PVA durante 1 hora. .... 58

**Figura 17.** Permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), donde **A:** Aceite esencial de geranio a 0,5 % de concentración; **B:** Aceite esencial de geranio a 1,0 % de concentración; **C:** Aceite esencial de geranio a 1,5 % de concentración; **D:** Aceite esencial de eucalipto a 0,5 % de concentración; **E:** Aceite esencial de eucalipto a 1,0 % de concentración; **F:** Aceite esencial de eucalipto a 1,5 % de concentración; y **G:** Muestra control. .... 59

**Figura 18.** Solubilidad al agua (SP) según el método descrito por Arancibia (2014). **A:** Control y películas activas ( $4\text{cm}^2$ ). **B, C:** Estabilidad de las muestras durante el ensayo; **D:** Muestras después del proceso de secado a  $105\text{ }^\circ\text{C}$  por 24 horas. .... 62

**Figura 19.** Resistencia al agua según el método descrito por Blanco-Pascual et al. (2013). **A:** Recipiente + muestras (películas). **B:** Filtración de agua..... 64

**Figura 20.** Espacio tridimensional de color CIELAB (López, 2011). ..... 67

**Figura 21.** Parámetros de color: **A:** Luminosidad ( $L^*$ ); **B:** rojo-verde ( $a^*$ ); **C:** amarillo-azul ( $b^*$ ); **D:** Índice de amarillez; **E:** Brillo, de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control). ..... 69

**Figura 23.** Proceso de enterrado de las películas biodegradables activas. **A:** Muestra de suelo. **B:** Incorporación de malla separadora. **C:** Película + Malla separadora. **D:** Enterrado de películas. **E:** Proceso de biodegradación (30 días). ..... 73

**Figura 25.** Pérdida de peso [%] de las películas activas enterradas a temperatura ambiente en el suelo con luz natural y riego. Control (Negro); AEs Geranio 0,5 % (Azul); AEs Geranio 1,0 % (Rojo), AEs Geranio 1,5 % (Verde); AEs Eucalipto 0,5 % (Amarillo); AEs Eucalipto 1,0 % (Turquesa); AEs Eucalipto 1,5 % (Púrpura). ..... 75

**Figura 26.** Suelo durante el proceso de biodegradación de las películas biodegradables activas de plátano (*Musa balbisiana*). ..... 76

**Figura 27.** Elaboración de las fundas biodegradables activas, utilizando la técnica desellado por impulso. .... 89

**Figura 28.** Evaluación sensorial del orito (*Musa acuminata* AA), envasado con fundas biodegradables activas. .... 90

**Figura 29.** Evaluación sensorial del orito (*Musa acuminata* AA), envasado con fundas biodegradables activas vs. Tiempo de almacenamiento (días). Funda plástica sintética (azul), funda biodegradable “Sin aceite esencial” (rojo) y funda biodegradable activa “con aceite esencial “eucalipto” (verde). ..... 91

**Figura 30.** Log (UFC/g) mohos y levaduras vs. Tiempo de almacenamiento (días), para envasado de orito (*Musa acuminata* AA) con fundas plásticas sintéticas “control” (azul), fundas biodegradables “Sin aceite esencial” (Rojo) y fundas biodegradables activas “Aceite esencial eucalipto” (verde). Norma Codex Alimentarius CAC/GL-21(1997): Límite min. (Línea naranja) y Límite máx. (Línea violeta). ..... 93



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> <i>Temperatura y humedad (máxima y mínima) en Ambato durante los meses de Enero y Febrero del 2014.</i> .....	39
<b>Tabla 2.</b> <i>Desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (Musa balbisiana).</i> .....	42
<b>Tabla 3.</b> <i>Correlación de los diferentes tratamientos para las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).</i> .....	42
<b>Tabla 4.</b> <i>Operacionalización de variables.</i> .....	43
<b>Tabla 5.</b> <i>Porcentaje de humedad (%H) en las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).</i> .....	46
<b>Tabla 6.</b> <i>Espesor (mm) de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).</i> .....	47
<b>Tabla 7.</b> <i>Fuerza de resistencia a la punción (N) de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).</i> .....	57
<b>Tabla 8.</b> <i>Permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).</i> .....	60
<b>Tabla 9.</b> <i>Solubilidad (SP) de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).</i> .....	63
<b>Tabla 10.</b> <i>Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (Musa balbisiana) con AEs de geranio a una concentración del 0,5 % p/v.</i> 64	
<b>Tabla 11.</b> <i>Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (Musa balbisiana) con AEs de geranio a una concentración del 1,0 % p/v.</i> 65	
<b>Tabla 12.</b> <i>Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (Musa balbisiana) con AEs de geranio a una concentración del 1,5 % p/v.</i> 65	

<b>Tabla 13.</b> Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano ( <i>Musa balbisiana</i> ) con AEs de eucalipto a una concentración del 0,5 % p/v. .....	65
<b>Tabla 14.</b> Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano ( <i>Musa balbisiana</i> ) con AEs de eucalipto a una concentración del 1,0 % p/v. .....	65
<b>Tabla 15.</b> Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano ( <i>Musa balbisiana</i> ) con AEs de eucalipto a una concentración del 1,5 % p/v. .....	66
<b>Tabla 16.</b> Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano ( <i>Musa balbisiana</i> ) sin AEs “Control”.....	66
<b>Tabla 17.</b> Actividad antimicrobiana cualitativa de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).....	70
<b>Tabla 18.</b> Características del suelo: humedad, pH, microbiología (recuento total) y contenido de nitrógeno total. ....	72
<b>Tabla 19.</b> Contenido de nitrógeno total [%] para la muestra de suelo .....	76
<b>Tabla 20.</b> Costes de la investigación.....	82
<b>Tabla 21.</b> Modelo Operativo (Plan de acción). ....	86
<b>Tabla 22.</b> Administración de la propuesta. ....	87
<b>Tabla 23.</b> Previsión de la evolución.....	88
<b>Tabla 24.</b> Envasado de oritos ( <i>Musa acuminata</i> AA) y su tiempo de almacenamiento (días).....	92

## CAPITULO I

### EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1. Tema.

“UTILIZACIÓN DE HARINA DE PLÁTANO (*Musa balbisiana*), EN EL DESARROLLO DE PELÍCULAS BIODEGRADABLES ACTIVAS”

#### 1.2. Planteamiento del problema.

Uso generalizado de plásticos sintéticos durante el recubrimiento de frutas en el Ecuador.

##### 1.2.1. Contextualización.

###### Contextualización macro.

Los plásticos son sustancias sintéticas formadas por macro moléculas orgánicas llamadas polímeros. Los plásticos tradicionales, cuya producción mundial anual representa aproximadamente 140 millones de toneladas, son fabricados a partir de productos que tienen como base el petróleo (CIMD, 2007). Estos plásticos se producen a partir de resinas obtenidas de diversas formas: granuladas, en polvo, líquidas o en pasta. La industria del plástico moldea estas resinas mediante la aplicación de calor para lograr el producto terminado (Manual de gestión integral, 2012). Entre las resinas más utilizadas se encuentran el polietileno tereftalato (PET), el polietileno de alta densidad (PEAD) y de baja densidad (PEBD), el cloruro de polivinilo (PVC), el polipropileno (PP) y el poli estireno (PS) (Mars & Bugusu, 2007).

En los últimos años, los plásticos sintéticos han sufrido un vertiginoso cambio debido a las buenas características fisicoquímicas y bajos costos. Sin embargo, luego de su uso, el plástico es desechado, contaminando en gran medida el ambiente (Xiao *et al.*, 2009).

La resistencia y durabilidad del plástico, asociada a su utilización masiva, constituyen un problema en el manejo de los residuos. Así, la difícil degradación del plástico es considerada en gran parte responsable de la contaminación ambiental (Villalva *et al.*, 2008). Las sociedades industrializadas producen cantidades considerables de diversos materiales de los cuales la mayoría culminan su vida útil como desecho, especialmente aquellos de naturaleza sintética como los plásticos (Allsop *et al.*, 2007). En el mundo existen enormes depósitos de basura que incluyen toneladas de plásticos que no se degradan por medio de procesos naturales. La biodegradación es un proceso mediante el cual los microorganismos del suelo, como bacterias y hongos, descomponen en sustancias más sencillas los materiales presentes en los plásticos. Por ejemplo, una manzana tarda en ser degradada alrededor de 5 días, mientras que un envase plástico tardará alrededor de 300 años (Kyrikou & Briassoulis, 2007).

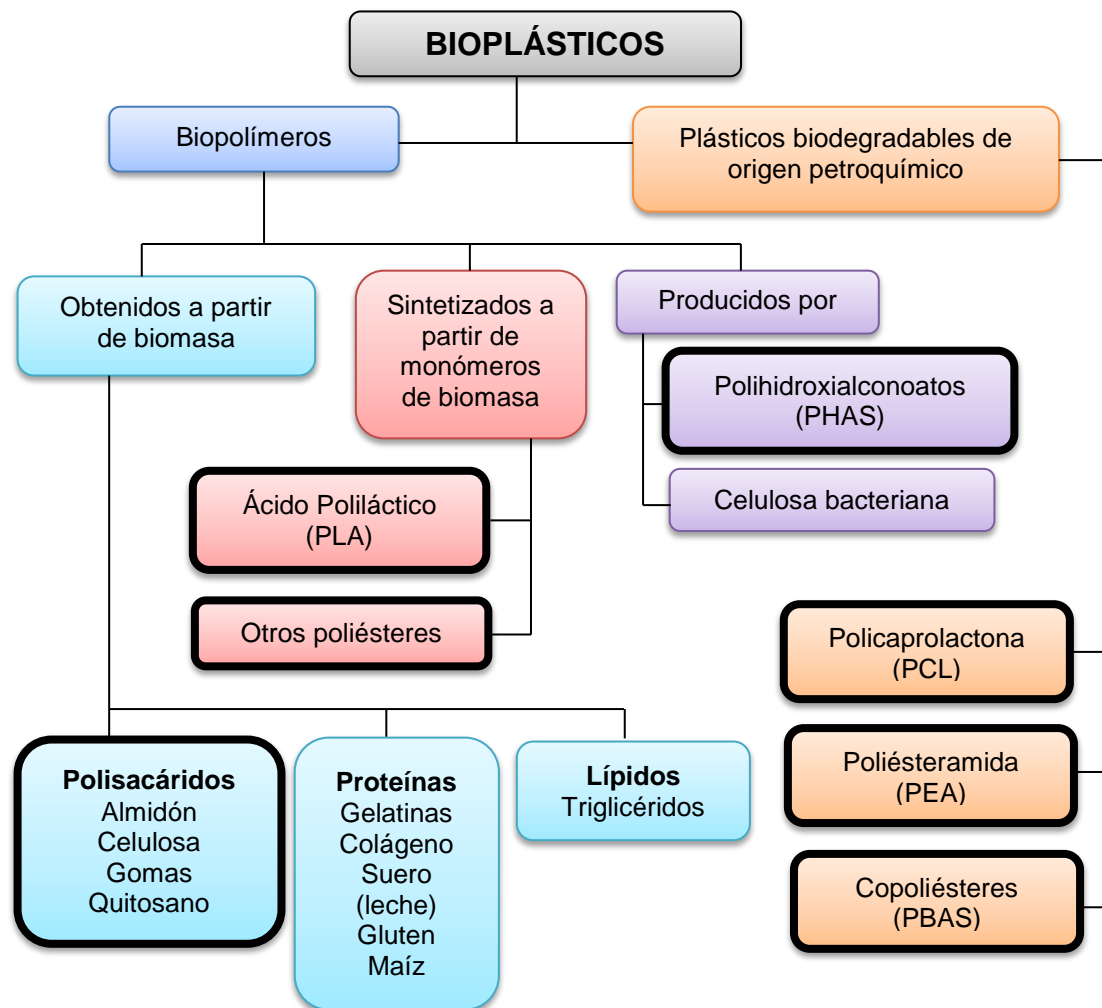
Los plásticos representan entre el 20 % y 40 % en volumen de los desechos sólidos municipales en los países industrializados, convirtiéndose de esta forma, en uno de los principales generadores de desechos no orgánicos responsables de la contaminación del aire, suelos y océanos del mundo. Se estima que una persona descarta alrededor de dos kilogramos de basura por día, donde alrededor del 10 % son plásticos, fundamentalmente envases y embalajes (Ruíz, 2006).

El Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA, 2012), estimó un valor aproximado de 13.000 fragmentos plásticos flotando sobre cada kilómetro cuadrado del océano. Por otro lado, Allsop *et al.* (2007), en su estudio sobre la contaminación del plástico en los océanos estableció que se conocen

al menos 267 especies de animales diferentes, entre ellas, aves, tortugas, leones marinos, ballenas y peces, que han ingerido desechos plásticos.

Una alternativa ecológica, ante esta problemática, es el empleo de polímeros naturales, los cuales son susceptibles de degradarse en menor tiempo, en comparación con polímeros sintéticos (Arancibia *et al.*, 2014). Materiales como polisacáridos y proteínas poseen buenas propiedades mecánicas y de barrera (Xiao *et al.*, 2009). El término bioplásticos y plásticos biodegradables difieren y de ser empleados de forma incorrecta podrían distorsionar su naturaleza y condiciones de aplicación. Un bioplástico es aquel que puede estar elaborado con base en material biológico (biomasa) o es biodegradable o bien cumple con estas dos características (European bioplastics, 2012). Por otro lado un plástico biodegradable es un polímero producido por síntesis química clásica utilizando monómeros biológicos de fuentes renovables (Pacheco, 2015). Para desarrollar un bioplástico, la estructura química debe permitir la degradación del material por microorganismos como hongos y bacterias. En tal sentido, los bioplásticos son innovaciones tecnológicas capaces de mejorar el impacto medioambiental. Algunos estudios demuestran que los bioplásticos pueden reducir las emisiones de dióxido de carbono entre un 30 % a 70 % en comparación con los plásticos convencionales (Diaz & Hurtatiz, 2012).

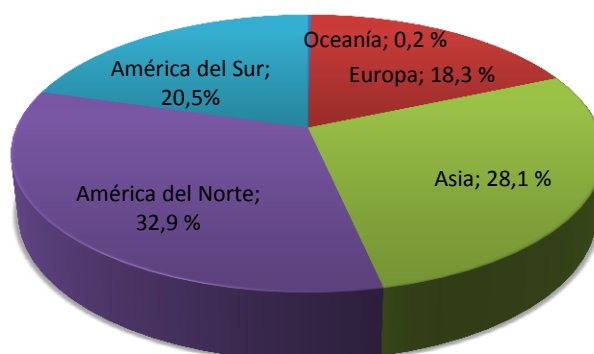
Las clasificaciones más rigurosas consideran un material plástico como bioplástico únicamente en función de su procedencia, sea está a partir de fuentes fósiles (derivados del petróleo) o de materias primas naturales, en cuyo caso se denomina biopolímero (Remar, 2011). Asimismo, de acuerdo con la norma de la Sociedad Americana para Pruebas o Ensayos de Materiales, American Society for Testing and Materials – (ASTM D6400-04), un plástico biodegradable es aquel que sufre degradación natural por acción de microorganismos como bacterias, hongos y algas. En la Figura 1 se muestra la clasificación de los bioplásticos, atendiendo a su origen y su relevancia a nivel comercial. Se destacan aquellos que tienen mayor relevancia industrial.



**Figura 1.** Clasificación de los bioplásticos según el origen de su materia prima (Remar, 2011).

La producción de plásticos biodegradables a partir de fuentes naturales ha estado a cargo de empresas multinacionales en países desarrollados desde hace aproximadamente 20 años. Las primeras investigaciones se orientaron hacia la búsqueda de sustitutos de los plásticos procedentes del petróleo que presenten propiedades similares. Sin embargo, en la actualidad y con el empleo de la biotecnología, se han obtenido bioplásticos mucho más sofisticados que incluso están siendo aplicados en sectores como la biomedicina y la nanotecnología (Díaz & Hurtatiz, 2012).

La fabricación de bioplásticos es aun limitada, representa menos del 1,0 % de la producción mundial de plásticos y su precio es de dos a tres veces superior que los plásticos sintéticos tradicionales, por este motivo los artículos fabricados con estos polímeros biodegradables pueden llegar a costar hasta diez veces más que los plásticos convencionales (INTI, 2008). No obstante European Bioplastics (2012), sostiene que el mercado global de los bioplásticos (biodegradables y no biodegradables) alcanzó las 725 mil toneladas métricas en el año 2010 y se espera que alcance 1,7 millones de toneladas métricas en el año 2015, con lo cual se estima que la producción mundial de bioplásticos se incremente más de un 20 % para el año 2015. En la Figura 2, se ilustra la proyección de la producción de bioplásticos por región para el año 2015.



**Figura 2.** Capacidad de la producción de bioplásticos por región. Proyección para el año 2015 (European bioplastics, 2012).

Los principales mercados de bioplásticos son los de Europa, Japón, EE.UU., y en últimos años han destacado empresas de Australia, China, India, Canadá, Corea, Brasil y Taiwán. En Francia, por ejemplo, varias empresas azucareras, universidades e institutos de investigación trabajan en el desarrollo de plásticos biodegradables a partir de azúcares o cereales con la finalidad de disminuir los costos que supone la fabricación de estos materiales (Diaz & Hurtatiz, 2012).

En la actualidad, existe mucho interés por el desarrollo de polímeros biodegradables obtenidos de recursos naturales renovables, debido a que la mayoría de los polímeros sintéticos tradicionales son inertes al ataque microbiano (Villalva *et al.*, 2008) y son un gran problema para el medio ambiente por su deficiente degradación (García, 2008).

El desarrollo de películas y recubrimientos comestibles ha tomado mucha importancia debido a que el uso de estos materiales permite aumentar la vida de anaquel, mejorar las propiedades organolépticas y reducir el uso de materiales de embalaje no degradables en muchos productos alimenticios (Sharma & Singh, 2009; Xu *et al.*, 2011). El empleo de películas o recubrimientos sobre la superficie de frutos y vegetales puede retardar la deshidratación, modificar el intercambio gaseoso ( $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$ ) y prevenir la pérdida de sustancias aromáticas. La efectividad de estos materiales depende en gran medida de su composición, proceso de formación y el método de aplicación en el producto (Martínez-Ferrer *et al.*, 2002).

Se han utilizado polisacáridos, proteínas y lípidos como materias primas en la fabricación de películas y recubrimientos comestibles (Cisneros & Krochta, 2003). Sin embargo, los materiales elaborados con un solo componente presentan pobres propiedades de barrera y/o mecánicas, dependiendo del tipo de biopolímero utilizado. Para contrarrestar estas deficiencias, es necesario emplear mezclas de entre 2 o más componentes con la finalidad de mejorar las propiedades y características del material resultante (Diab *et al.*, 2001). Los materiales de relleno y refuerzo se adicionan a las formulaciones para dar “cuerpo”, consistencia o volumen a la mezcla, biodegradación, elasticidad, rigidez, resistencia y otros. Entre los materiales reportados se encuentran: materiales basados en celulosa, gomas, polímeros derivados de plantas y de animales (proteínas y otros) (Bastioli *et al.*, 1999; Famá *et al.*, 2007). Adicionalmente, el uso de un agente plastificante mejora en gran medida la flexibilidad y elasticidad de películas comestibles (Dutta *et al.*, 2009).



En términos estructurales, los plastificantes son insertados en la matriz polimérica, incrementando el espacio libre entre las cadenas y provocando una disminución de las fuerzas intermoleculares a lo largo de la matriz (Pérez & Báez, 2003).

Muchos de los polímeros naturales son degradables, el almidón, por ejemplo, ha recibido gran atención en los últimos años, ya que es un material termoplástico que posee buenas propiedades mecánicas y de barrera (Xiao *et al.*, 2009). Las propiedades de los almidones nativos se pueden mejorar por medio de modificaciones químicas, facilitando así propiedades de adhesión y formación de películas y a su vez lograr mayor resistencia de los almidones a la disminución de viscosidad por la adición de ácidos, temperatura y acción mecánica (esfuerzo cortante), disminución de la tendencia a la retrodegradación y en el carácter iónico hidrofílico (Bastioli *et al.*, 1996; Carvalho *et al.*, 2003; Tomka, 1998). Su capacidad de gelificar permite moldearlo y formar películas (Rimsa & Tatarka, 2009). Según Andersen & Hodson (2001), éste puede provenir del maíz, papa, trigo, sorgo, yuca, caña, entre otros y puede encontrarse en concentraciones entre el 30 % y el 70 % de la composición polimérica (Tomka, 1998). El almidón puede usarse en su estado nativo o modificado.

Existen pocos estudios en los cuales se han desarrollado películas comestibles a partir de harina de plátano, tanto en monocapa como en bicapa, y además con la incorporación de aceites esenciales. En este sentido Sothornvit & Pitak (2007), evaluaron únicamente la permeabilidad al oxígeno y las propiedades mecánicas en películas desarrolladas en monocapa con harina de plátano. Por otro lado, Arancibia *et al.* (2014), evaluaron la liberación de compuestos volátiles y biodegradación de películas activas de proteína de soya y lignina en bicapa incorporadas con aceite esencial de citronela. También se han realizado estudios sobre la optimización de las condiciones de proceso para la producción de películas basadas en la cáscara de plátano (*Musa paradisiaca*) en donde se

realizó una evaluación de las propiedades mecánicas de las películas como permeabilidad al vapor de agua y solubilidad, además de análisis microbiológicos con cultivos bacterianos de *Listeria innocua* y *Staphylococcus aureus* (Franciele *et al.*, 2013).

### **Contextualización meso.**

En América Latina, el mercado de bioplásticos está liderado por Brasil y México, países emergentes en la producción de estos materiales y cuya demanda proyecta significativos ascensos en comparación con los de Europa y EE.UU. Los bioplásticos están siendo utilizados en empaques para alimentos y plásticos de uso agrícola. En Brasil existen fuentes renovables como el azúcar de caña que son económicas y que pueden ser utilizadas para producir bioplásticos de bajo precio. En México el mercado de los bioplásticos se encuentran en una etapa de crecimiento con una tasa de expansión anual promedio mayor al 20 % (Díaz & Hurtatiz, 2012).

El incremento de material de desecho no biodegradable y la dificultad en el reciclado de la mayor parte de los envases sintéticos disponibles, han fomentado la investigación y desarrollo de nuevos materiales biodegradables que sean adecuados para el envasado. Por tal motivo, la fabricación de plásticos biodegradables a partir de materiales naturales representa un campo que está generando investigaciones y nuevas tendencias en el mercado. Aspectos como el ahorro de los recursos no renovables (petróleo) y la no contaminación ambiental constituyen razones de interés para el desarrollo industrial sostenible (Davis & Song, 2006; Marsh & Bugusu, 2007).

Varios polímeros naturales tales como proteínas y polisacáridos tienen aplicación potencial en la producción de envases respetuosos con el medio ambiente (Chandra & Rustgi, 1998; Krochta & De Mulder–Johnston, 1997). Entre los polisacáridos, el almidón es el más utilizado en la elaboración de películas, debido a su bajo costo y la abundancia en la naturaleza. Varios

estudios han informado sobre el uso del almidón a partir de diferentes fuentes en la preparación de películas y recubrimientos con propiedades diversas (Alves *et al.*, 2007; Avérous *et al.*, 2001; Malí *et al.*, 2004; Müller *et al.*, 2008). Sin embargo, existen pocos estudios sobre la utilización de harinas como materia prima para la producción de películas. El uso de mezclas de recursos naturales obtenidas directamente a partir de fuentes agrícolas parece ser una nueva fuente de material para el desarrollo de películas biodegradables (Tapia-Blacido *et al.*, 2005).

### **Contextualización micro.**

En Ecuador, la industria de los plásticos ha tenido un progresivo desarrollo desde sus inicios, aportando soluciones para el hogar, la agricultura y productos complementarios para otras industrias, siendo el polivinil cloruro (PVC) la materia prima por excelencia, además de otros polímeros. Por sus características de maleabilidad y su bajo costo, este material se convirtió rápidamente en una solución para un sinnúmero de actividades y productos; no obstante en los últimos años ha surgido una polémica por su alto impacto ambiental y escasa degradación aproximadamente de 300 años, por lo que existe un consenso en cuanto a desarrollar plásticos biodegradables con similares características a los plásticos sin generar un impacto ambiental significativo (De la Torre *et al.*, 2005). Se estima que el 56 % de estos residuos plásticos se utilizan para el envasado (Wasteonline, 2008). La eliminación y reciclaje de las bolsas plásticas es difícil y por lo tanto, tiene un impacto ambiental significativo, crean problemas de contaminación visual y pueden tener efectos nocivos sobre el ambiente, ya que no se degradan y tardan años en descomponerse.

Una fuente interesante renovable para la producción de materiales comestibles y biodegradables es la harina de plátano ya que puede ser producida a partir de plátano verde, a un bajo costo que reduce la pérdida por deterioro en la

temporada de abundancia (Zhand *et al.*, 2005). Esta harina tiene un alto contenido de almidón (más de 70 % de peso seco). Esto se debe a que su almidón nativo contiene aproximadamente 36,2 % de amilosa (Espinosa *et al.*, 2009), que es el componente principal del almidón que a su vez es responsable del desarrollo de películas comestibles y biodegradables (Dangaran *et al.*, 2006).

Las películas y recubrimientos comestibles son capas delgadas aplicadas en los productos alimenticios que juegan un papel importante en su conservación, distribución y comercialización. Algunas de sus funciones son: proteger el producto contra daños mecánicos, físicos, químicos y microbiológicos. Su aplicación en alimentos, especialmente en productos altamente perecederos, se basa en algunas propiedades particulares, como el costo, la disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas (flexibilidad, tensión), propiedades ópticas (brillo y opacidad), el efecto barrera contra el flujo de los gases, resistencia estructural al agua y a los microorganismos y la aceptabilidad sensorial (Falguera *et al.*, 2011). Una película comestible puede ser activa cuando se incorporan productos químicos, enzimas o microorganismos que eviten, por ejemplo, el crecimiento microbiano o la oxidación lipídica. En este sentido los aceites esenciales, en combinación con polímeros estructurales, puede ser una fuente prometedora no solo por su efectividad como compuestos antimicrobianos sino también por sus propiedades antioxidantes (Atares *et al.*, 2010; Sánchez-González *et al.*, 2010).

### **1.2.2. Análisis crítico.**

A continuación se realiza un análisis de problemas el cual es una de las herramientas fundamentales en la planificación de proyectos. En la Figura 3 se realizó el análisis de este árbol de problemas, el cual ayuda a encontrar soluciones a través del mapeo del problema identificándose en la parte superior las consecuencias o efectos y en la parte inferior, las causas o determinantes.

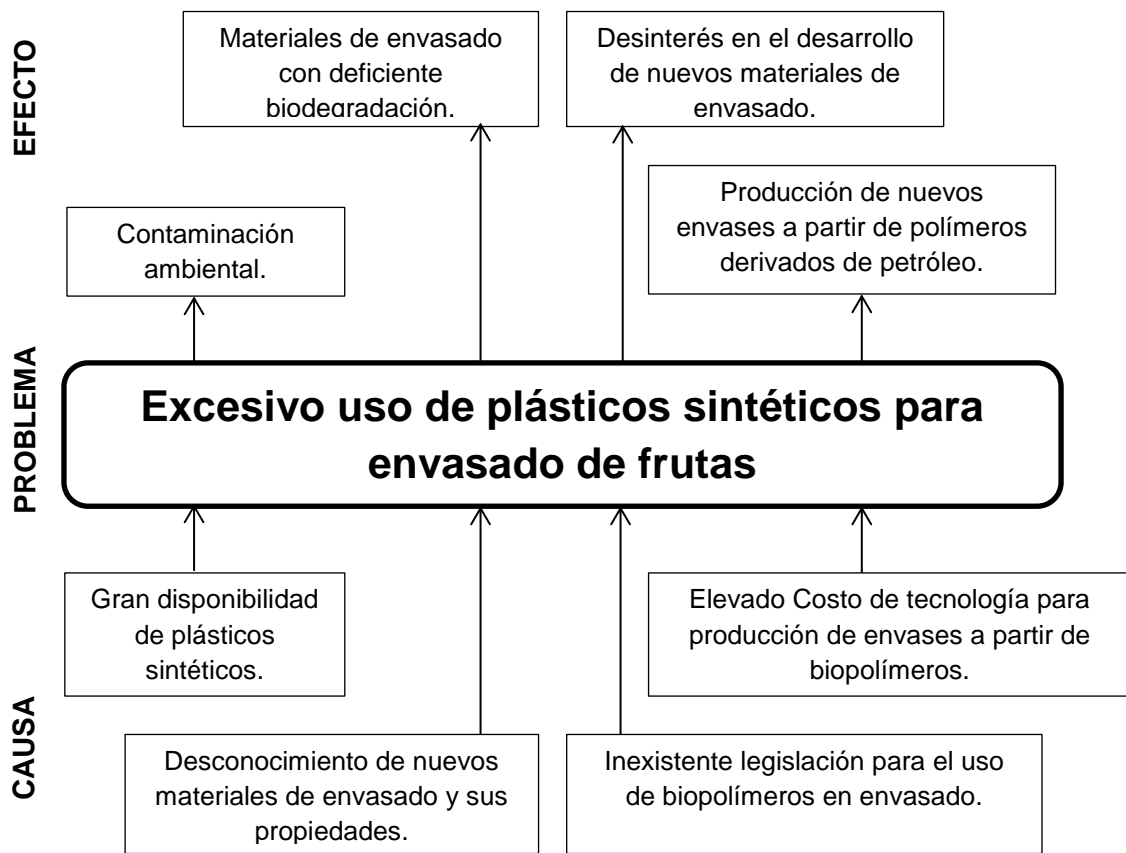


Figura 3. Árbol de problemas. Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

### 1.2.3. Prognosis.

De no ejecutarse la investigación planteada sobre la elaboración de películas activas biodegradables a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), el problema de contaminación ambiental iría en aumento.

### 1.2.4. Formulación del problema.

¿Se puede utilizar harina de plátano como alternativa al uso de plásticos sintéticos en el desarrollo de películas activas biodegradables y favorecer el envasado?

### 1.2.5. Preguntas directrices.

- ¿Cómo se desarrollaría películas activas biodegradables a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), incorporadas con aceite esencial de geranio (*Pelargonium graveolens*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*)...?
- ¿De qué manera se establece la actividad biológica de las películas activas...?
- ¿Cuál será el tiempo de biodegradación de las películas activas...?
- ¿Qué efecto tendrán las películas biodegradables activas al ser aplicadas en frutas...?

### 1.2.6. Delimitación.

En la delimitación del problema se consideró los códigos para los campos de las ciencias y las tecnologías establecidos por la UNESCO (2013).

**Área:** Tecnología de los Alimentos (3309).

**Sub-área:** Conservación (3309.91, 3303.13).

**Sector:** Banano.

**Aspecto Específico:** Elaboración de películas biodegradables activas.

**Delimitación Temporal:** Julio del 2013 hasta Diciembre del 2014.

**Delimitación Espacial:** Territorio ecuatoriano (sector Banano).

### 1.3. Justificación.

El envase en un alimento tiene como función principal preservar y proteger al producto que contiene para así poder extender su vida útil. El creciente interés en los alimentos procesados de alta calidad y menor impacto ambiental ha llevado a la industria de alimentos a buscar diversas alternativas para satisfacer las demandas del consumidor.

Con el incremento de exigencias por parte de los consumidores, la industria alimentaria ecuatoriana ha tomado conciencia sobre la importancia medioambiental que generan los desechos de plásticos sintéticos utilizados por su bajo costo y versatilidad. Como alternativa a esta problemática, se plantea desarrollar películas biodegradables activas elaboradas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), materia prima que normalmente se genera como producto del gran porcentaje de rechazo que tiene el banano debido a las grandes exigencias de exportación.

#### **1.4. Objetivos.**

##### **1.4.1. Objetivo General.**

- Desarrollar películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*).

##### **1.4.2. Objetivos Específicos.**

- Determinar las propiedades fisicoquímicas y actividad biológica de las películas biodegradables activas elaboradas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), incorporadas con aceite esencial de geranio (*Pelargonium graveolens*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*).
- Establecer el tiempo de biodegradación de las películas activas.
- Aplicar las películas biodegradables activas en frutas.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes Investigativos.

Debido a problemas ecológicos generados por el uso y la disposición final de los materiales de empaque comunes que proceden del petróleo, actualmente se investiga la elaboración de películas a partir de polisacáridos o proteínas las cuales presenta propiedades mecánicas y de barrera a los gases adecuados, pero muestra bajas propiedades de barrera al vapor de agua. En contraste, las películas elaboradas a partir de lípidos tienen una baja permeabilidad a la humedad, pero sus propiedades mecánicas son limitadas. Si estos ingredientes son combinados pueden interactuar física o químicamente para producir películas o cubiertas compuestas con mejores propiedades (Diab *et al.*, 2001).

Algunos investigadores han evaluado diferentes métodos para modificar el almidón (Sánchez-Rivera & Bello-Pérez, 2008; Guerra-Della Valle *et al.*, 2008; Rivas-González *et al.*, 2009) y utilizarlo como materia prima para la elaboración de material de envasado biodegradables, debido a que es una fuente natural renovable, económica y altamente disponible (Lourdin *et al.*, 1995). La funcionalidad del almidón se debe en gran parte a sus dos componentes de alto peso molecular: la amilosa y la amilopectina (French, 1984). La amilosa es la responsable de la capacidad de formación de películas. El contenido de amilosa en el almidón de plátano es alrededor de 35 % (Bello-Pérez *et al.*, 1999) y ha sido utilizado para elaborar películas con el almidón nativo de plátano (Romero-Bastidas *et al.*, 2005) y oxidado (Zamudio-Flores *et al.*, 2007).



Romero-Bastida *et al.* (2005), obtuvieron películas con almidón de plátano y mango a los cuales caracterizaron sus propiedades mecánicas, fisicoquímicas y micro estructurales. En este estudio observaron que el almidón de plátano presentó mayor contenido de amilosa y en consecuencia, las películas mostraron mayor tensión a la fractura.

Zamudio-Flores *et al.* (2007), indicaron que la modificación química del almidón de plátano con hipoclorito de sodio aumenta las propiedades mecánicas de las películas. Sin embargo, al ser incluido un sustituyente hidrofílico, la permeabilidad al vapor de agua se incrementa, aunque esta característica se controla con la adición de aceite de girasol. Este tipo de almidón se describió como adecuado para elaborar películas con matrices homogéneas, con estructuras estables a condiciones ambientales (25 °C, 57 % HR), y pueden ser prometedoras en la conservación postcosecha de frutas y vegetales. Lo anterior se debe a que estos alimentos siguen respirando aún después de cosechados, por lo que es necesario que tengan un intercambio gaseoso entre el producto y el empaque. Los plásticos convencionales tienen una permeabilidad al vapor de agua y a los gases muy baja, por lo que no permiten respirar al fruto o vegetal, y pueden causar que éstos se descompongan. En cambio, la transferencia al vapor de agua y gases en el empaque biodegradable es mayor, lo cual permite al fruto respirar de forma tal que se disminuye su velocidad de respiración para que se prolongue su vida de anaquel y en consecuencia se mantenga la calidad.

Las propiedades funcionales, sensoriales y mecánicas de una película comestible también pueden modificarse por la adición de varias sustancias en pequeñas cantidades, a los cuales se les denomina aditivos (plastificantes, antimicrobianos, colorantes). Los plastificantes tales como: glicerol, sorbitol, propilén glicol, etc., disminuyen las atracciones intermoleculares entre las cadenas poliméricas adyacentes aumentando la flexibilidad de la película (Donhowe & Fennema, 1993). El glicerol en la formulación hace que el producto

final incremente su permeabilidad al vapor debido a la naturaleza hidrofílica del glicerol el cual fácilmente forma puentes de hidrógeno con las moléculas de agua (Dias-Alves *et al.*, 2007). La incorporación de estos aditivos también modifica las propiedades de barrera de estas películas (García *et al.*, 2000). La adición de una sustancia hidrofóbica (aceites, ceras) como aditivo, ayuda a aumentar la resistencia al vapor de agua de las películas.

Los compuestos antimicrobianos como el ácido sórbico y su sal de potasio (sorbato) han sido considerados como aditivos GRAS (“*generally recognized as safe*”, generalmente reconocido como seguro) y previenen la proliferación de levaduras, hongos y bacterias. La adición de sorbato a películas comestibles ha sido propuesta como una manera de minimizar la contaminación microbiana de la superficie de los alimentos (Cagri *et al.*, 2001). La interacción entre el almidón y los antimicrobianos depende del tipo de almidón así como la concentración y características físicas del conservador (Mansour & Guth, 1968). Flores *et al.* (2006), evaluaron la actividad del sorbato de potasio en películas de almidón de tapioca con diferentes métodos de elaboración determinando la efectividad contra *Zigosaccharomyces bailli*.

Otros compuestos con demostrada actividad antimicrobiana, son los aceites esenciales (Burt, 2004; Raybaudi-Massilia *et al.*, 2006). Sin embargo, son escasas las investigaciones sobre el uso de estas sustancias como agentes antimicrobianos activos en los materiales de envasado y sus efectos en las propiedades de la película como son las propiedades mecánicas y de barrera. Sin embargo, es importante que la incorporación del aceite esencial sea lo suficientemente homogénea de manera que se disperse en toda la superficie de la película (Zivanovic *et al.*, 2005; Rojas-Grau *et al.*, 2006; López *et al.*, 2007). Las películas se pueden utilizar como vehículo de aditivos, los cuales pueden proporcionar al producto vegetal funciones más específicas como una actividad antimicrobiana, para evitar o reducir el crecimiento de microorganismos en su superficie (Rodríguez *et al.*, 2005). Sin embargo, se ha observado que se

requiere de aplicaciones pequeñas para que sus atributos de calidad no se vean afectados (Min & Krochta, 2005). Dentro de los agentes antimicrobianos incorporados a los recubrimientos vegetales pueden considerarse a los aceites esenciales (Assis & Pessoa, 2004; Rodríguez *et al.*, 2005; Rojas, 2006).

La actividad antifúngica de los aceites esenciales se asocia al contenido de fenoles monoterpenos especialmente el de tomillo (*Thymus vulgaris* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) y clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunb). Su mecanismo de acción se asocia con la capacidad de interactuar con el citoplasma del patógeno y su modo de acción parece estar estrechamente relacionado con la solubilidad de cada compuesto (Ronquillo, 2007). Se ha reportado toxicidad en humanos por la utilización de los aceites esenciales puros o en altas concentraciones, ocasionando desde irritaciones en la piel hasta cáncer, sin embargo, la utilización de aceites en concentraciones mínimas no genera alteraciones en el organismo, siendo además productos considerados como GRAS (Bakkali *et al.*, 2008).

Burt (2004), ha encontrado que las condiciones físicas que mejoran la acción de los aceites esenciales son el pH, temperatura y niveles de oxígeno bajos. Por lo tanto, el utilizar este tipo de materiales de empaque para conservar frutos, puede ser viable ya que éstas tienen pH ácidos y se almacenan en lugares refrigerados. Los materiales de empaque con antimicrobianos atraen la atención de la industria de los alimentos y la del empaque, debido en parte al aumento en la demanda del consumidor por productos libres de conservadores en frutas, vegetales y otros alimentos. En la actualidad, varios autores han utilizado los aceites esenciales como aditivos en las formulaciones de películas activas (Arancibia, 2014). La incorporación de agentes antimicrobianos como es el caso de los aceites esenciales (anís y tomillo) en películas, cubiertas o empaques, así como en varios productos alimenticios como carne y productos de panadería, ha demostrado que inhibe el desarrollo de hongos, bacterias y levaduras (Cagri *et al.*, 2001).

Plotto *et al.* (2003), adicionaron aceite de tomillo ( $10 \text{ g l}^{-1}$ ) al recubrimiento, obteniendo en frutos de tomate una significativa inhibición en el crecimiento de *B. cinerea*. En otras investigaciones, concentraciones por arriba de 0,06 % de aceite de tomillo redujeron el desarrollo de *R. stolonifer* en frutos de papaya, reportándose que a medida que aumentaban la concentración disminuía la severidad del hongo (Bosquez-Molina *et al.*, 2010).

En estudios realizados por Ponce *et al.* (2008), se demostró el efecto inhibitorio de cubiertas comestibles con quitosano y romero (*Rosmarinus officinalis* L.) al 1,0 %, sobre el crecimiento de *L. monocytogenes* en la superficie de calabazas (*Cucurbita moschata* Dutch). Así mismo, este recubrimiento logró inhibir 5 mm más el halo de crecimiento de esta bacteria en comparación con el resto de otras cubiertas probadas como fueron las combinaciones de quitosano y olivo (*Olea europea* L), quitosano y chile (*Capsicum annum* L.). Otra combinación que demostró buenos resultados fue la reportada por Pranoto *et al.* (2005), donde una sola formulación de quitosano, puede conseguir diferentes propiedades funcionales no sólo para la conservación del alimento (películas o recubrimientos activos), sino incluso para otorgarle un valor agregado nutricional a los biopolímeros incorporados como los de tipo proteico (lisina) y/o con capacidad para prevenir enfermedades crónicas degenerativas.

Una película biodegradable está definida por la ASTM como aquella que es capaz de descomponerse en dióxido de carbono, metano, agua, compuestos inorgánicos o biomasa, siendo el mecanismo dominante de descomposición la acción enzimática de los microorganismos y que los productos resultantes puedan ser obtenidos y medidos en un período determinado de tiempo (ASTM, 2005). Existen dos tipos de biodegradación, la aerobia y la anaerobia. La biodegradación aerobia ocurre en presencia de oxígeno; los productos resultantes de este proceso de degradación son biomasa, dióxido de carbono, agua y compuestos inorgánicos. La biodegradación anaerobia no necesita oxígeno y los productos resultantes son biomasa, metano, metabolitos

intermedios y compuestos inorgánicos. El grado de biodegradación de las películas va a depender de las condiciones ambientales tales como temperatura, humedad, presión parcial al oxígeno, composición de la flora microbiana y pH del suelo (Kyrikou & Briassoulis, 2007).

Los principales retos a considerar en las investigaciones incluyen desarrollar formulaciones para cada tipo de alimento, que posean estabilidad bioquímica, fisicoquímica, antimicrobiana, sin efecto adverso en la calidad sensorial del alimento, biodegradables, ser totalmente inocuas para el consumo humano y que puedan poseer la resistencia mecánica suficiente y costos competitivos para sustituir a los materiales sintéticos actuales y también para eliminar la adición de conservadores químicos y/o sintéticos. Estas son las razones primordiales por las que se le ha llamado la tecnología de los envases del futuro.

## **2.2. Fundamentación Filosófica.**

El enfoque al cual está orientado el presente trabajo es un paradigma positivista. Debido a que asume que es posible establecer las causas de los hechos. Dobles *et al.* (1998), mencionan que la teoría de la ciencia que sostiene el positivismo se caracteriza por afirmar que el único conocimiento verdadero es aquel que es producido por la ciencia, particularmente con el empleo de su método. Por lo tanto el positivismo asume que sólo las ciencias empíricas son fuentes aceptables de conocimiento.

La investigación positivista tiene un enfoque metodológico predominantemente cuantitativo, mientras que la investigación que se deriva de la concepción dialéctica del conocimiento debe privilegiar los enfoques cualitativos. Es por ello que la investigación en el enfoque positivista se realiza en laboratorios especialmente diseñados o ajustándose a condiciones previamente establecidas, como la selección de muestras estadísticas. La investigación que

se orienta por la concepción dialéctica del conocimiento se debe desarrollar directamente en el sitio en el que se da ordinariamente el fenómeno (Habermas, 1992).

### **2.3. Fundamentación legal.**

La escasez y el alto costo del petróleo, junto con un aumento de las regulaciones medioambientales, actúan de forma sinérgica para promover el desarrollo de nuevos materiales y productos más compatibles con el medioambiente e independientes de los combustibles fósiles. En este contexto, los bioplásticos se ajustan perfectamente a las nuevas necesidades e inquietudes industriales y sociales.

Los bioplásticos en la actualidad constituyen un campo de interés creciente en sectores industriales diversos. Este interés está íntimamente relacionado con la tendencia, de sustitución de los materiales procedentes de fuentes fósiles por otros procedentes de fuentes renovables y sostenibles. Los bioplásticos no constituyen una única clase de polímeros sino una familia de materiales con distintas propiedades y aplicaciones. De forma general, la Asociación Europea de Bioplásticos (European bioplastics, 2012), clasifica estos materiales en dos categorías principales:

- Los denominados bioplásticos procedentes de biomasa (recursos renovables).
- Los polímeros biodegradables que cumplen con los criterios científicos recogidos en las normas de biodegradación y compostabilidad que a nivel europeo son la EN 13432 y EN 14995, ISO 17088 o ASTM D-6400 (Shen *et al.*, 2009).

En Ecuador aún no existe legislación que ampare esta Investigación, por lo que al ser Películas Biodegradables activas desarrolladas a partir de Harina de plátano (*Musa balbisiana*), pasan a ser parte de un conjunto de normativas que regulan los procesos de degradación y de biodegradación de polímeros, los cuales se mencionan a continuación:

#### **Normas Internacionales:**

- Plastics - Determination of the degree of disintegration of plastic materials under defined composting conditions in a pilot scale test (ISO 16929, 2002).
- Specifications for compostable plastics (ISO 17088, 2008).
- Plastics - Determination of the ultimate anaerobic biodegradation of plastic materials in an aqueous system Method by measurement of biogas production (ISO 14853, 2005).
- Plastics - Preparation of samples for biodegradation testing (ISO/DIS 10210, 2009).

#### **Normas Europeas:**

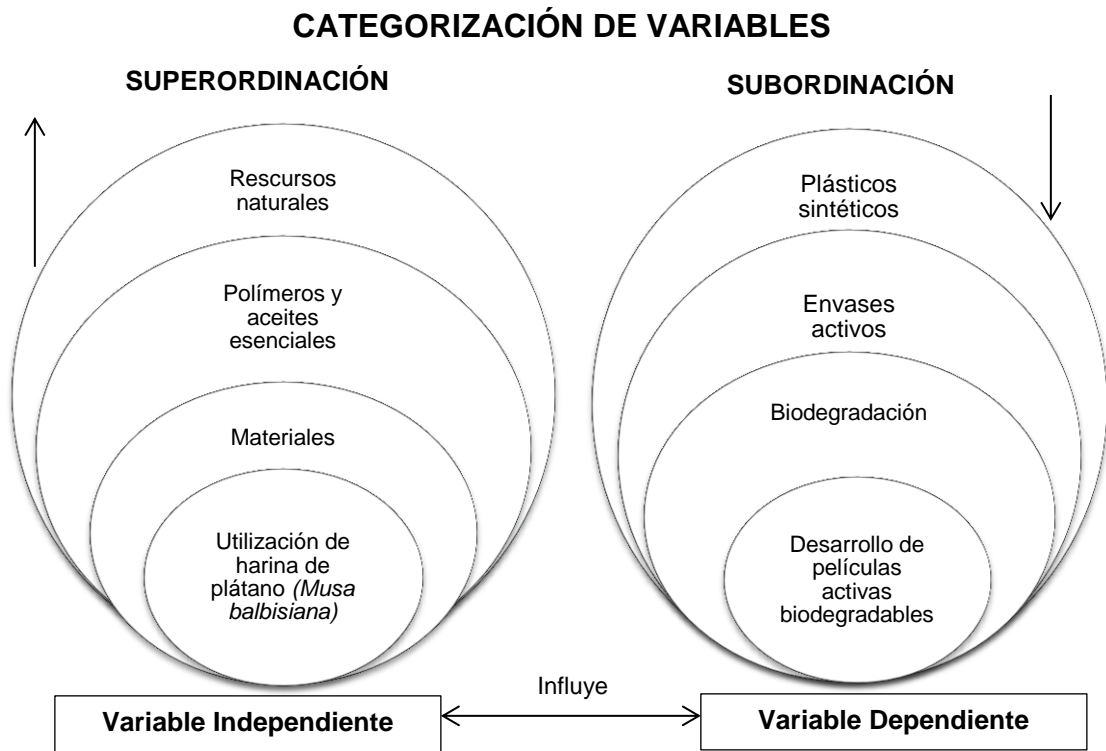
- Plastics - Evaluation of compostability - Test scheme and specifications (EN 14995, 2006).
- Packaging - Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation - Test scheme and evaluation criteria for the final acceptance of packaging (EN 13432: 2000/ AC2005).
- Packaging - Determination of the ultimate aerobic biodegradability of packaging materials in an aqueous medium Method by analysis of evolved carbon dioxide (EN 14047, 2002).

- Plastics - Recommendation for terminology and characterisation of biopolymers and bioplastics (CEN/ TR 15932, 2010).

**Normas americanas (EE.UU.):**

- Standard Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Presence of Municipal Sewage Sludge (ASTM D5210 - 92, 2007).
- Standard Specification for Compostable Plastics (ASTM D6400 - 04). Standard Guide for Assessing the Compostability of Environmentally Degradable Plastics (ASTM D6002 -96).
- Standard Guide for Exposing and Testing Plastics that Degrade in the Environment by a Combination of Oxidation and Biodegradation (ASTM D6954 - 04).

**2.4. Categorías Fundamentales.**



Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.



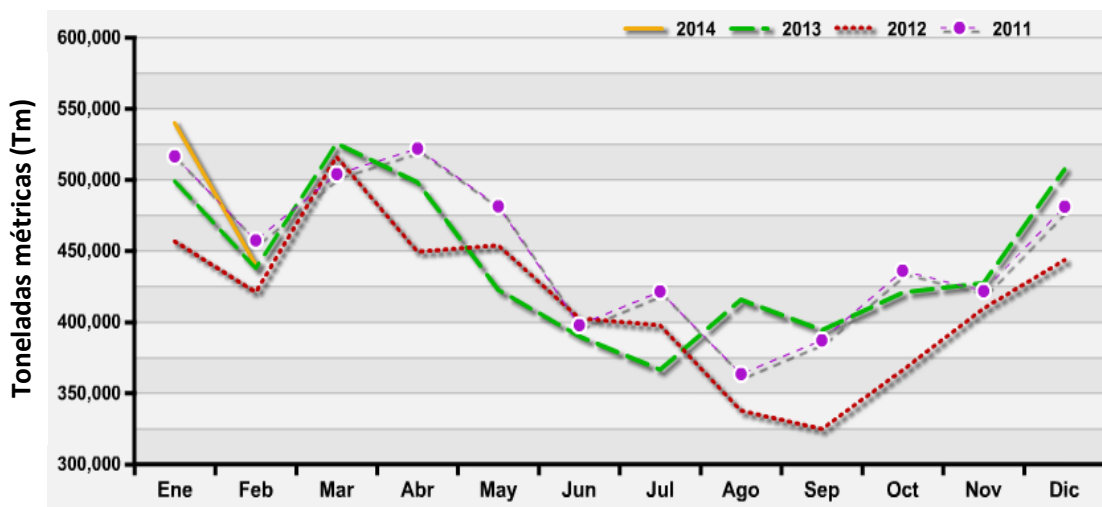
### **2.4.1. Marco Teórico de la Variable Independiente.**

Los polisacáridos y proteínas de origen animal y vegetal son polímeros biodegradables naturales que tradicionalmente se han utilizado para producir películas biodegradables para mejorar de manera significativa el impacto ambiental consecuente por el uso de plásticos sintéticos (Chandra & Rustgi, 1998; Krochta & De Mulder-Johnston, 1997). El almidón es el polisacárido más utilizado para la producción de películas ya que es natural, abundante y de bajo costo (Alves *et al.*, 2007; Malí *et al.*, 2004). Las películas de almidón presentan buenas propiedades mecánicas y de barrera al oxígeno, pero su sensibilidad a la humedad es un gran inconveniente. Para mejorar las características de estos materiales, algunos investigadores han diseñado mezclas a partir de almidón y proteínas (Coughlan *et al.*, 2003). También se han añadido lípidos para formular algunas películas y así mejorar la barrera al vapor de agua (Bravin *et al.*, 2004; García *et al.*, 2000).

Existe otra alternativa para el desarrollo de películas la cual es utilizar harinas, que son de origen natural debido a que son mezclas complejas de almidón, proteína, lípidos y fibras. Diversas investigaciones han demostrado la posible aplicación de harinas obtenidas a partir de materiales enteros como: amaranto, soja y trigo para la producción de películas (Mariniello *et al.*, 2003; Rayas *et al.*, 1997; Tapia-Blacido & Sobral, 2005).

El plátano, un materia prima renovable, presenta propiedades adecuadas para la preparación de películas activas biodegradables, debido a su constituyente principal que es el almidón el cual comprende más de 70 % (p/p). Asimismo, esta fruta es fuente de proteínas (1,0-2,5 % p/p), lípidos (0,2-0,5 % p/p) y fibra (1,5-2,5 % p/p) (Zhand *et al.*, 2005).

La producción de plátano en Ecuador es de gran importancia para la economía nacional. El banano constituye el primer producto de exportación del sector privado del país (con cinco millones de toneladas métricas, que representan 1,9 mil millones de dólares al año); constituye el 3,84 % del PIB total, el 50 % del PIB agrícola y el 20 % de las exportaciones privadas del país; además, el Ecuador aporta con el 32 % del comercio mundial del banano (MAGAP, 2014). En la Figura 4, se representa el rubro de exportación de banano en toneladas métricas de los 4 últimos años.



**Figura 4.** Exportación del banano en toneladas métricas (MAGAP, 2014).

Existe un alto porcentaje de banano rechazado que se genera en relación a la producción total en el país con el 14 % de desechos, que no son utilizados óptimamente y un porcentaje no tan elevado de este se destina a la comercialización nacional. Por esta razón se considera que existe la oportunidad de crear un valor al banano rechazado mediante la elaboración de productos derivados de banano (Harina de plátano), con bajo costo (Medlicott, 2002). La falta de financiamiento a los pequeños y medianos productores para que estos puedan mejorar sus procesos de producción y tecnificar los mismos, hace que se generen pérdidas de banano a nivel nacional.

El principal problema de siempre para los productores ecuatorianos es la presencia de plagas, haciendo previamente que madure la fruta, reduciendo el peso y el tamaño del racimo, generando banano de rechazo debido a que no cumple con los estándares de calidad para exportación. Un inadecuado proceso determina el no cumplimiento de las especificaciones de exportación. Se puede indicar que los principales defectos de la calidad del banano que originan su rechazo van desde la cosecha, manejos del racimo, insectos u otros animales, defectos por microorganismos, productos químicos, medio ambiente y genéticos. Cabe indicar que los defectos por los cuales son rechazados los bananos, si bien es cierto son causas suficientes para la no exportación, el banano si está en condiciones razonables para el consumo humano por lo que se pueden elaborar productos a base del mismo como harinas para consumo humano (Moreno, 2009).

La empresa de Cereales la Pradera y el Ministerio de Industrias y Productividad, firmaron un convenio de cooperación interinstitucional, para realizar los estudios de factibilidad económica y montar una planta de producción de harina de banano. El deseo es poder montar la planta y tener la responsabilidad de la producción de la harina de banano, para cubrir la demanda nacional y que el producto sea agregado para la elaboración de pan. El proyecto evitaría desperdiciar miles de toneladas de banano en el país, al utilizar el producto en la elaboración de la harina de banano. Las cualidades alimenticias de la harina de banano son inmensas, en relación a la harina de trigo, la misma que está causando algunos problemas de salud, especialmente por el gluten que contiene (El Comercio, 2014). La producción mundial de banano ha aumentado en estas últimas décadas entre otras razones, por el aumento de la demanda y la mejora en la productividad y la distribución. La harina de plátano ecuatoriana es considerada como una de las mejores del mundo (Gómez, 2008). Por su riqueza en hierro, el banano estimula la producción de hemoglobina en la sangre lo que ayuda a combatir problemas de anemia; también tiene un alto

contenido de potasio y es bajo en sal lo que hace que esta fruta sea buena para quienes sufren de hipertensión arterial; también es bajo en glicemia por lo que es aconsejable para las personas con diabetes (PROECUADOR, 2013). En la Figura 5, se muestra el porcentaje de producción local de productos a base plátano.



**Figura 5.** Producción local de productos derivados del plátano (Rendon & Ayllón, 2009).

Los aceites esenciales (AEs) son una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas. Las esencias son mezclas complejas en cuya composición se encuentran terpenos, alcoholes, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos, los cuales son los responsables del aroma que caracteriza a los aceites esenciales (Bakkali *et al.*, 2008). Estos aceites volátiles o etéreos, son líquidos aromáticos oleos obtenidos de material vegetal (flores, yemas, semillas, hojas, madera, frutas y raíces). Se conocen unos 3000 AEs y tienen importancia comercial unos 300. Los aceites esenciales extraídos de algunos tipos de vegetales tienen actividad bactericida y pueden ser utilizados en la preservación de alimentos. Estudios *in vitro* han demostrado la actividad antibacteriana de aceites esenciales frente a patógenos, las bacterias Gram negativas son algo menos susceptibles a estos tratamientos que las bacterias Gram positivas. Hoy en día se conoce las propiedades antibacterianas

de los principales componentes de los aceites esenciales tales como: carvacrol, timol, eugenol, linalol, perillaldehído, cinamaldehído y ácido cinámico. Estos productos tienen concentraciones mínimas inhibitorias en el rango  $0,05\text{--}5\ \mu\text{ml}^{-1}$  *in vitro*; sin embargo, es necesario utilizar concentraciones más elevadas para obtener el mismo resultado en alimentos (Burt, 2004). Estas sustancias además de ser eficientes antibacterianos también poseen propiedades antivirales (Bishop, 1995), antimicótico (Juglal *et al.*, 2002), antioxidantes, antiparasitarias (Pessoa *et al.*, 2002) e insecticidas (Karpounhtsis *et al.*, 1998).

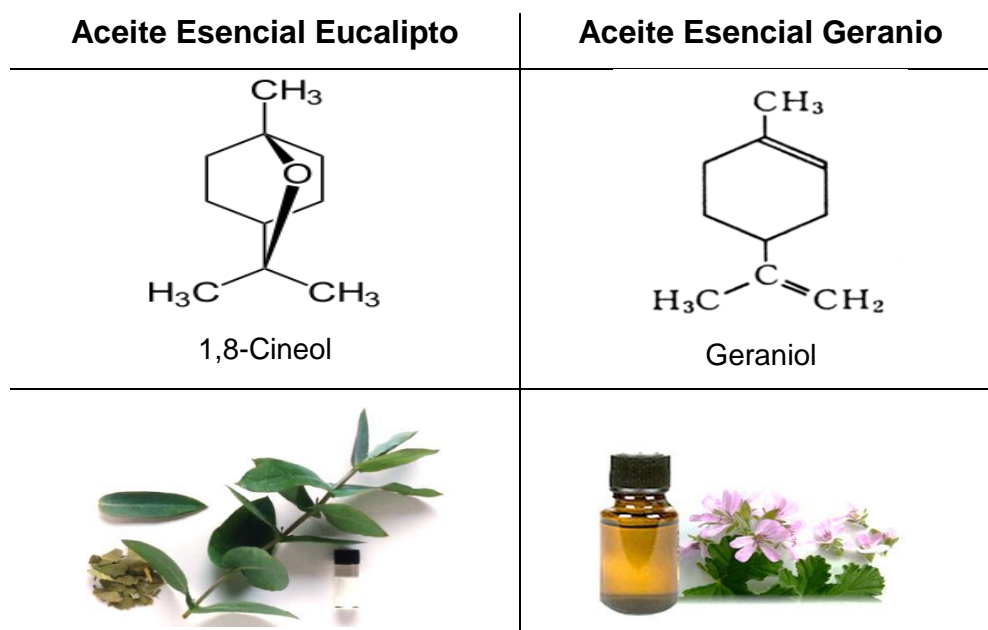
Los aceites esenciales han mostrado una actividad fungicida contra patógenos postcosecha en un amplio intervalo de hongos (Daferera *et al.*, 2000). Esta actividad podría estar relacionada a la respectiva composición de aceites volátiles de cada planta, a la configuración estructural de los componentes constituyentes de los aceites, a sus grupos funcionales y a posibles interacciones sinérgicas entre sus componentes (Dorman & Deans, 2000). La hidrofobicidad de los aceites esenciales permite que se solubilizan en la membrana de la célula bacteriana y de la mitocondria afectando a sus propiedades estructurales y facilitando su permeabilización (Sikkema *et al.*, 1994), este hecho favorece la liberación de iones y otros metabolitos celulares (Gustafson *et al.*, 1998).

El aceite esencial de eucalipto está compuesto principalmente por 1,8- cineol o eucaliptol (óxido terpénico) en una concentración del 75–85 %. Además, está compuesto de pequeñas cantidades de aldehídos volátiles, terpenos, sesquiterpenos, aldehídos aromáticos, alcoholes y fenoles. Muchos de estos componentes menores presentan propiedades irritantes y deben ser removidos por redestilación del aceite esencial (Skandamis & Nychas, 2001).

El aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), tiene un fuerte, fresco y estimulante aroma balsámico alcanforado que aumenta la concentración y da una sensación de libertad. Entre las propiedades del aceite de eucalipto se

encuentran: analgésico, antirreumático, antiinflamatorio, antiséptico, antiespasmódico, antiviral, bactericida, balsámico, cicatrizante, descongestivo, desodorante, depurativo, diurético, expectorante, febrífugo, insecticida, estimulante, etc. (O'Bryan *et al.*, 2008).

El aceite esencial de geranio es transparente y prácticamente incoloro, aunque puede apreciarse en él una sombra de verde. Está compuesto de alcoholes (geraniol terpénico 75-80 %, borneol, citronelol, linalol, terpineol), ésteres (acético, butírico, valeriano), acetonas, fenoles (eugenol) y terpenos (felandreno, pineno). El geraniol es un poderoso ingrediente extraído del aceite de geranio mediante un proceso de refinado, que provee un repelente de insectos totalmente natural (Ryman, 1991).



**Figura 6.** Estructura química del cineol y geraniol, componentes mayoritarios de los aceites esenciales de eucalipto y geranio. **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

## **2.4.2. Marco Teórico de la variable Dependiente.**

Los biopolímeros ofrecen una potencial alternativa para superar las limitaciones de los plásticos sintéticos. Tienen buena capacidad formadora de película con propiedades que los hacen adecuados para muchas aplicaciones y como material de embalaje en general (Van de Velde & Kiekens, 2002). El período de biodegradación de los materiales en base a biopolímeros se encuentran entre los 3 a 33 días (Dalev *et al.*, 2000; González *et al.*, 2011; Martucci & Ruseckaite, 2009; Patil *et al.*, 2000). La biodegradación depende de varios factores entre ellos, las características de la película tales como el tipo de biopolímero utilizado, la estructura, composición, reticulación, movilidad de la cadena, cristalinidad y presencia de enzimas hidrolíticas en el suelo (Rizzarelli *et al.*, 2004). El comportamiento de los biopolímeros durante la degradación está pensado para ser determinado empleando condiciones ambientales, especialmente considerando la composición del suelo, presencia de microorganismos y las condiciones de humedad (González *et al.*, 2011).

## **2.5. Hipótesis.**

### **2.5.1. Hipótesis nula.**

El desarrollo de películas activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) y aceites esenciales, no permite obtener envases con actividades antimicrobianas y biodegradables.

### **2.5.2. Hipótesis alternativa.**

El desarrollo de películas activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) y aceites esenciales, permite obtener envases con actividades antimicrobianas y biodegradables.

## **2.6. Señalamiento de variables.**

**Variable Independiente:** Utilización de harina de plátano (*Musa balbisiana*).

**Variable Dependiente:** Desarrollo de películas activas biodegradables.



## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA

#### 3.1. Enfoque.

La presente investigación contiene información veraz de carácter cuantitativo, debido a cada uno de los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y de biodegradación correspondiente a cada una de las muestras planteadas. Los parámetros de análisis para el desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano fueron: espectroscopia de infrarrojo con transformada a Fourier (FTIR), propiedades ópticas (color, barrera a la luz y transparencia *UV-VIS*, índice de amarillez y brillo), actividad antimicrobiana frente a *Fusarium oxysporum* y *Penicillium expansum*, biodegradación (% pérdida de peso), propiedades fisicoquímicas: contenido de humedad, espesor, permeabilidad al vapor de agua, solubilidad de las películas, resistencia al agua y propiedades mecánicas (punción).

#### 3.2. Modalidad básica de la investigación.

La investigación planteada es experimental, en el laboratorio, en la cual se obtienen datos significativos de análisis correspondientes a cada tratamiento. Estos datos se obtendrán a través de equipos y materiales de laboratorio para que a su vez determinen la relación de la hipótesis planteada en el estudio.

Asimismo, es bibliográfica, porque se ha documentado sobre la elaboración de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) y aceite esencial de geranio (*Pelargonium graveolens*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*), las cuales permitan reducir de una manera significativa la contaminación ambiental y de residuos plásticos existentes, en la denominada “Industria ecológica” que genera menor impacto ambiental y aprovecha de mejor manera los recursos renovables existentes en el planeta Tierra.

### **3.3. Nivel o tipo de investigación.**

El desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), hace referencia a 4 tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, correlacional y de asociación de variables. Es investigación exploratoria debido a que su objetivo principal es conseguir una perspectiva general de un problema o situación, en este caso desarrollar una película activa implica una tecnología novedosa y amigable con el medio ambiente, con una nueva aplicación a los biopolímeros y transformando a la industria tradicional en una industria ecológica.

La investigación es descriptiva ya que busca especificar las propiedades importantes y relevantes de los materiales utilizados en el estudio. La efectividad que tienen los aceites esenciales como un agente antimicrobiano se determina mediante pruebas *in vitro*, y la determinación del potencial de biodegradación de las películas a través de pruebas *in vivo*, de las cuales se obtienen valores reales para establecer el mejor tratamiento.

La investigación también es correlacional ya que existe interacción entre las variables. Esta correlación puede ser cualitativa y cuantitativa mediante la descripción del problema por lo que la variable dependiente y la variable independiente se encuentran en función una de la otra. Finalmente se menciona que el presente estudio es una investigación explicativa debido a que está dirigida a indagar las causas de problemas, su interés se centra en explicar por qué se genera el desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano y bajo qué condiciones se generan estas películas biodegradables. Se realiza esta investigación con el objetivo de generar conocimiento y desarrollo tecnológico.

### **3.4. Método y técnicas de Investigación.**

#### **3.4.1. Materia Prima.**

El presente estudio se realizará utilizando harina de plátano “La Pradera” adquirida en un supermercado local.

#### **3.4.2. Desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*).**

Las películas se desarrollaran según la metodología descrita por Arancibia *et al.* (2014), utilizando la técnica de moldeo o “casting” en bicapa.

##### **Primera Capa.**

Se pesaron 5 g de harina de plátano en una balanza de precisión (Mettler Toledo) y se diluyeron en 95 ml de agua destilada con agitación constante. La disolución fue calentada hasta alcanzar 80-90 °C, manteniendo agitación constante durante 5 min.

Posteriormente se disminuyó la temperatura hasta alcanzar los 70 °C, se añade el glicerol al 50 % en peso respecto a la solución total. Una vez alcanzada la completa solubilización la mezcla se filtró y fue sumergida en un ultrasonido (sonopuls HD 2070, DICSA, Germany), durante 15 minutos para eliminar burbujas.

Las películas se desarrollaron por el método del moldeo o “casting” para lo cual se pesaron 15 g de solución filmogénica en una placa Petri (56,75 cm<sup>2</sup>) y se secó en una estufa (Germmyco, Gemmy Industrial Corp., EE.UU) a 60 °C durante 3 horas.

## **Segunda Capa.**

La segunda capa se elaboró como se describe anteriormente pero en lugar del plastificante glicerol se utilizó aceite esencial. Se incorporó 1,5 % de aceite esencial de Eucalipto y Geranio (*Eucalytus globulus* & *Pelargonium graveolens*, Isabrubotanik S.A, Ambato – Ecuador) respectivamente por cada 100 g de solución en concentraciones de 0,5; 1,0 y 1,5 % (P/V).

Se utilizó una licuadora Oster, para homogenizar la solución durante 10 min, a una velocidad media posteriormente se filtró y colocó por 15 min en el ultrasonido (sonopuls HD 2070, DICSA, Germany). Se pesaron y vertieron cuidadosamente 10 g de solución filmogénica sobre la primera capa. Finalmente se colocó en una estufa (Germyco, Gemmy Industrial Corp., EE.UU), a 60 °C por 4 horas. Una vez secas las películas se acondicionaron a una temperatura entre 22-23 °C, utilizando un desecador con una solución saturada de NaCl para mantener una humedad relativa del 75 % durante 72 horas antes de los análisis.

### **3.4.3. Caracterización de las películas.**

#### **Propiedades físico-químicas de las películas biodegradables activas.**

### **3.4.4. Contenido de Materia seca y Humedad.**

El contenido de agua de las películas en bicapa se determinó por secado alrededor de 1,5 - 2 g a 110 °C por 24 horas, según la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (A.O.A.C, 1995), al menos por duplicado. El contenido de agua se expresó como porcentaje del peso total.

#### **3.4.5. Espectroscopia de Infrarrojo FTIR-ATR.**

Los espectros de infrarrojo de las películas entre 4000 y 500  $\text{cm}^{-1}$  se registraron con un espectrómetro Perkin Elmer Spectrum 400 (Perkin-Elmer Inc., Waltham, MA, EE.UU). Cada espectro fue el promedio de 32 interferogramas y la resolución espectral fue 4  $\text{cm}^{-1}$ , se restó el fondo utilizando el software Spectrum versión 6.3.2. (Perkin-Elmer Inc.). Todos los experimentos se realizaron por duplicado.

#### **3.4.6. Espesor.**

El espesor se midió con un micrómetro (MDS-25M, Mitutoyo, Kanagawa, Japón) en 15 localizaciones elegidas al azar.

#### **3.4.7. Propiedades mecánicas.**

Las pruebas de punción se realizaron con un analizador de textura TA.XT2 plus (Texture technologies Corp., Scarsdale, NY, EE.UU) controlado por el *Software Texture Exponent* (Texture Technologies and by Stable Micro Systems, Ltd., Scarsdale, NY, EE. UU).

La prueba de punción se realizó con películas de 100 mm x 100 mm fijadas en una celda de 35 mm de diámetro hasta el punto de rotura, utilizando un émbolo redondeado (5 mm) de acero inoxidable a una velocidad de 100 mm/min. La fuerza de rotura (F, N), se determinó según Sobral *et al.* (2001). El ensayo se llevó a cabo por duplicado.

#### **3.4.8. Permeabilidad al vapor de agua.**

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) se determinó, por duplicado, siguiendo el método descrito por Sobral *et al.* (2001) a  $21 \pm 1$  °C en un desecador con agua destilada (100 % Humedad relativa). Las muestras se pesaron cada 10 minutos, al menos durante 1 hora. La permeabilidad al vapor

de agua se calculó siguiendo la ecuación:  $w \cdot x \cdot t^{-1} \cdot A^{-1} \cdot \Delta P^{-1}$ , donde  $w$  es el peso ganado (g),  $x$  es el espesor de la película (mm),  $t$  es el tiempo (h),  $A$  es el área de película expuesta ( $\text{cm}^2$ ) y  $\Delta P$  es la diferencia de presión parcial de vapor entre la atmósfera y el gel de sílice (2642 Pa a 22 °C). Los resultados se expresaron en  $\text{g mm h}^{-1} \text{cm}^{-2} \text{Pa}^{-1}$ .

#### **3.4.9. Solubilidad de las películas (SP).**

La solubilidad de las películas (SP) se llevó a cabo según el método descrito por Arancibia et al. (2014). Para la prueba de solubilidad de agua de las películas activas fueron cortadas a manera de un cuadrado con un área ( $4 \text{ cm}^2$ ) y colocadas en recipientes con 50 ml de agua destilada a 22 °C durante 24 horas. La solución entonces se filtró a través de papel filtro Whatman N° 41 para recuperar las películas restantes sin disolver, que fue posteriormente desecada a 105 °C por 24 horas. La solubilidad de la película SP (%) se calculó mediante la expresión  $[(W_0 - W_f) / W_0] \times 100$ , donde  $W_0$  es el peso inicial de la película expresada como materia seca y  $W_f$  es el peso del residuo desecado sin disolver la película. Todas las pruebas se llevaron por duplicado.

#### **3.4.10. Resistencia al agua.**

La resistencia al agua se determinó siguiendo el método descrito por Blanco-Pascual et al. (2013). Las películas se fijaron en celdas calibradas con un área ( $16 \text{ cm}^2$ ) y se vertió agua destilada (5 ml) sobre la superficie de la película y se registró la deformación de la película debido al efecto del agua (cm), el tiempo en que el agua comienza a filtrarse a través de la película y el tiempo que tarda la película en romperse. Todas las pruebas se llevaron por duplicado.

## **Propiedades ópticas.**

### **3.4.11. Color.**

Los parámetros de color, L\* (luminosidad), a\* (rojo/verde) y b\* (amarillo/azul), Índice de amarillez (IA) y brillo (B), se midieron en un colorímetro Konica Minolta CM-3500 (Konica Minolta, Madrid, España), con un iluminador D65 (luz natural) y observador estándar D10, y los resultados fueron directamente procesados por el equipo con el programa SpectrMagic NX.

### **3.4.12. Barreras a la luz y transparencia (UV-VIS).**

Las propiedades de barrera a la luz se determinaron utilizando un espectrofotómetro UV-1601 (modelo CPS-240, Shimadzu, Kyoto Japón) a las longitudes de onda de 200 nm a 800 nm respectivamente. Las películas fueron cortadas de forma rectangular y se colocaron directamente en el interior de una celda de cuarzo de espectrofotómetro, utilizando una celda vacía como referencia. La transparencia (%T) se calculó siguiendo el método descrito por Ifuku *et al.* (2007), donde  $(\%T) = 10^{-(\text{Absorbancia})} \times 100\%$ . Las medidas se realizaron al menos por duplicado.

## **Propiedades activas.**

### **3.4.13. Actividad antimicrobiana.**

La actividad microbiana de las películas control y películas condicionadas se determinó por el método de difusión en agar (Gómez-Estaca *et al.*, 2010). Las películas fueron cortadas en discos de 5 mm de diámetro y colocadas sobre la superficie de placas de agar previamente inoculadas con *Fusarium oxysporum* y *Penicillium expansum*. El lado de la película en contacto directo con el agar no contenía el aceite esencial. La cepa fue seleccionada por ser un organismo potencialmente patógeno, se obtuvo de la colección española de cepas tipo (CECT): *Fusarium oxysporum* CECT 2867. *Penicillium expansum* DSMZ 62841.

Después de la incubación se observó el crecimiento microbiano con ayuda del software Corel Photo Paint X3 y el grado de inhibición se expresó como sigue: +++: totalmente inhibido; ++: parcialmente inhibido; +: ligeramente inhibido; -: ninguna inhibición. Cada determinación se realizó por duplicado.

## **Biodegradación.**

### **3.4.14. Caracterización del suelo.**

#### **Contenido de humedad.**

El contenido de humedad del suelo se determinó por secado alrededor de 5 g a 110 °C por 24 horas, según la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (A.O.A.C, 1995), al menos por duplicado. El contenido de agua se expresó como porcentaje del peso total.

#### **Determinación del potencial de hidrógeno pH.**

El potencial de hidrógeno se determinó según la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (A.O.A.C, 1995), al menos por duplicado, a través de lectura directa utilizando un potenciómetro manual portátil, marca HANNA HI 9126, previamente calibrado, a temperatura ambiente. Se pesaron 10 g de suelo seco y se agregó 40 ml de agua destilada, se introduce el electrodo en la mezcla y se determina el pH.

#### **Microorganismos del suelo.**

Para determinar los microorganismos presentes en el suelo, se utilizó la metodología para determinación de microorganismos aerobios, la cual se basa en la siembra en profundidad en un medio de cultivo definido (PCA, agar para recuento en placa), vertido en una placa de Petri, con una cantidad determinada de muestra (1 ml) en varias diluciones y un tiempo de incubación de 72 horas a 30 °C. A partir del número de colonias obtenidas en las placas se calcula el número de microorganismos por gramo de muestra de suelo.



$$\text{UFC/g}_{\text{suelo}} = (\text{NC} * 1/\text{FD} * 1/\text{V}) / (\text{P}).$$

Dónde: UFC/g<sub>suelo</sub>= unidades formadoras de colonias / g de suelo. NC= número de colonias en una caja Petri. FD= factor de dilución que corresponde a la dilución de donde se tomó la muestra con la que se inocula la caja (10<sup>-2</sup> a 10<sup>-10</sup>). V= volumen inoculado en la caja, 1 ml. P= peso de la muestra húmeda, 10 g.

### 3.4.15. Ensayo enterrado.

El ensayo de biodegradación se llevó a cabo en suelos orgánicos naturales. Las películas, previamente acondicionadas (75 % HR), fueron colocadas en el suelo y enterradas en condiciones ambientales (Tabla 1). Las películas se regaron cada tres días para simular condiciones de llovizna y al cabo de 3, 8, 15, 20 y 30 días se recuperaron, se limpiaron y finalmente se secaron a 60 °C en estufa (Germyco, Gemmy Industrial Corp., EE.UU) durante 24 horas hasta peso constante. El grado de degradación en las películas se determinó siguiendo la ecuación: pérdida de peso ( $W_{\text{pérdida}}$ ) =  $(W - W_f) / W \times 100$  donde, W y W<sub>f</sub> es el peso de la película antes y después de la prueba de degradación en el suelo.

**Tabla 1.** Temperatura y humedad (máxima y mínima) en Ambato durante los meses de Enero y Febrero del 2014.

Parámetros	Enero	Febrero
Temperatura máx. (°C)	18	22
Temperatura min. (°C)	12,5	10
Humedad relativa (%)	min.: 94 y máx.: 95	min.: 93 y máx.: 97

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

#### **3.4.16. % Materia seca.**

El contenido de materia seca de las películas se determinó por secado de aproximadamente 1,5 g a 2 g de muestra a 110 °C por 24 horas, utilizando el método descrito por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (A.O.A.C, 1995), por duplicado. El contenido de materia seca, se expresó como porcentaje del peso total, y se calculó de la siguiente manera:

$$SS [\%] = \frac{P_{(\text{muestra } 105^{\circ}\text{C incl.cápsula})} - P_{(\text{cápsula})}}{P_{(\text{muestra húmeda})}}$$

Dónde:

SS [%]: Porcentaje de materia seca

P : Peso en gramos (tres decimales)

#### **3.4.17. Contenido de nitrógeno total en el suelo.**

La determinación del contenido de nitrógeno total del suelo (%N), así como también la de carbono orgánico, son utilizadas para caracterizar la materia orgánica de los suelos. Para esta determinación se sigue el método de Kjeldahl, que consiste en digerir una alícuota de la muestra de suelo con ácido sulfúrico, una mezcla de sulfato ferroso y sulfato de cobre en una proporción de 20 a 1. Se puede calcular la cantidad de proteína conociendo el porcentaje de nitrógeno que contiene.

Aunque existen métodos más rápidos para determinar las proteínas, el método de Kjeldahl es el más difundido. Básicamente el método consistió en someter al material a analizar a una digestión con ácido sulfúrico para descomponerlo y convertir el nitrógeno en hidrógeno sulfato (bisulfato) de amonio. Se enfrió la solución y se agregó álcali concentrado para hacer una solución básica y destilar el amoniaco volátil en una solución de ácido estándar en exceso. Se re-tituló el exceso de ácido con una base estándar.

La digestión se aceleró agregando sulfato de potasio para aumentar el punto de ebullición y con ayuda de un catalizador como una sal de selenio o de cobre. La cantidad de compuesto nitrogenado se calculó a partir del peso de nitrógeno que se analizó, multiplicado por el factor gravimétrico (Gary, 2009). Los ensayos se realizaron en el Laboratorio de Control de Alimentos (LACONAL, Ambato-Ecuador).

$$\begin{aligned} \text{mmol N}(c) &= \text{mmol que reaccionaron con HCL} \\ &= \text{mmol HCOL tomados } \times (c + d) - \text{mmol NaOH}(d) \\ \text{mmol } C_aH_bN_c &= \text{mmol N } \times 1/c \end{aligned}$$

Dónde: N(c): Nitrógeno, HCL= Ácido clorhídrico, NaOH= Hidróxido de sodio, *a*, *b*, *c*; *d*: coeficientes de la ecuación.

### **3.4.18. Análisis estadístico.**

Los datos obtenidos se muestran como el valor medio  $\pm$  la desviación estándar. Para estudiar el efecto de las variables se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una o dos vías según cada uno de los experimentos a efectuarse. En caso de detectarse diferencias se realizó un análisis de comparaciones múltiples mediante el test de Tukey. Las diferencias se consideraron significativas para un valor de  $P \leq 0,05$ . El análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico GraphPad Prism 5,0 (GraphPad Software, San Diego California, EEUU).

## **3.5. Población y Muestra.**

### **3.5.1. Población.**

Para el presente estudio se consideró como población, la harina de plátano (*Musa balbisiana*) y los aceites esenciales de geranio (*Pelargonium graveolens*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*).

### 3.5.2. Muestra.

Película en bicapa de harina de plátano (*Musa balbisiana*), activa por la incorporación de aceite esencial de eucalipto y geranio.

### 3.5.3. Diseño Experimental.

**Factores y niveles de estudio:** Los factores y niveles de estudio se presentan en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*).

Factores	Niveles
A. Compuesto activo	AG= Aceite Esencial Geranio AE= Aceite Esencial Eucalipto
B. Concentración compuesto activo	0,5= 0,5 % A. E. 1= 1 % A. E. 1,5= 1,5 % A. E.

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

### Tratamientos.

El resultado de la correlación de tratamientos para el desarrollo de películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) es el siguiente (Tabla 3):

**Tabla 3.** Correlación de los diferentes tratamientos para las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).

Tratamientos	Codificación	Correlación
1	AG0,5	Aceite esencial geranio al [0,5 %]
2	AG1	Aceite esencial geranio al [1,0 %]
3	AG1,5	Aceite esencial geranio al [1,5 %]
4	AE0,5	Aceite esencial eucalipto al [0,5 %]
5	AE1	Aceite esencial eucalipto al [1,0 %]
6	AE1,5	Aceite esencial eucalipto al [1,5 %]
7	Control	Sin Aceite Esencial

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

### 3.6. Operacionalización de variables.

**Tabla 4.** Operacionalización de variables.

OBJETIVOS ESPECIFICOS	VARIABLES	INDICADORES	ÍNDICES
<p>Determinar las propiedades fisicoquímicas y actividad biológica de las películas biodegradables activas elaboradas a partir de harina de plátano (<i>Musa balbisiana</i>), incorporadas con aceite esencial de geranio (<i>Pelargonium graveolens</i>) y eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i>).</p>	<p><b>Variable Independiente</b> Utilización de harina de plátano (<i>Musa balbisiana</i>)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Propiedades fisicoquímicas de las películas biodegradables activas.</li> <li>Propiedades aditivas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contenido de materia seca y humedad.</li> <li>Espesor</li> <li>Espectroscopia de infrarrojo FTIR-ATR</li> <li>Propiedades mecánicas (punción)</li> <li>Propiedades de barrera al agua (permeabilidad al vapor de agua, solubilidad de las películas y resistencia al agua).</li> <li>Propiedades ópticas (Color, Barrera a la luz, transparencia UV-VIS, Índice de amarillez y Brillo).</li> <li>Actividad antimicrobiana.</li> </ul>
<p>Establecer el tiempo de biodegradación de las películas activas.</p>	<p><b>Variable dependiente</b> Desarrollo de películas activas biodegradables.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Biodegradación.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ensayo enterrado.</li> <li>Materia seca.</li> <li>N<sub>2</sub> total al suelo.</li> </ul>
<p>Aplicar películas biodegradables activas en frutas.</p>	<p>Propuesta.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aplicación de sistema modelo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Capacidad termoselladora</li> <li>Evaluación sensorial.</li> <li>Vida útil.</li> </ul>

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

### **3.7. Recolección de información.**

El proceso de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Fisicoquímica y Análisis Instrumental, laboratorios de la Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, y en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN – CSIC), de Madrid España.

Se planteó un diseño experimental AxB (2 x 3), que dió como resultado 6 tratamientos y un testigo o control con 2 réplicas para cada tratamiento y 11 respuestas experimentales: espectroscopia de infrarrojo con transformada a Fourier (FTIR), propiedades ópticas (color, barrera a la luz y transparencia UV-VIS, índice de amarillez y brillo), actividad antimicrobiana frente a *Fusarium oxysporum* y *Penicillium expansum*, biodegradación (% pérdida de peso), propiedades físicas: contenido de humedad, espesor, permeabilidad al vapor de agua, solubilidad de las películas, resistencia al agua y propiedades mecánicas (punción).

### **3.8. Procesamiento y análisis.**

El análisis estadístico se realizó con el programa GraphPadPrism 5.0 (*GraphPad Software*, California, EE.UU). El análisis de datos se realizó con el software Origin 8.0 (Northampton, MA 01060 EE.UU).

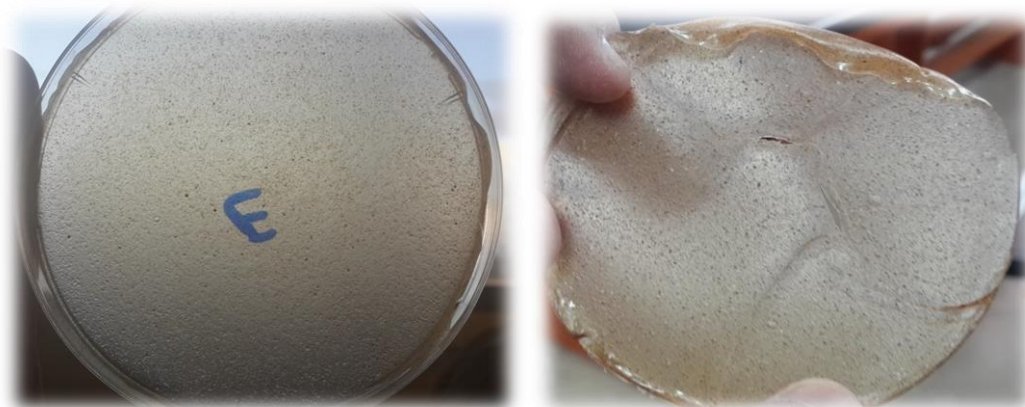
## CAPÍTULO IV

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Análisis de los resultados.

##### 4.1.1. Propiedades fisicoquímicas de las películas biodegradables activas.

Se obtuvieron películas biodegradables activas a partir de harina plátano (*Musa balbisiana*), utilizando dos tipos de aceite esencial (AEs): geranio (*Pelargonium graveolens*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*), en concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 %, utilizando la técnica de moldeo o “casting” en bicapa según la metodología descrita por Arancibia *et al.* (2014). Las películas presentaron una superficie homogénea sin burbujas o grietas y además fueron maleables (Fig.7). Al estar desarrolladas en bicapa, la adición de una segunda capa generó un proceso de hidratación en la primera capa que dio como resultado una superficie no uniforme.



**Figura 7.** Películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), utilizando la técnica de moldeo o “casting” en bicapa.

El contenido de humedad de las películas biodegradables se situó entre el 15 % al 18 % de humedad (Tabla 5). La presencia del aceite esencial provocó una disminución en el contenido de agua, y es directamente proporcional a la

concentración. Este hecho puede estar asociado a un menor número de interacciones entre el almidón y las moléculas de agua del ambiente, que forman estructuras menos porosas, además del carácter hidrofóbico de los aceites esenciales que limita los sitios activos de la matriz de la película (grupos hidroxilos en los cuales las moléculas de agua podrían absorberse y mantenerse mediante uniones del tipo puente de hidrógeno) (López, 2011).

Resultados similares (18,5 %H), fueron observados por Pelissari *et al.* (2012), los cuales realizaron un estudio comparativo de las propiedades de la harina y el almidón de plátano (*Musa paradisiaca*), en películas comestibles sin aceites esenciales. Un análisis estadístico mediante una prueba de Tukey muestra que no existe diferencia significativa ( $P \geq 0,05$ ) entre las muestras.

**Tabla 5.** Porcentaje de humedad (%H) en las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).

Tratamientos	Humedad (%)
AG0,5	18,56 ± 1,33a
AG1	17,64 ± 0,79a
AG1,5	16,97 ± 1,07a
AE0,5	16,66 ± 0,30a
AE1	16,01 ± 0,40a
AE1,5	15,90 ± 0,59a
Control	18,90 ± 0,05a

Los resultados son la media ± desviación estándar. Letras iguales (a) en la misma columna indican igualdad de significancia entre tratamientos ( $P \leq 0,05$ ). **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.



#### 4.1.2. Espesor de las películas.

El espesor se midió con un micrómetro (Fowler, model FOW52-229-001, Pensilvania, EE.UU) en 15 localizaciones elegidas al azar para cada película biodegradable activa, los resultados se muestran en la Tabla 6.

Pelissari *et al.* (2012), al desarrollar películas de harina de plátano (*Musa paradisiaca*) en un sistema de monocapa observaron un espesor de  $0,087 \pm 0,003$  mm, este valor está muy por debajo de los valores de espesor obtenidos para las películas biodegradables activas elaboradas con harina de plátano (*Musa balbisiana*) en bicapa en la presente investigación (Tabla 6). Cabe indicar que, al incorporar el aceite esencial y realizar la doble capa se producen irregularidades en la superficie por lo que el espesor tiende a incrementar su valor.

**Tabla 6.** Espesor (mm) de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).

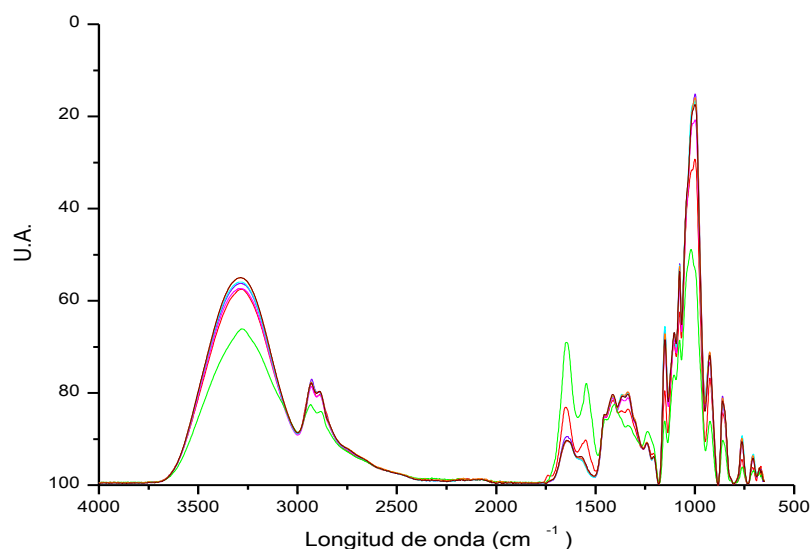
Tratamientos	Espesor (mm)
AG0,5	0,21 $\pm$ 0,04a
AG1	0,27 $\pm$ 0,04b
AG1,5	0,26 $\pm$ 0,06ab
AE0,5	0,23 $\pm$ 0,07ab
AE1	0,25 $\pm$ 0,05ab
AE1,5	0,26 $\pm$ 0,04ab
Control	0,23 $\pm$ 0,04ab

Los resultados son la media  $\pm$  desviación estándar. Letras diferentes (a, b) en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0,05$ ). **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno

Utilizando una prueba de Tukey, el análisis estadístico determina que si existe diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre las muestras AG0,5 y AG1 con relación a los demás tratamientos. Arancibia *et al.* (2014), en películas activas en bicapa de proteína de soya y lignina, con la adición de aceite esencial de citronela, obtuvieron un espesor de  $0,24 \pm 0,02$  mm, valores similares a los obtenidos experimentalmente (Tabla 6).

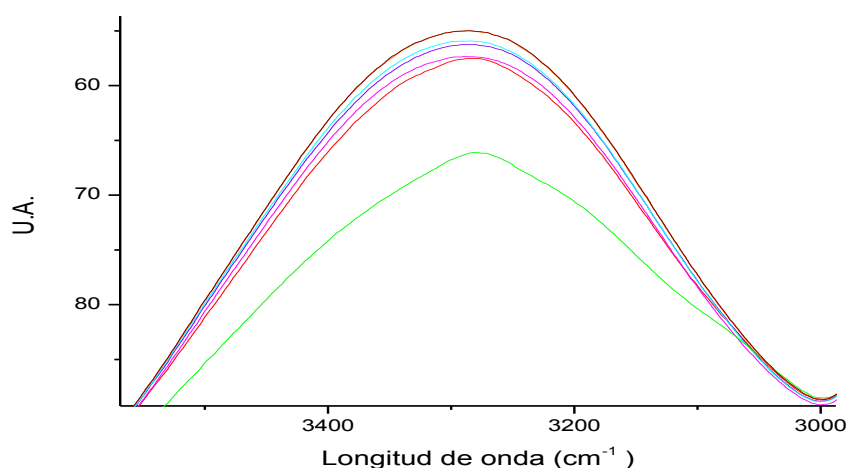
#### 4.1.3. Espectroscopia de infrarrojo FTIR-ART.

La espectroscopia FTIR se utilizó para evaluar la compatibilidad entre los componentes de las películas biodegradables activas, ya que, cuando se mezclan dos o más sustancias las interacciones físicas y químicas se reflejan en cambios característicos de los espectros FTIR (Yin *et al.*, 1999; & Guan *et al.*, 1998). Los espectros FTIR de las películas biodegradables activas en el intervalo de  $4000 \text{ cm}^{-1}$  -  $500 \text{ cm}^{-1}$  se muestran en la Figura 8.



**Figura 8.** Espectros de infrarrojo de las películas biodegradables activas de harina de plátano (*Musa balbisiana*). Control (línea roja); AEs Geranio 0,5 % (línea violeta); AEs Geranio 1,0 % (línea fucsia), AEs Geranio 1,5 % (línea turquesa); AEs Eucalipto 0,5 % (línea verde); AEs Eucalipto 1,0 % (línea naranja); AEs Eucalipto 1,5 % (línea café).

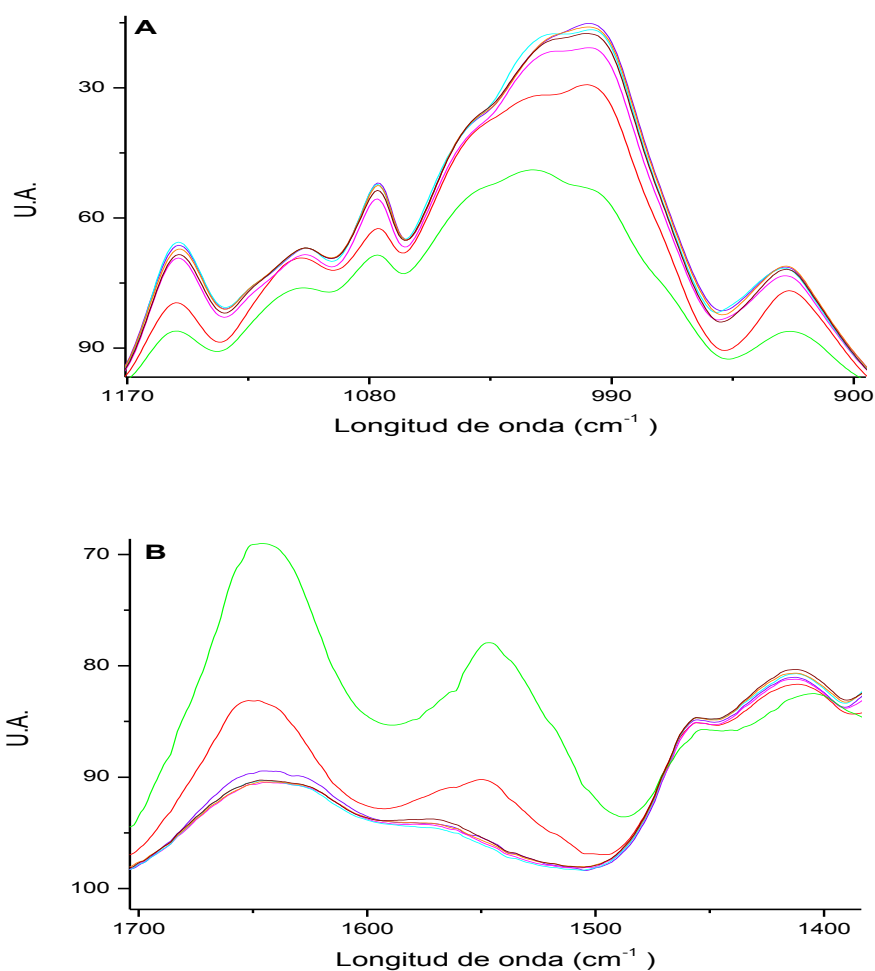
Una amplia banda de adsorción situada a  $3281\text{ cm}^{-1}$  (Fig. 9) puede estar relacionada con el contenido de humedad de la película, debido a la presencia de grupos hidroxilo provenientes del agua adsorbida del ambiente (58 % Humedad relativa, HR) y del glicerol utilizado como plastificante (Arancibia, 2014). Sin embargo no se pudo observar una correlación directa con el contenido de agua, este hecho puede estar relacionado a la presencia y distribución del aceite esencial en la matriz polimérica.



**Figura 9.** Ampliación de banda de las películas biodegradables activas. Control (línea roja); AEs Geranio 0,5 % (línea violeta); AEs Geranio 1,0 % (línea fucsia), AEs Geranio 1,5 % (línea turquesa); AEs Eucalipto 0,5 % (línea verde); AEs Eucalipto 1,0 % (línea naranja); AEs Eucalipto 1,5 % (línea café).

Las bandas localizadas a  $920\text{ cm}^{-1}$ ,  $1074\text{ cm}^{-1}$  y  $1145\text{ cm}^{-1}$  (Fig.10A) corresponden al estiramiento del enlace C-O, siendo el pico  $1074\text{ cm}^{-1}$  característico del estiramiento O-C en el anillo de anhidroglucosa que forma parte de la estructura del almidón (Zhang & Han, 2006). En la figura 10B, se puede observar un pico a  $1413\text{ cm}^{-1}$  que se atribuye a la deformación simétrica de  $-\text{CH}_3$  (Salleh *et al.*, 2009). Las bandas que aparecen a  $1459\text{ cm}^{-1}$  y  $1659\text{ cm}^{-1}$  se asignan a las flexiones  $\delta$  del grupo  $-\text{CH}_3$  y del O-H del agua respectivamente (Mano *et al.*, 2003). Estos

resultados son comparables con los documentados por otros autores (Zhang & Han, 2006; Fang *et al.*, 2002; Kacuráková & Wilson, 2001). Whilhem *et al.* (2003), observaron que el pico que corresponde al glicerol se encuentra ubicado a  $1458\text{ cm}^{-1}$  (Fig.10B); la baja intensidad de esta señal y su similitud a la película control en los espectros obtenidos, indicaría que el plastificante agregado fue químicamente enlazado por las cadenas de almidón y/o moléculas de agua.



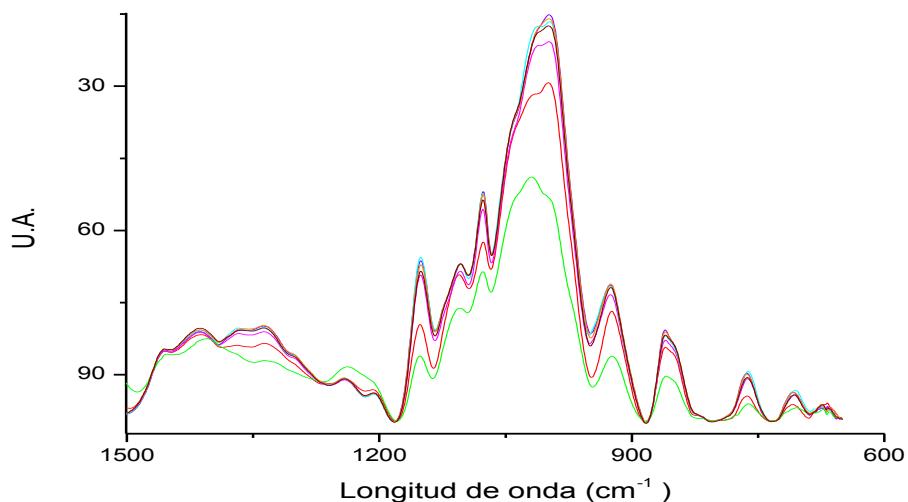
**Figura 10.** Ampliación de banda de las películas biodegradables activas (harina de plátano). **A)** En el intervalo de longitud de onda de  $1170\text{ cm}^{-1}$  -  $900\text{ cm}^{-1}$ ; **B)** En el intervalo de longitud de onda de  $1700\text{ cm}^{-1}$  -  $1400\text{ cm}^{-1}$ . Control (línea roja); AEs Geranio 0,5 % (línea violeta); AEs Geranio 1,0 % (línea fucsia), AEs Geranio 1,5 % (línea turquesa); AEs Eucalipto 0,5 % (línea verde); AEs Eucalipto 1,0 % (línea naranja); AEs Eucalipto 1,5 % (línea café).

Según Goodfellow (1990), en el análisis de FTIR de los polisacáridos, la región entre  $1300\text{ cm}^{-1}$  –  $900\text{ cm}^{-1}$ , es el dominio más sensible a los cambios en la conformación molecular. Probablemente, los cambios que ocurren en esta región no son debidos a cambios en la estructura molecular sino a cambios moleculares como flexiones en los grupos CH y COH, sin la implicación de una conformación estructural, que podría verse ampliamente influenciada por la incorporación de un aceite esencial.

En la región conocida como la huella dactilar, que comprende desde  $400\text{ cm}^{-1}$  a  $1250\text{ cm}^{-1}$  (Olsen, 1990), se observan bandas características en los espectros entre  $923\text{ cm}^{-1}$  y  $1162\text{ cm}^{-1}$  (Fig.11), que se atribuyen al estiramiento del enlace C-O (Goheen & Wool, 1991). El pico localizado a  $1455\text{ cm}^{-1}$  es asignado a la flexión del grupo  $\text{CH}_2$  y el pico amplio a  $2928\text{ cm}^{-1}$  es característico de los estiramientos C-H asociados con el anillo de glucopiranososa propio del almidón (Mano *et al.*, 2003).

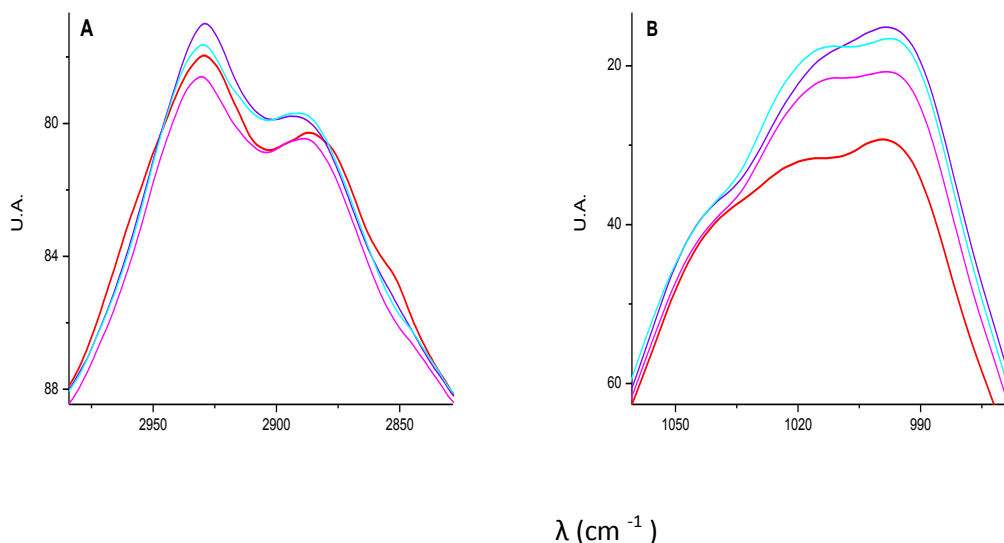
Guarnizo *et al.* (2013), indican que la estructura de la amilosa y amilopectina del almidón de plátano presenta picos característicos entre  $1045\text{ cm}^{-1}$  a  $1022\text{ cm}^{-1}$  respectivamente. En la Figura 11, podemos observar picos característicos a  $1045\text{ cm}^{-1}$  y  $1022\text{ cm}^{-1}$  que se encuentran solapados en todas las películas biodegradables activas ya que su principal componente es el almidón de plátano. Guarnizo *et al.* (2013), relacionaron estos picos con la estructura de la amilosa y amilopectina del almidón de plátano, respectivamente.

Asimismo, la intensidad de cada pico varía en función de la interacción de los componentes con la matriz polimérica. A concentraciones bajas de aceite esencial la interacción con la matriz del polímero es mejor, lo que no sucede a concentraciones altas ya que se presume que el aceite esencial es liberado de la matriz.



**Figura 11.** Espectros comprendidos entre intervalo de longitud de onda de  $500\text{ cm}^{-1}$  -  $1500\text{ cm}^{-1}$ . Control (línea roja); AEs Geranio 0,5 % (línea violeta); AEs Geranio 1,0 % (línea fucsia), AEs Geranio 1,5 % (línea turquesa); AEs Eucalipto 0,5 % (línea verde); AEs Eucalipto 1,0 % (línea naranja) y AEs Eucalipto 1,5 % (línea café).

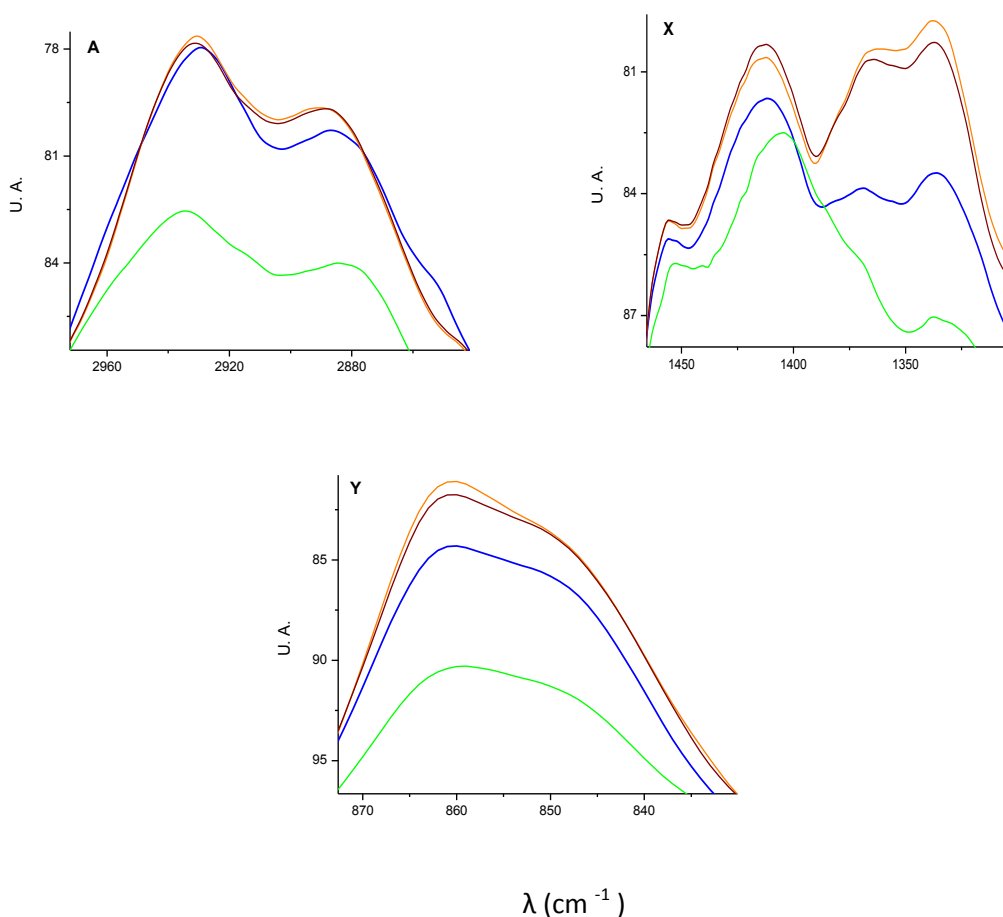
El aceite esencial de geranio presenta dos picos característicos del geraniol (compuesto activo mayoritario), que aparecen a  $2929\text{ cm}^{-1}$  (Fig.12A) y  $1003\text{ cm}^{-1}$  (Fig.12B) (Real Sociedad de Química, 2014). En la Figura 12, se puede observar que la menor intensidad del pico aparece a concentraciones de aceite esencial de 1 % (Fig. 12, línea fucsia), es decir a esta concentración el geraniol presenta una alta interacción química con la matriz polimérica. Por otro lado, a concentraciones de 0,5 % (Fig. 12, línea violeta) y 1,5 % (Fig. 12, línea turquesa), la intensidad del pico es relativamente alta lo que haría pensar que existe una liberación del aceite esencial debido probablemente a una escasa interacción con la matriz polimérica.



**Figura 12.** Espectros de infrarrojo de las películas biodegradables activas en condiciones ambientales: **A)** En el intervalo de longitud de onda de  $2975\text{ cm}^{-1}$  -  $2850\text{ cm}^{-1}$ ; **B)** En el intervalo de longitud de onda de  $1065\text{ cm}^{-1}$  -  $975\text{ cm}^{-1}$ . Control (línea roja), Aceite esencial de geranio a concentración 0,5 % (línea violeta): concentración 1,0 % (línea fucsia) y concentración 1,5 % (línea turquesa).

Uno de los componentes mayoritarios del aceite esencial de eucalipto es el cineol (eucaliptol); éste compuesto presenta bandas características que aparecen a longitudes de onda de  $2934\text{ cm}^{-1}$  y  $2884\text{ cm}^{-1}$  (Real Sociedad de Química 2014). En la figura 13 A, se puede observar que el aceite esencial a una concentración de 0,5 % interactúa con la matriz polimérica, debido a que a esa longitud de onda aparece el estrechamiento C-H del almidón. A mayor concentración de aceite esencial (1,0 % y 1,5 %) la intensidad de la banda es equivalente a la del control, lo que probablemente indica la no interacción con la matriz polimérica. La intensidad de las bandas situada alrededor de  $1414\text{ cm}^{-1}$  -  $1338\text{ cm}^{-1}$  (Fig. 13B), asignadas a la flexión en el plano del grupo  $\text{CH}_2$  y del grupo C-OH, respectivamente, disminuye conforme disminuye la concentración de aceite esencial lo que podría estar relacionado con una mayor interacción del aceite esencial con la matriz polimérica a concentraciones bajas y una mayor liberación

de aceite esencial a mayor concentración. En la Figura 13C, la banda localizada alrededor de  $860\text{ cm}^{-1}$  característica de la flexión de enlace C-C-H y C-O-C coincide con la presencia de cineol y concuerda con lo detallado anteriormente respecto a la interacción de la matriz polimérica con el aceite esencial

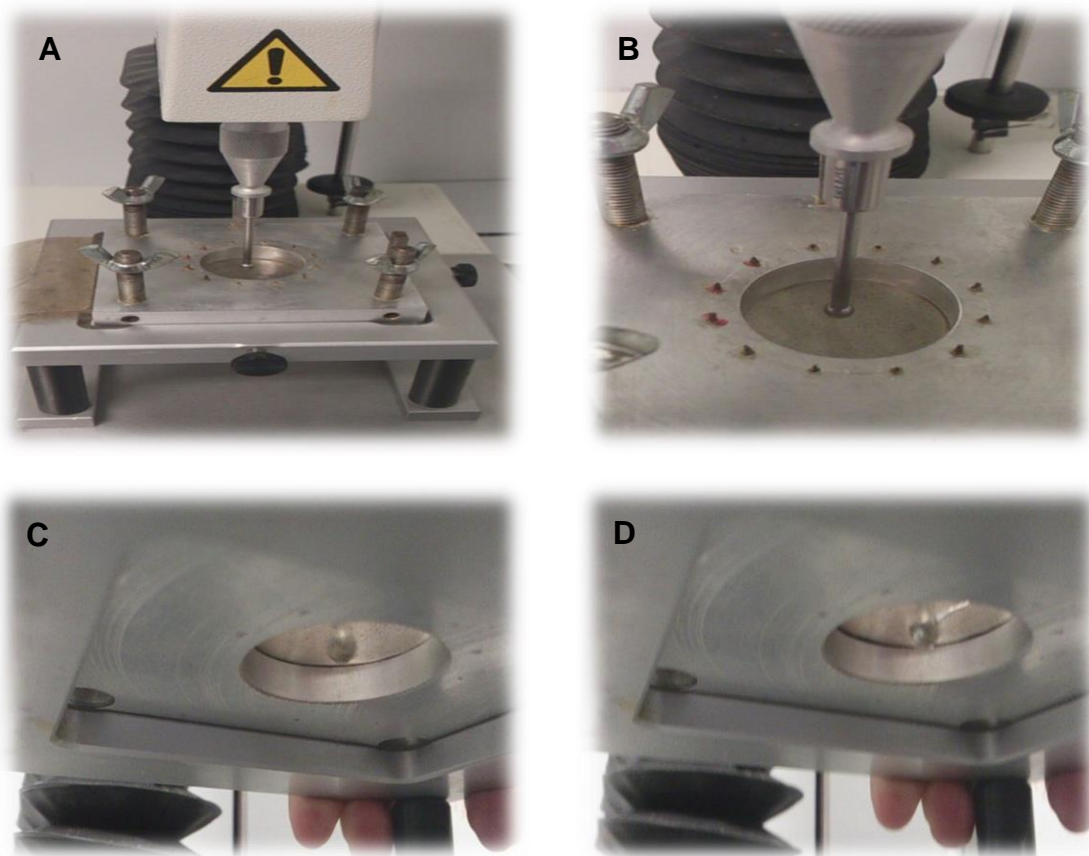


**Figura 13.** Espectros de infrarrojo de las películas biodegradables activas en condiciones ambientales: **A)** En el intervalo de longitud de onda de  $2972\text{ cm}^{-1}$  -  $2841\text{ cm}^{-1}$ ; **B)** En el intervalo de longitud de onda de  $1465\text{ cm}^{-1}$  -  $1303\text{ cm}^{-1}$ ; **C)** En el intervalo de longitud de onda de  $872\text{ cm}^{-1}$  -  $830\text{ cm}^{-1}$ . Control (línea azul), Aceite esencial de eucalipto a concentración 0,5 % (línea verde); concentración 1,0 % (línea naranja); concentración 1,5 % (línea café).



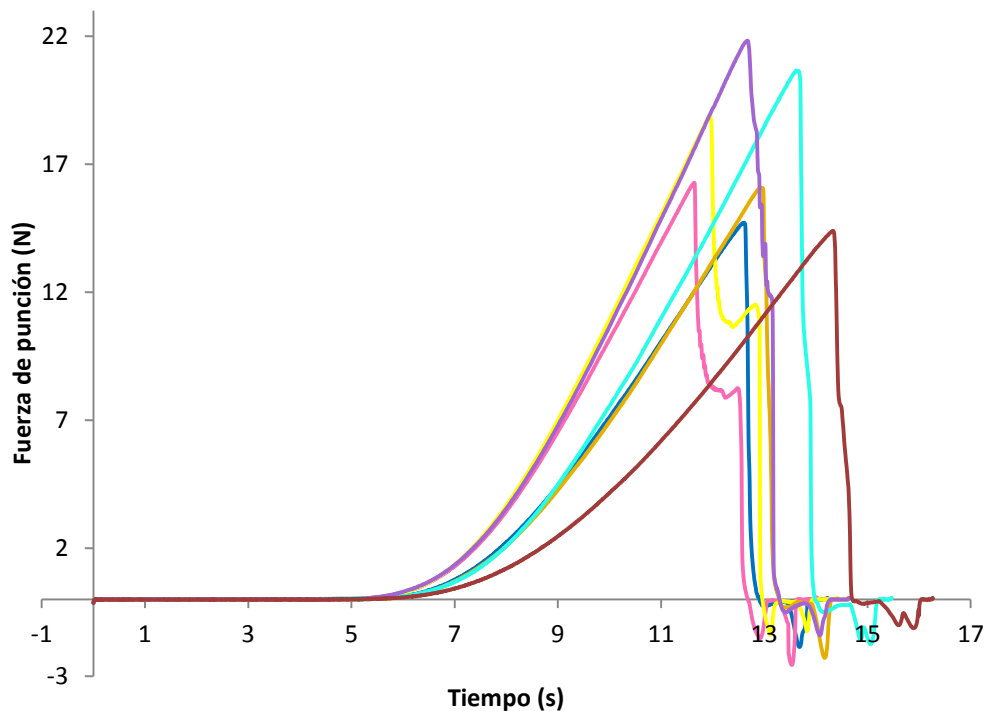
#### 4.1.4. Propiedades mecánicas.

La fuerza de punción, expresada en Newtons (N), es una propiedad mecánica muy útil para determinar la resistencia y rigidez de los materiales. Así, las películas biodegradables activas elaboradas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), fueron sometidas a la prueba de punción (Fig. 14).



**Figura 14.** Fuerza de Punción (N), siguiendo el método descrito por Arancibia (2014). **A:** Analizador de textura TA.XT2 plus + muestra (película). **B, C:** Proceso de punción de la película. **D:** Rotura de película.

En la Figura 15 se observan los resultados de resistencia a la punción (N) para cada una de las muestras analizadas, antes de su rompimiento. La película que contenía aceite esencial de eucalipto al 1,5 % (AE1,5), es el que más resistencia mecánica presentó con respecto a las demás películas.



**Figura 15.** Fuerza de punción (N) de las películas biodegradables activas de harina de plátano (*Musa balbisiana*). Control (línea café); AEs Geranio 0,5 % (línea azul); AEs Geranio 1,0 % (línea rosado), AEs Geranio 1,5 % (línea amarillo); AEs Eucalipto 0,5 % (línea naranja); AEs Eucalipto 1,0 % (línea turquesa) y AEs Eucalipto 1,5 % (línea violeta).

En la Tabla 7 se presentan los valores de resistencia a la punción para cada una de las películas biodegradables activas. Se puede observar que al aumentar la concentración del aceite esencial (geranio y eucalipto), la resistencia en las películas aumenta. El contenido de humedad también es responsable de las propiedades mecánicas. De hecho, un contenido de humedad mayor en las películas, ejerce un efecto plastificante importante, lo que reduce la resistencia mecánica y aumenta la flexibilidad de las películas (Delville *et al.*, 2002; Godbillot *et al.*, 2006). Al aumentar la concentración de los aceites esenciales el contenido de humedad disminuyó, por lo tanto aumentó la resistencia mecánica y rigidez de las películas pero su flexibilidad fue menor.

Por otro lado, durante el secado de las películas el agua se evapora, permitiendo de este modo la formación de una red de almidón. En esta etapa, la proximidad de las cadenas de almidón inducida por un mayor contenido de amilosa, puede facilitar la formación de una matriz con mayor contenido de polímero por área (Alves *et al.*, 2007). Las películas ricas en amilosa presentan una buena resistencia mecánica, pero poca flexibilidad (Lourdin *et al.*, 1995). Éste comportamiento, observado en las películas obtenidas, ha sido documentado por otros autores en achira (Andrade-Mahecha *et al.*, 2012), amaranto (Tapia-Blácido *et al.*, 2007) y quinua (Araujo-Farro, 2008).

**Tabla 7.** Fuerza de resistencia a la punción (N) de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).

Tratamientos	Fuerza de punción (N)
AG0,5	14,71 ± 0,71a
AG1	17,59 ± 1,28ab
AG1,5	20,71 ± 3,50ab
AE0,5	16,11 ± 0,23abc
AE1	20,68 ± 1,79ab
AE1,5	22,69 ± 0,10b
Control	14,71 ± 0,56abc

Los resultados son la media ± desviación estándar. Letras diferentes (a, b, c) en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0,05$ ). **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

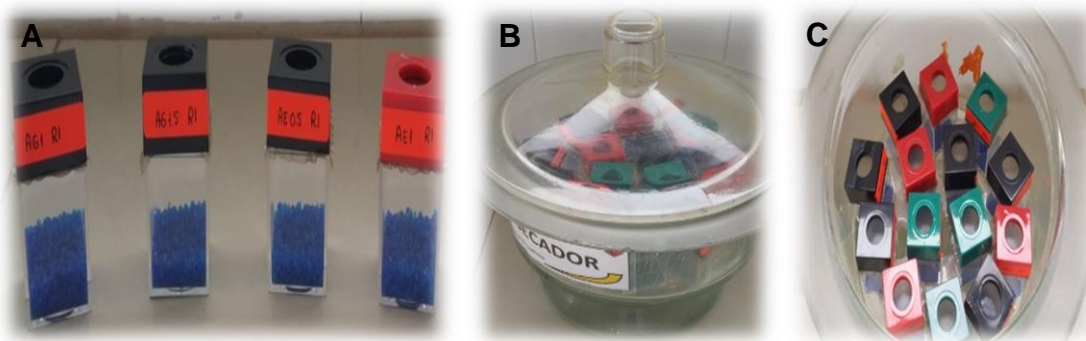
Los valores de fuerza de punción (N), de las películas biodegradables fueron mucho más altos que los encontrados por Franciele *et al.* (2013), debido a que las películas fueron elaboradas en bicapa, esto influye directamente en la rigidez y resistencia mecánica de las mismas. El método de obtención de las películas influye en la resistencia a la punción, Franciele *et al.* (2013), Obtuvo valores de fuerza de punción aproximadamente de 6,0 N en películas monocapa de almidón nativo de plátano, mientras que para las películas en bicapa del presente estudio,

se obtuvieron valores aproximadamente de 14,71 N. Conforme aumenta la concentración del aceite esencial, aumenta la resistencia a la punción, existiendo además diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ). Para las muestras AG0,5 vs. AE1,5 es decir el tipo de aceite esencial influye en la fuerza de resistencia de la película biodegradables.

### Propiedades de barrera al agua.

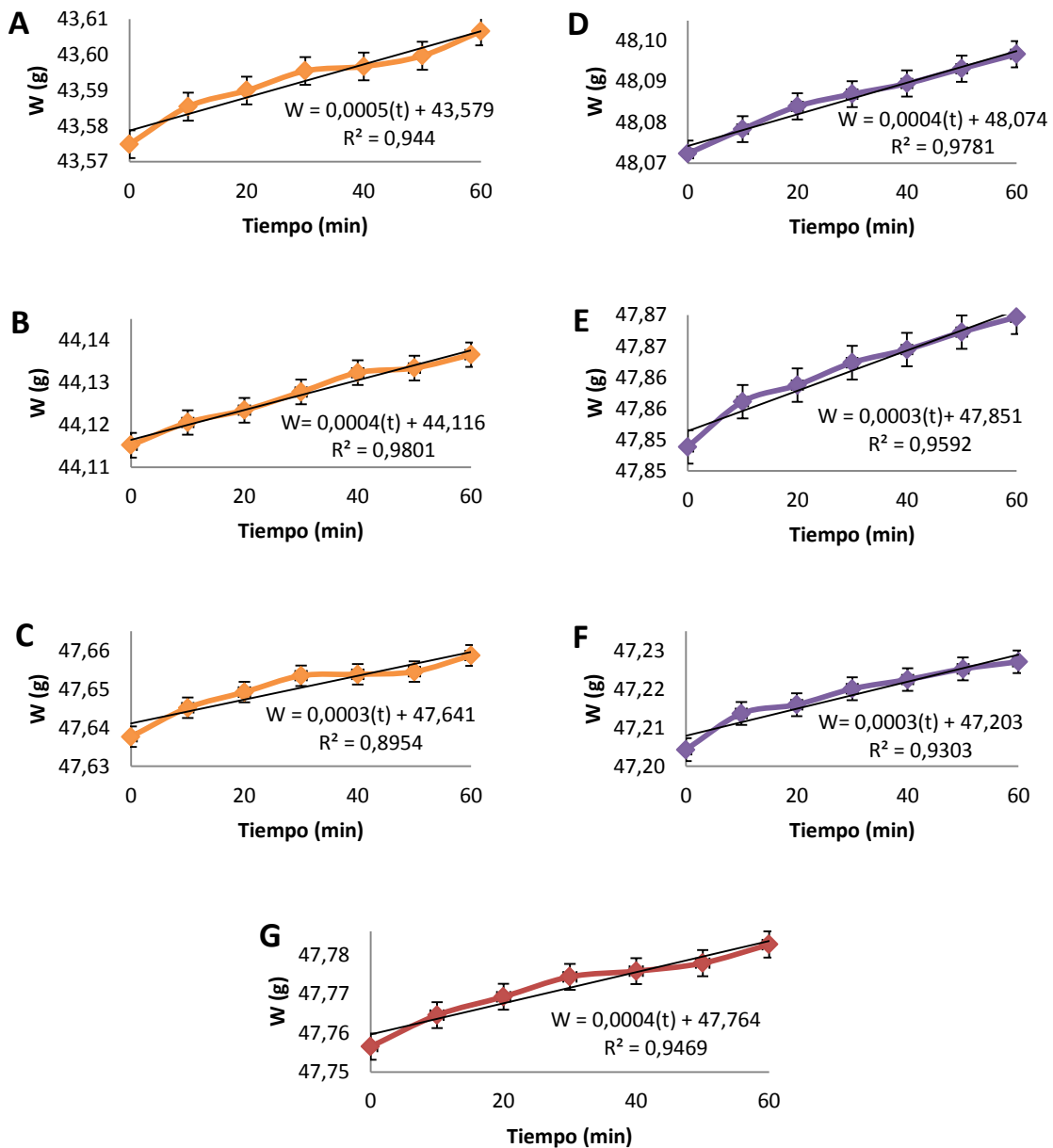
#### 4.1.5. Permeabilidad al vapor de agua (PVA).

La permeabilidad al vapor de agua se determinó siguiendo el método descrito por Sobral *et al.* (2001) (Fig. 16).



**Figura 16.** Permeabilidad al vapor de agua (PVA). **A:** Recipientes (película + gel de sílice). **B:** Desecador con agua destilada (100 % HR). **C:** PVA durante 1 hora.

Durante el ensayo se observó la tendencia lineal que existe entre la ganancia de peso y el tiempo en cada película biodegradable activa. Los resultados se muestran en la Figura 17.



**Figura 17.** Permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), donde A: Aceite esencial de geranio a 0,5 % de concentración; B: Aceite esencial de geranio a 1,0 % de concentración; C: Aceite esencial de geranio a 1,5 % de concentración; D: Aceite esencial de eucalipto a 0,5 % de concentración; E: Aceite esencial de eucalipto a 1,0 % de concentración; F: Aceite esencial de eucalipto a 1,5 % de concentración; y G: Muestra control.

Al incorporar los aceites esenciales (geranio y eucalipto, respectivamente) e incrementar la concentración de los mismos en las películas, disminuye la PVA (Tabla 8). La mayor disminución se observó a concentraciones de aceite esencial de eucalipto a 1,5 % p/v. Pranoto *et al.* (2005) & Mazura *et al.* (2007), trabajaron con películas de alginato y aceites esenciales de limón y ajo, respectivamente, obteniendo resultados similares ( $3,0 \times 10^{-10}$  y  $2,58 \times 10^{-10}$  g.mm.h<sup>-1</sup>.Pa<sup>-1</sup>.cm<sup>2-1</sup>) que guardan conformidad con los de esta investigación al utilizar aceite esencial al 1,5 %.

La incorporación de aceites esenciales puede afectar la propiedad hidrofílica o hidrofóbica de la película debido a la naturaleza hidrofóbica de los mismos (Ojagh *et al.*, 2010). Asimismo, Franciele *et al.* (2013), realizaron un estudio comparativo de las propiedades de la harina y almidón de plátano (*Musa paradisiaca*) en películas, obteniendo una PVA ( $3,1 \pm 0,2$  g.mm.h<sup>-1</sup>.Pa<sup>-1</sup>.cm<sup>2-1</sup>), este valor es muy similar a la muestra control ( $3,42 \pm 0,00$  g.mm.h<sup>-1</sup>.Pa<sup>-1</sup>.cm<sup>2-1</sup>) la cual no contiene aceite esencial.

**Tabla 8.** Permeabilidad al vapor de agua (PVA) de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).

Tratamientos	PVA ( $\times 10^{-10}$ g.mm.h <sup>-1</sup> .Pa <sup>-1</sup> .cm <sup>2-1</sup> )
AG0,5	3,42 ± 0,00abc
AG1	3,12 ± 1,03abc
AG1,5	2,55 ± 0,88c
AE0,5	3,77 ± 0,06abc
AE1	3,29 ± 0,62abc
AE1,5	3,01 ± 0,61abc
Control	5,00 ± 0,00b

Los resultados son la media ± desviación estándar. Letras diferentes (a, b, c) en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos (P≤0,05). **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

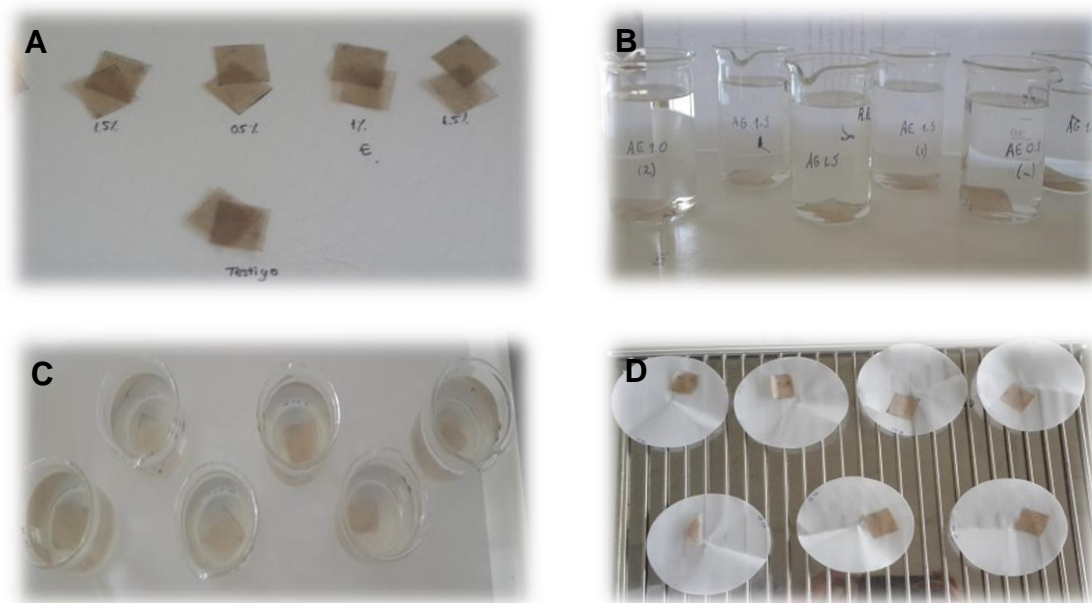
Un análisis estadístico mediante una prueba de Tukey muestra que existen diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre los tratamientos Control y AG1,5. La permeabilidad al vapor de agua (PVA) es relativamente mayor en comparación con la película con aceite esencial de eucalipto. También se puede observar que a una concentración de 0,5 % AEs de geranio y 0,5 % de AEs de eucalipto, la permeabilidad al vapor de agua es más alta, lo que representa una desventaja para estas películas ya que son más susceptibles a la transferencia de humedad del ambiente, lo que no sucede con las muestras que presentan menor PVA. La función principal de un material de envasado de alimentos es controlar la transferencia de humedad entre el alimento y la atmósfera circundante, o entre dos componentes de un producto alimenticio heterogéneo, para ello la PVA debe ser tan baja como sea posible (Gontard *et al.*, 1992).

Diversos autores han realizado estudios sobre el efecto que tiene la concentración del plastificante, específicamente el glicerol, sobre los valores de permeabilidad al vapor de agua de películas (Cuq *et al.*, 1997; García *et al.*, 1999; Mali *et al.*, 2006). Los aceites esenciales pueden actuar como agentes plastificantes (Appendini & Hotchkiss, 2002). Al aumentar el contenido del plastificante (AEs + glicerol), aumentan los valores de PVA, esto se debe a modificaciones estructurales que se producen en la red de almidón en combinación con el carácter higroscópico del glicerol, además el glicerol presentan una elevada capacidad de interactuar con cadenas de almidón, mejorando así la movilidad molecular y aumentando el volumen libre en la matriz de la película (Sothornvit & Krochta, 2001).

#### **4.1.6. Solubilidad de las películas (SP).**

La solubilidad es un factor importante que determina la resistencia al agua y/o humedad de una película, especialmente cuando van a ser utilizadas para proteger alimentos (Gnanasambadam *et al.*, 1997). Si bien, un porcentaje bajo de solubilidad (SP) de las películas durante el almacenamiento, podría ser ventajoso, un porcentaje alto de solubilidad durante la cocción de productos envueltos en

películas, también lo sería (Laohakunjit & Noomhorn, 2004). En la Figura 18, se muestra el proceso para la determinación de solubilidad al agua (SP), según el método descrito por (Arancibia, 2014).



**Figura 18.** Solubilidad al agua (SP) según el método descrito por Arancibia (2014). **A:** Control y películas activas (4cm<sup>2</sup>). **B, C:** Estabilidad de las muestras durante el ensayo; **D:** Muestras después del proceso de secado a 105 °C por 24 horas.

Al aumentar la concentración del aceite esencial en las películas biodegradables a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) la solubilidad al agua disminuye ( $P \leq 0,05$ ) (Tabla 9). Esto se debe no solo al carácter hidrofóbico del aceite esencial sino también a los componentes de la matriz polimérica. El valor de solubilidad más bajo obtenido es la concentración de 1,5 % de AEs de eucalipto ( $7,45 \pm 0,09$  %SP), este resultado es menor, en comparación con los obtenidos por Romero-Bastidas *et al.* (2011), y Ojagh *et al.* (2010), los cuales utilizaron almidón de plátano como matriz polimérica y aceite esencial de canela al 1,5 % de concentración ( $26,55 \pm 0,43$  %SP).



Los resultados de solubilidad (SP) y permeabilidad al vapor de agua (PVA) guardan relación entre sí, ya que al aumentar la concentración de aceite esencial (geranio y eucalipto), los valores de SP y PVA disminuyen. Todas las películas se mantuvieron intactas después de 24 horas, momento en que se detuvo el experimento.

**Tabla 9.** Solubilidad (SP) de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).

Tratamientos	SP (%)
AG0,5	11,29 ± 0,50a
AG1	9,70 ± 0,30bc
AG1,5	8,56 ± 0,17cd
AE0,5	10,19 ± 0,70ab
AE1	9,34 ± 0,11bc
AE1,5	7,45 ± 0,09d
Control	11,59 ± 0,01a

Los resultados son la media ± desviación estándar. Letras diferentes (a, b, c, d) en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos ( $P \leq 0,05$ ). **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

#### 4.1.7. Resistencia al agua.

La resistencia al agua se determinó siguiendo el método descrito por Blanco-Pascual *et al.* (2013) (Fig. 19).



**Figura 19.** Resistencia al agua según el método descrito por Blanco-Pascual *et al.* (2013). **A:** Recipiente + muestras (películas). **B:** Filtración de agua.

En las Tablas 10,11,12,13,14,15 y 16 se pueden observar los resultados obtenidos para elongación (cm), filtración de agua (ml) y tiempo de rotura (h) para cada película biodegradable activa durante 72 h, momento en el que se detuvo el experimento. Las películas con AEs al 0,5 % de concentración (Tabla 10 y; Tabla 13), son mucho más débiles que a concentraciones mayores. La muestra control (Tabla 16) es la muestra más débil a la resistencia al agua e incluso su tiempo de rotura es de tan solo 46 horas. Al incrementar la concentración del aceite esencial la resistencia al agua aumenta (Tabla 12 y; Tabla 15), este comportamiento puede estar relacionado a la propiedad hidrofóbica de los aceites esenciales, que favorece la barrera al agua en las películas.

**Tabla 10.** Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) con AEs de geranio a una concentración del 0,5 % p/v.

<b>Tiempo elongación (h)</b>	<b>0,13</b>	<b>0,56</b>	<b>5,92</b>	<b>19,05</b>	<b>48,00</b>	<b>72,00</b>
<b>Elongación (cm)</b>	0,1±0,07	0,1±0,07	0,1±0,04	0,1±0,04	0,3±0,07	0,4±0,07
<b>Filtración de agua (ml)</b>	22					
<b>Tiempo de rotura (h)</b>	Irrompible					

**Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

**Tabla 11.** Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) con AEs de geranio a una concentración del 1,0 % p/v.

<b>Tiempo elongación (h)</b>	<b>0,43</b>	<b>0,58</b>	<b>1,15</b>	<b>4,42</b>	<b>48,00</b>	<b>72,00</b>
<b>Elongación (cm)</b>	0,4±0,07	0,4±0,07	0,4±0,07	0,4±0,07	0,5±0,07	0,5±0,07
<b>Filtración de agua (ml)</b>	18					
<b>Tiempo de rotura (h)</b>	Irrompible					

**Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

**Tabla 12.** Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) con AEs de geranio a una concentración del 1,5 % p/v.

<b>Tiempo elongación (h)</b>	<b>0,45</b>	<b>0,59</b>	<b>2,02</b>	<b>19,32</b>	<b>48,00</b>	<b>72,00</b>
<b>Elongación (cm)</b>	0,5±0,21	0,6±0,04	0,6±0,07	0,6±0,07	0,7±0,07	0,7±0,07
<b>Filtración de agua (ml)</b>	17					
<b>Tiempo de rotura (h)</b>	Irrompible					

**Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

**Tabla 13.** Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) con AEs de eucalipto a una concentración del 0,5 % p/v.

<b>Tiempo elongación (h)</b>	<b>0,02</b>	<b>0,59</b>	<b>2,03</b>	<b>5,93</b>	<b>48,00</b>	<b>72,00</b>
<b>Elongación (cm)</b>	0,1±0,07	0,1±0,07	0,1±0,00	0,2±0,04	0,2±0,04	0,2±0,07
<b>Filtración de agua (ml)</b>	29					
<b>Tiempo de rotura (h)</b>	60					

**Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

**Tabla 14.** Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) con AEs de eucalipto a una concentración del 1,0 % p/v.

<b>Tiempo elongación (h)</b>	<b>0,47</b>	<b>0,61</b>	<b>2,05</b>	<b>4,43</b>	<b>48,00</b>	<b>72,00</b>
<b>Elongación (cm)</b>	0,1±0,07	0,2±0,07	0,3±0,07	0,4±0,14	0,4±0,14	0,4±0,14
<b>Filtración de agua (ml)</b>	24					
<b>Tiempo de rotura (h)</b>	Irrompible					

**Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

**Tabla 15.** Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) con AEs de eucalipto a una concentración del 1,5 % p/v.

Tiempo elongación (h)	0,29	1,12	2,08	4,45	48,00	72,00
Elongación (cm)	0,6±0,14	0,6±0,14	0,7±0,07	0,7±0,07	0,8±0,07	0,8±0,07
Filtración de agua (ml)	16					
Tiempo de rotura (h)	Irrompible					

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

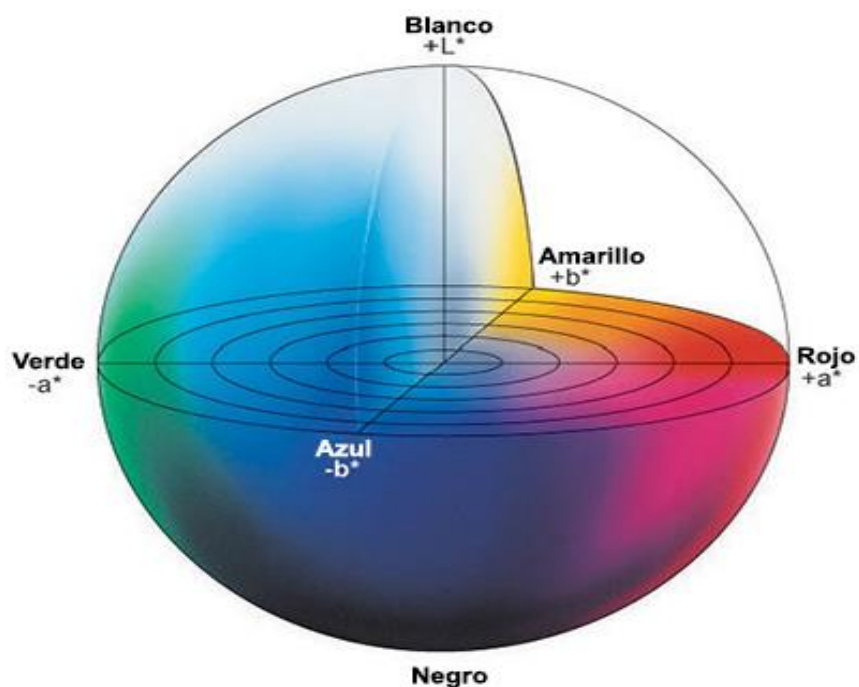
**Tabla 16.** Resistencia al agua de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) sin AEs “Control”

Tiempo elongación (h)	0,46	12,20	19,35	24,03	48,00	72,00
Elongación (cm)	0,2±0,07	0,2±0,07	0,3±0,07	0,3±0,07	0,4±0,21	0,4±0,21
Filtración de agua (ml)	35					
Tiempo de rotura (h)	46					

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

#### 4.1.8. Propiedades ópticas.

El color es un factor importante para determinar la apariencia de las películas a ser utilizadas en alimentos. Las coordenadas L\*, a\*, b\* de la escala CIE representa: a\*, la variación rojo/verde, tomando valores positivos para el primero y negativo para el segundo; el parámetro b\*, representa la variación amarillo/azul, siendo positivo para el primero y negativo para el segundo y el parámetro L\* de luminosidad varía entre 0, para el negro mate y 100 para el blanco (Fig. 20).



**Figura 20.** Espacio tridimensional de color CIELAB (López, 2011).

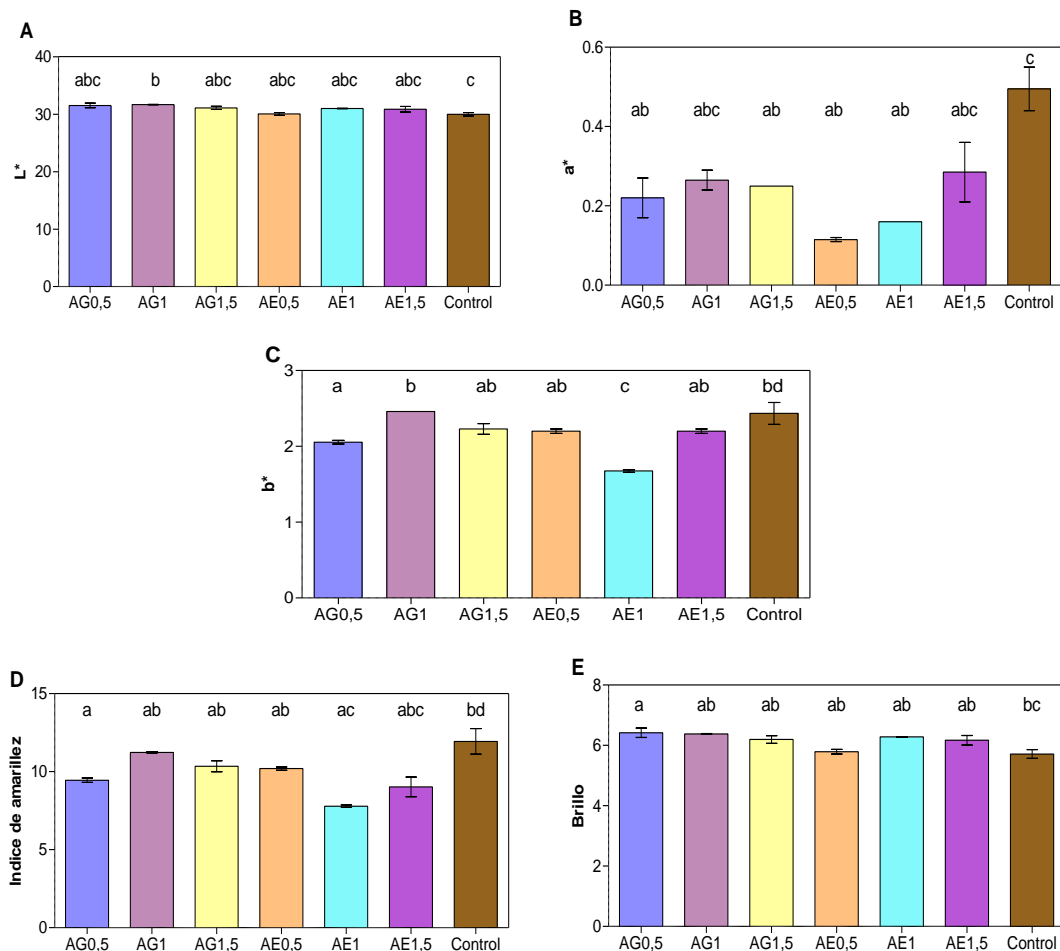
En la Figura 21, se presentan los parámetros de color:  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , índice de amarillez y brillo para cada una de las películas. Los valores de luminosidad  $L^*$ , se ubicaron entre 29,99 y 31,66 para todas las muestras, lo que indica una tendencia hacia el gris, este color es característico del almidón de plátano gelatinizado. Los valores del parámetro  $a^*$  fueron cercanos a cero, lo que indica la ausencia de tonos característicos del color rojo, mientras que los valores del parámetro  $b^*$  fueron cercanos a 2,5 lo que indica tendencia al color amarillo. Pelissari *et al.* (2012), obtuvieron valores de color en películas de harina de plátano (*Musa paradisiaca*), muy similares a los obtenidos en esta investigación ( $L^*$ :  $34,50 \pm 0,05$ ;  $a^*$ :  $-0,08 \pm 0,05$  y  $b^*$ :  $2,20 \pm 0,05$ ).

Estudios sobre el color de las películas de harina y almidón de la misma especie botánica obtenidas por otros autores han puesto de manifiesto la tendencia hacia el amarillo ( $L^*$ :  $35,59 \pm 0,03$ ;  $a^*$ :  $-0,01 \pm 0,01$  y  $b^*$ :  $0,76 \pm 0,01$ ) (Andrade-Mahecha, 2009; Araujo-Farro, 2008; Tapia-Blácido, 2006).

En este caso, el contenido de proteína, lípidos y fibra en la harina podrían contribuir con una menor transparencia en las películas. Este hecho podría ser una ventaja cuando se necesita mayor protección frente a la luz incidente, en productos alimenticios que son susceptibles a reacciones de degradación catalizadas por la luz. Según Fakhouri *et al.* (2007), la opacidad de las películas puede variar dependiendo del contenido de amilosa, cuyas moléculas de la naturaleza lineal tienden a favorecer enlaces de hidrógeno estrechos entre los grupos hidroxilo de las cadenas adyacentes.

En lo que respecta al brillo (Fig. 21), las películas de harina de plátano (*Musa balbisiana*), presentaron valores alrededor de 5,72 - 6,38, los cuales son similares a los resultados para películas de harina de plátano (*Musa paradisiaca*) obtenidos por Pelissari *et al.* (2012) que se situaron cerca de 7,8. Este parámetro es importante debido a que el brillo es una propiedad que está íntimamente relacionada con la superficie de contacto, y está influenciada por la distribución del tamaño de partícula empleado en la formulación de la película (Moraes *et al.*, 2008). Una mejor distribución del tamaño de partícula, produce películas más uniformes con superficies más pulidas y brillantes (Trezza & Krochta, 2001).

Mediante una prueba comparativa de Tukey, se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre el control y algunas de las muestras (Figura 21), Es decir que la incorporación de aceite esencial (geranio y eucalipto, independientemente de su concentración), influye ligeramente en los parámetros de color.



**Figura 21.** Parámetros de color: **A:** Luminosidad (L\*); **B:** rojo-verde (a\*); **C:** amarillo-azul (b\*); **D:** Índice de amarillez; **E:** Brillo, de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).

Con respecto a las propiedades de transparencia, las películas obtenidas presentaron una transparencia de aproximadamente 35 % en todos los casos, sin existir diferencias significativas ( $P \geq 0,05$ ). En general, las películas de plátano son menos transparentes que las películas elaboradas a base de harina de achira (18 %T) (Andrea-Mahecha, 2009), harina de amaranto de la especie *Amaranthus caudatus* (15,24 %T) (Tapia-Blácido, 2006), y las películas con harina de quinua (5,32 %T) (Araujo-Farro, 2008).

## Propiedades activas.

### 4.1.9. Actividad antimicrobiana.

Las películas en bicapa con AEs de eucalipto mostraron mayor actividad antimicrobiana frente a *Penicillium expansum*, que aquellas películas con AEs de geranio (Tabla 17). *Fusarium oxysporum* fue más sensible que *P. expansum*. Batish *et al.* (2008), indican que el efecto antimicrobiano del aceite de eucalipto, específicamente en los mohos, se fundamenta en reducir el crecimiento del micelio en un porcentaje de inhibición mayor al 70 % con sólo 10 µL/L de concentración. Los componentes principales del AEs de eucalipto tales como 1,8-cineol, α - pineno, y p- cimeno son más efectivos en mezcla que *per se* (Cimanga *et al.*, 2002).

**Tabla 17.** Actividad antimicrobiana cualitativa de las películas biodegradables activas con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control).

Tratamientos	Microorganismos	
	<i>F. oxysporum</i>	<i>P. expansum</i>
AG0,5	-	-
AG1	+	-
AG1,5	+	+
AE0,5	+	+
AE1	++	+
AE1,5	++	++
Control	-	-

++: Inhibidos; +: ligeramente inhibido; -: sin inhibición. **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.



Recientemente, Tzortzakis (2007), demostró que los vapores del aceite esencial de eucalipto representa una buena alternativa para mantener la frescura de la fresa y el tomate durante la postcosecha y la firmeza durante el almacenamiento y el transporte. Además, no se observó ningún cambio en la dulzura, acidez y el contenido de fenoles totales tras la exposición a los compuestos volátiles liberados del aceite esencial.

Es bien sabido que el AEs de geranio exhibe actividad biológica, especialmente antimicrobiana, debido a compuestos como el citronelal y el geraniol (Andoğan *et al.*, 2002; Pattnaik *et al.*, 1996). Aoudou *et al.* (2010), documentaron la actividad antifúngica del citronelal y el geraniol contra algunos mohos donde el género *Fusarium* fue el más sensible, seguido por el género *Aspergillus* y *Penicillium*. Los polifenoles inhiben el crecimiento de los microorganismos al formar complejos con sus enzimas y proteínas, también pueden disolver la membrana microbiana o la pared; así los polifenoles pueden penetrar en la célula, donde interactúan y alteran la barrera de permeabilidad selectiva de las estructuras de la membrana microbiana (Daglia, 2012; Sikkema *et al.*, 1994). Este hecho fue particularmente interesante ya que el género *Fusarium* es considerado uno de los factores responsables de enfermedades en los plátanos (Nel *et al.*, 2007).

En este sentido, el uso de compuestos antimicrobianos naturales tales como el AEs de eucalipto o AEs de geranio, puede ser una alternativa viable para evitar la proliferación de algunos hongos responsables del deterioro de los alimentos (Arancibia *et al.*, 2014).

## **Biodegradación.**

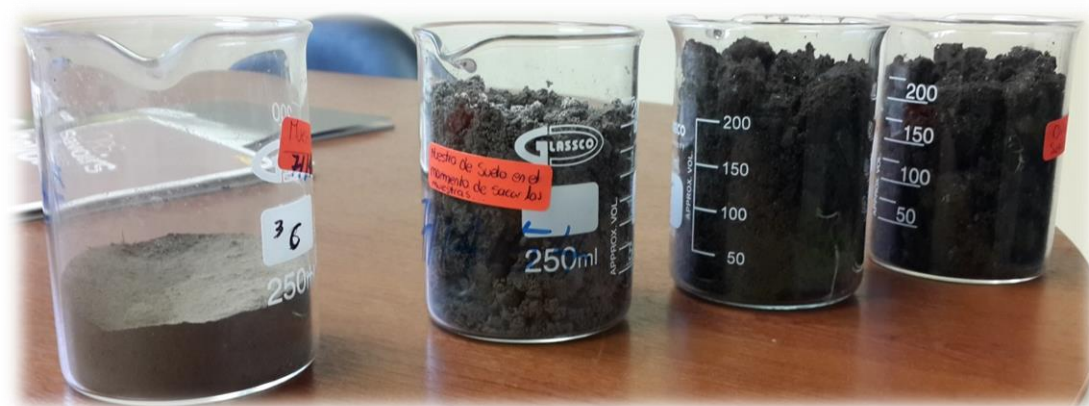
### **4.1.10. Características de suelo.**

Para determinar la biodegradación de las películas se utilizó el ensayo enterrado en tierra, previamente caracterizado (Tabla 18). En la Figura 22 se representa la muestra de suelo que se utilizó en los diferentes análisis.

**Tabla 18.** Características del suelo: humedad, pH, microbiología (recuento total) y contenido de nitrógeno total.

Muestra	Humedad [%]	pH	UFC/gr suelo [x10 <sup>5</sup> ]	Nitrógeno Total [%]
Suelo	1,22 ± 0,02	7,51 ± 0,06	4,47 ± 0,48	0,168

Los resultados son la media ± desviación estándar. **Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

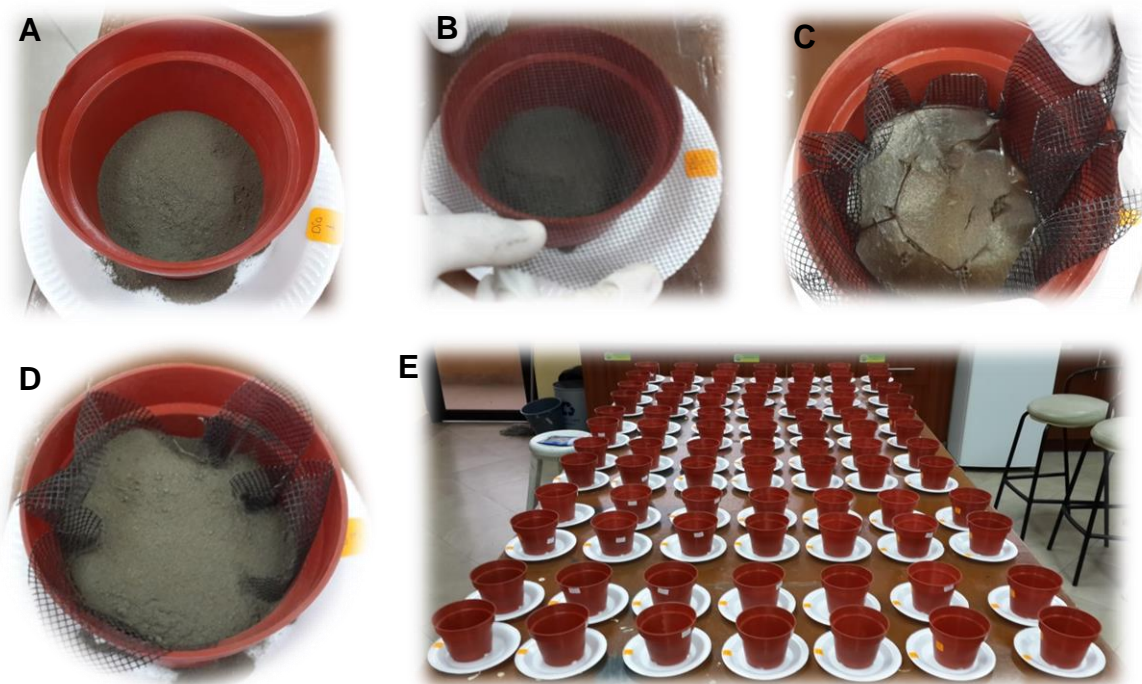


**Figura 22.** Muestra de suelo

#### 4.1.11. Ensayo de enterrado.

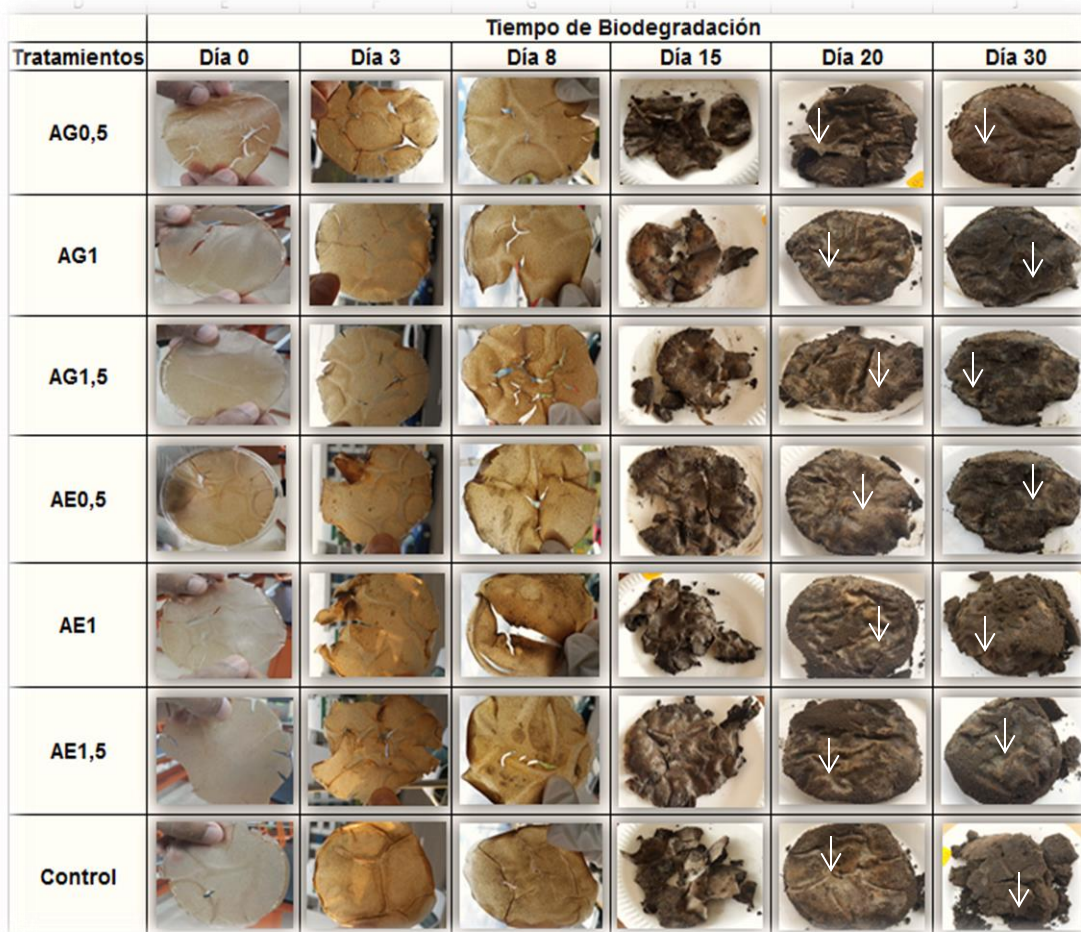
Las películas activas (previamente acondicionadas a 22-23 °C, Fig. 23) se dejaron en el suelo durante 30 días, expuestas a diversas condiciones atmosféricas (luz, oscuridad, aire, etc.) y esparciendo agua (cada 3 días) para simular condiciones de lluvia en el proceso de biodegradación. Estas películas presentaron cambios claramente visibles en cuanto a su apariencia física (Fig. 24). Estos resultados son muy similares a los obtenidos por López (2011), quien realizó un estudio de caracterización y aplicación de envases biodegradables de almidón, obteniendo como resultado un tiempo aproximado de degradación (48 días).

A partir del día 15 inicia la etapa de biodegradación (Fig. 24), esto se debe a que los microorganismos presentes en el suelo han comenzado a digerir la película ya que está compuesta por macromoléculas como proteínas, lípidos y polisacáridos (almidón). Este hecho se ve favorecido por las cadenas de amilosa, que absorben grandes cantidades de agua, haciendo la matriz más susceptible al ataque de los microorganismos, aumentando así la tasa de biodegradación (Myllarinen *et al.*, 2002).



**Figura 23.** Proceso de enterrado de las películas biodegradables activas. **A:** Muestra de suelo. **B:** Incorporación de malla separadora. **C:** Película + Malla separadora. **D:** Enterrado de películas. **E:** Proceso de biodegradación (30 días).

Una de las principales razones para el desarrollo de nuevos materiales provenientes de fuentes naturales renovables, es la posibilidad de disminuir la cantidad de residuos plásticos. La ventaja que tienen las materias primas naturales es que son considerados biodegradables, una vez utilizados, se descomponen bajo ciertas condiciones en un período de tiempo relativamente breve (López, 2011).

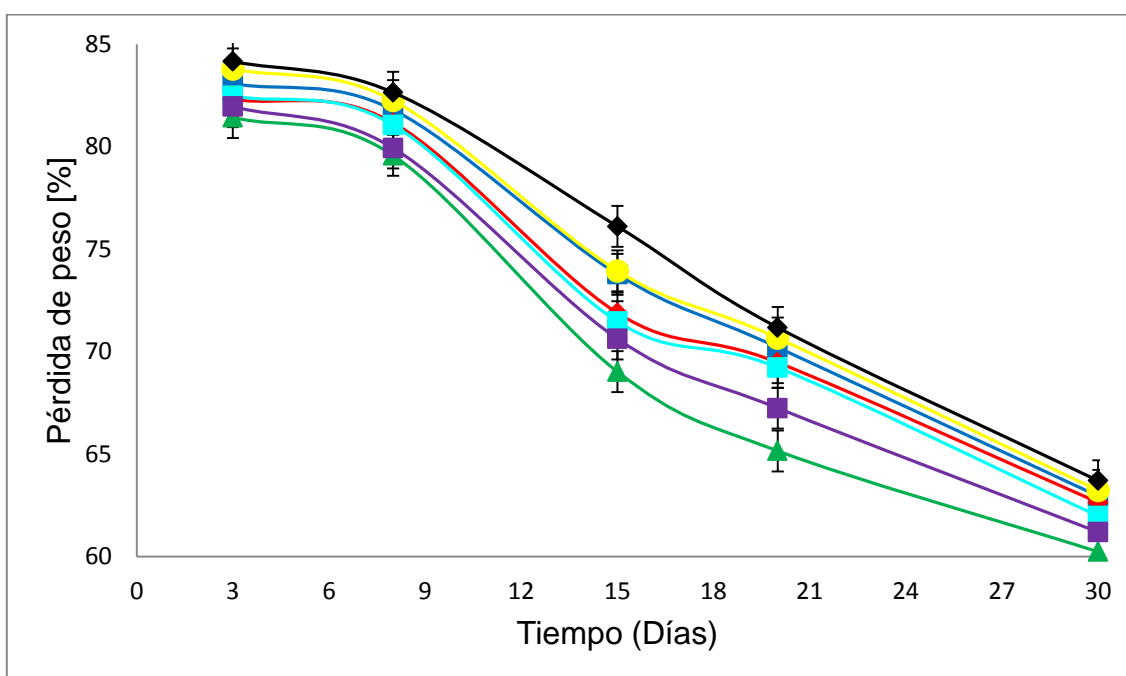


**Figura 24.** Apariencia de las películas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), con aceite esencial de geranio (AG) y eucalipto (AE) a concentraciones de 0,5 %; 1,0 % y 1,5 % (p/v) y sin aceite esencial (Control). Durante el ensayo de biodegradación después del acondicionamiento a temperatura ambiente durante 30 días. La flecha blanca nos indica los restos de película activa que permanecen como remanente durante el proceso de degradación.

### Pérdida de peso

Al final del experimento, las películas acondicionadas durante 30 días (Enero – Febrero) al 43 % de humedad relativa mostraron una pérdida de peso de  $20,46 \pm 0,47$ . Resultados similares (30 % de pérdida de peso) fueron obtenidos por Martucci & Ruseckaite (2009), para películas en multicapa de gelatina. En la Figura 25, se muestra la pérdida de peso de las películas activas elaboradas con

harina de plátano (*Musa balbisiana*). La pérdida de peso de las películas activas en comparación con la muestra control, muestran que los tratamientos que contienen aceite esencial de geranio y eucalipto disminuyen gradualmente de peso y por ende, pierden más peso. Éste hecho puede ser debido a que estos aceites son liberados por la matriz de la película con mayor facilidad (Arancibia, 2014), aumentando así su tasa de biodegradación, por lo tanto no se registraron diferencias significativas ( $P \geq 0,05$ ) para cada periodo de tiempo (3, 8, 15, 20 y 30 días).



**Figura 25.** Pérdida de peso [%] de las películas activas enterradas a temperatura ambiente en el suelo con luz natural y riego. Control (Negro); AEs Geranio 0,5 % (Azul); AEs Geranio 1,0 % (Rojo), AEs Geranio 1,5 % (Verde); AEs Eucalipto 0,5 % (Amarillo); AEs Eucalipto 1,0 % (Turquesa); AEs Eucalipto 1,5 % (Púrpura).

La pérdida de peso puede estar relacionada con la pérdida de materiales solubles en agua o de compuestos de bajo peso molecular (glicerol), y con la actividad microbiana, en especial por la degradación enzimática (Arancibia, 2014). Una vez terminado el ensayo de biodegradación de las películas activas y control (30 días),

se realizó un análisis del contenido de nitrógeno total en el suelo. En la Tabla 20, se muestran los resultados del porcentaje de contenido de nitrógeno total inicial (día 0) y final (día 30).

**Tabla 19.** Contenido de nitrógeno total [%] para la muestra de suelo

Muestra	Nitrógeno Total inicial [%]	Nitrógeno Total 30 días [%]
Suelo	0,168	0,113

**Elaborado por:** Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL); Anexo 2.

En los resultados obtenidos en la Tabla 19 se puede notar una disminución del contenido de nitrógeno en la muestra final (30 días), lo que nos hace suponer que el proceso de biodegradación no genera cambios significativos en el suelo. En la Figura 26, se puede observar el crecimiento de una raíz (flecha blanca).

**Muestra Final (Día 30)**



**Figura 26.** Suelo durante el proceso de biodegradación de las películas biodegradables activas de plátano (*Musa balbisiana*).

#### **4.2. Verificación de la hipótesis.**

Una vez analizadas las propiedades fisicoquímicas, activas y de biodegradación se rechaza la hipótesis nula. En consecuencia se acepta la hipótesis alternativa, la cual afirma que el desarrollo de películas activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), permite obtener envases con actividad antimicrobiana y biodegradables.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se desarrollaron películas biodegradables activas utilizando como materia prima la harina de plátano (*Musa balbisiana*). Las películas presentaron actividad antimicrobiana por la incorporación de aceite esencial de geranio y aceite esencial de eucalipto.
- Las películas biodegradables activas con aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), a una concentración de 1,5 % p/p, presentaron mejoradas características fisicoquímicas y actividad biológica respecto a las desarrolladas con aceite esencial de geranio, independientemente de la concentración utilizada.
- Las películas obtenidas se biodegradan en el suelo, en condiciones normales, en tan solo 30 días.
- Las películas biodegradables activas incorporadas con aceite esencial de eucalipto al 1,5 % en peso, fueron aplicadas en oritos como alternativa de sustitución de las fundas plásticas sintéticas, y aumentaron la vida útil de los oritos por un tiempo de 14 días.

#### Recomendaciones

- Las películas biodegradables activas se desarrollaron siguiendo una metodología básica a través del “moldeo”. Sin embargo, para su elaboración a escala industrial es necesario adaptar la tecnología a un proceso de extrusión y termoformado.



## CAPÍTULO VI

### PROPUESTA\*

#### 6.1. Datos informativos.

**Título:** Fundas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), aplicadas a orito (*Musa acuminata* AA).

**Institución ejecutora:** Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

**Beneficiarios:** Sector bananero, grupos ecologistas (medio ambiente), sector agroindustrial, campo alimenticio y comunidad ecuatoriana.

**Ubicación:** Ambato, Ecuador.

**Tiempo estimado para la ejecución:** 3 meses

- **Inicio:** Octubre
- **Fin:** Diciembre

**Equipo técnico:** Egdo. Gabriel Moreno, Ing. MSc. Mirari Arancibia, PhD.

**Costo:** 2.252,16 USD.

#### 6.2. Antecedentes de la propuesta

El consumo de plásticos en el mundo se ha incrementado considerablemente en los últimos años. Los plásticos representan uno de los principales sectores industriales después del sector agroalimentario. Por desgracia, el crecimiento descrito no ha sido acompañado de avances similares en cuando al reciclado dada la escasa o nula biodegradación de estos materiales. Si bien entre los plásticos que mayoritariamente se reciclan se encuentra el polietileno, este proceso es eficaz únicamente cuando la cantidad de residuos es homogénea.

\*Naranjo, G., (2005). *Epistemología y Fundamentos de la Investigación – Enfoques, Métodos y Técnicas de la Investigación Científica*. UTA. Ambato.

Asimismo, en Ecuador el consumo de fundas plásticas sintéticas especialmente para uso de frutas ha ido en aumento, no así su reciclaje. Por otro lado, en la naturaleza existe material polimérico, como los carbohidratos (harinas), biomoléculas biodegradables que dan lugar a películas que pueden ser una alternativa al consumo de materiales derivados del petróleo. En este sentido, se ha buscado aprovechar el potencial de aplicación de estas materias primas naturales ampliamente disponibles, como lo es la harina de plátano, que pueden ser utilizadas como una alternativa de fundas biodegradables que, al envasarlas junto a frutas hacen que estas maduren con normalidad dentro de este envase, debido a que regula su tasa de respiración, evitando así el estrés de la fruta y permitiendo que se maduren condiciones óptimas y naturales.

### **6.3. Justificación**

En el campo alimenticio es de gran importancia el uso de plásticos sintéticos utilizados como bolsas plásticas o “fundas” (fundas transparentes de polietileno), su función principal es proteger a las frutas de agentes externos que puedan causarles daño. Cabe indicar que existen dos tipos de frutas: no climatéricas y climatéricas (oritos, plátanos, naranjas, etc.), estas últimas siguen con su proceso de maduración incluso después de haber sido cosechadas. Para esta clase de frutas climatéricas, la aplicación de fundas de polietileno (fundas plásticas) reduce su tasa de respiración, aumentando su estrés y por ende reduciendo su tiempo de almacenamiento.

La idea es desarrollar fundas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*) como materia prima, la que normalmente se genera como producto del gran porcentaje de rechazo que tiene el banano debido a su gran exigencia de exportación. Estas fundas biodegradables activas surgen como una alternativa de sustitución de los plásticos sintéticos (fundas), aportando con el medio ambiente, ya que se biodegradan en un período máximo de 30 días, enriqueciendo al suelo, debido a sus materiales altamente renovables y naturales.

Para cambiar el concepto que tienen los consumidores acerca del uso de fundas plásticas y el impacto ambiental que estas generan hay que promover capacitaciones, cursos y charlas acerca de los beneficios de los nuevos materiales biodegradables elaborados a partir de recursos naturales, los cuales pueden aportar significativamente con el enriquecimiento del suelo y más aun disminuyendo la contaminación medioambiental. Estas fundas biodegradables pueden ser incorporadas en el campo alimenticio como nuevos envases que a más de la protección aportan valor agregado que beneficia a cada uno de los alimentos.

#### **6.4. Objetivos.**

##### **6.4.1. Objetivo General.**

- Desarrollar fundas biodegradables activas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), y aplicarlas como envase de oritos (*Musa acuminata* AA).

##### **6.4.2. Objetivos específicos**

- Proponer una alternativa al uso de plásticos sintéticos en el envasado de frutas, a través del desarrollo de películas biodegradables activas.
- Determinar la vida útil del orito (*Musa acuminata* AA) envasado en fundas de películas biodegradables activas desarrolladas a partir de plátano (*Musa balbisiana*).
- Identificar cambios en las características sensoriales del orito (*Musa acuminata* AA) envasado en fundas desarrolladas a partir de películas biodegradables activas de plátano (*Musa balbisiana*).

## 6.5. Análisis de factibilidad.

Este trabajo de investigación es de carácter tecnológico, ya que con los resultados obtenidos se puede crear una nueva tecnología para elaborar fundas biodegradables con efecto antimicrobiano a partir de carbohidratos (harinas) y recursos naturales, reduciendo el impacto medio ambiental. Los resultados obtenidos en la presente investigación podrían ser de gran ayuda para la industria de envasado de alimentos, creando conciencia ambiental en los consumidores ecuatorianos y por qué no a nivel mundial. En la Tabla 20, se presenta un balance del costo que tiene efectuar la investigación planteada.

**Tabla 20.** Costes de la investigación.

Descripción	Cantidad	V. Unitario prom. (\$)	V. Total (\$)
Materiales de laboratorio	n.d	5,00 c/u	100,00
Materias primas	-	-	-
Harina de plátano	500 gr	1,60	3,20
Glicerol	1000 ml	2,50	2,50
Aceite esencial geranio	5 ml	10,00	120,00
Aceite esencial eucalipto	10 ml	7,00	49,00
Reactivos (cloruro de sodio)	80 gr	1,00	1,00
*Uso de aparatos y equipos	n.d	n.d	300,00
Uso de internet	400 h	0,80	32,00
Impresiones	120	0,10	12,00
Fotocopias	140	0,04	5,60
Anillados	2	1,80	3,60
Empastados	3	7,00	21,00
Insumos varios (Tierra, macetas, fundas, rotuladores, etc.)	n.d.	n.d	10,00
Transporte de muestras para análisis en España	300 gr	100,00	130,00
Análisis de muestras (ICTAN – CSIC)	7 muestras	208,88	1.462,26
<b>Sub. Total 2:</b>			<b>2.252,16</b>

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

## 6.6. Fundamentación.

La sociedad del conocimiento está sujeta a todos los cambios que se han venido introduciendo paulatinamente en los últimos años, por causa de la globalización. Como actores fundamentales de dicha sociedad, los investigadores deben contextualizarse y flexibilizarse para favorecer su adaptación con los nuevos retos en la generación de conocimiento. Las Instituciones de Educación Superior, son entidades fundamentales para producir impactos positivos en las sociedades a través de sus egresados quienes tienen la posibilidad de actuar como pilares de desarrollo tecnológico en la medida en que su desempeño brinde oportunidades y soluciones en su área de trabajo.

Respecto a las oportunidades y necesidades que se suscitan a diario en las sociedades, es pertinente observar la situación medio ambiental que es transversal a los diferentes campos del conocimiento, y sobre la cual se ha generado un interés progresivo en investigación por parte de los entes gubernamentales y privados en procura de evitar impactos negativos. Uno de los temas enmarcados en la problemática ambiental es el uso indiscriminado de plásticos provenientes de recursos fósiles, los cuales no son renovables y cuyas alternativas de disposición final no son amigables con el ambiente (Souza *et al.*, 2012).

En la actualidad, el consumo de plásticos convencionales obtenidos de fuentes fósiles está ocasionando graves problemas ambientales, dado que su disposición final genera acumulación en los rellenos sanitarios por su característica de no biodegradación y además su cuestionable proceso de reciclaje (Soroudi & Jakubowicz, 2013; Teixeira *et al.*, 2012; Girones *et al.*, 2012; Privas *et al.*, 2013; Mocicki *et al.*, 2012; Prachayawarakorn *et al.*, 2013), contexto en el cual, el sector de empaques alimentarios, tiene gran participación, siendo necesario abordar alternativas para contribuir en la mitigación de este inconveniente ambiental. Ahora bien, la innovación implica la implementación de los productos creados para

su uso en un mercado definido (Kok & Biemans, 2009), por ejemplo: bolsas biodegradables, recipientes para viveros, productos multicapa para industrias alimentarias de consumo masivo, entre otras aplicaciones, y es lo que en realidad permite medir la eficiencia de un nuevo desarrollo y su impacto en la sociedad.

Actualmente, los materiales plásticos biopoliméricos continúan en crecimiento ya que datos recientes muestran que la demanda mundial por este tipo de materiales superara las 300 millones de toneladas en el año 2015 (Murali *et al.*, 2013), creciendo más rápido que los plásticos sintéticos a base de petróleo. Esto está relacionado con factores como el interés mundial en el uso de los recursos renovables, el constante aumento del precio del petróleo, y la disminución de emisión de gases de efecto invernadero, los cuales aumentan la relevancia del uso de dichos biopolímeros en diversas aplicaciones.

Por otro lado, la aplicación de los materiales bioplásticos obtenidos se ha encaminado hacia los envases, en razón a que estos representan el 40 % de la producción mundial anual de plásticos (que excede los 250 millones de toneladas) (Chiellini, 2008). El uso de harina de plátano (*Musa balbisiana*) como fuente amilácea para elaborar los bioenvases es una alternativa importante, ya que su disponibilidad en Ecuador es alta. Sin embargo, para resolver algunos inconvenientes inherentes de esta materia prima, como fragilidad, inestabilidad frente a la humedad, entre otros, se requiere incorporar otro tipo de aditivos, como plastificantes, estabilizantes, materiales reforzantes (Nirmal *et al.*, 2011; Nam *et al.*, 2011; Teixeira *et al.*, 2009; Muller *et al.*, 2014), para incrementar las alternativas de aplicación en la obtención de productos funcionales.

## **6.7. Metodología.**

El presente estudio se realizará utilizando harina de plátano adquirida en el mercado local. Las películas se desarrollaron según la metodología descrita por Arancibia *et al.* (2014), utilizando la técnica de moldeo o “casting” en bicapa.

### **Primera Capa**

Se pesaron 5 g de harina de plátano en una balanza de precisión (Mettler Toledo) y se disolvieron en 95 ml de agua destilada con agitación constante. La disolución se calentó hasta alcanzar 80-90 °C, manteniendo agitación constante durante 5 min. Posteriormente se disminuyó la temperatura hasta alcanzar los 70 °C, se añadió glicerol al 50 % en peso respecto a la solución total. Una vez alcanzada la completa solubilización se filtró la mezcla. Para eliminar las burbujas la solución filmogénica se sumergió en un baño de ultrasonido (sonopuls HD 2070, DICSA, Germany), durante 15 minutos. Las películas se desarrollaron por el método del moldeo o “casting” para lo cual se pesaron 105,73 g de solución filmogénica en una bandeja plástica (400 cm<sup>2</sup>) y se secó en una estufa (Germyco, Gemmy Industrial Corp., EE.UU) a 60 °C durante 3 horas.

### **Segunda Capa**

La segunda capa se elaboró como se describió anteriormente pero en lugar del plastificante glicerol se utilizó 1,5 % en peso de aceite esencial de eucalipto (*Eucalytus globulus*, Isabrubotanik S.A, Ambato–Ecuador). Se utilizó una licuadora Oster, para homogenizar la solución durante 10 min, a una velocidad media. Posteriormente se filtró y colocó por 15 min en el baño de ultrasonido (sonopuls HD 2070, DICSA, Germany). Se pesaron cuidadosamente 70,48 g de solución filmogénica sobre la primera capa y se coloca en una estufa (Germyco, Gemmy Industrial Corp., EE.UU), a 60 °C por 6 horas. Una vez secas las películas se acondicionaron en un desecador con solución saturada de NaCl para mantener una humedad relativa del 75 % durante 72 horas.

**Tabla 21.** Modelo Operativo (Plan de acción).

Fases	Metas	Actividades	Responsabilidades	Recursos	Presupuesto (USD)	Tiempo (meses)
Formulación de la propuesta.	Elaborar películas biodegradables activas a partir de harina de plátano ( <i>Musa balbisiana</i> ).	Revisión bibliográfica.	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	170	1
Desarrollo de la propuesta.	Cronograma de la propuesta.	Pruebas preliminares de elaboración.	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	474,90	1
Implementación de la propuesta.	Ejecución de la propuesta.	Aplicación de fundas biodegradables en frutas.	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	1.462,26	1
Evaluación de la propuesta.	Comprobación del proceso.	Análisis sensorial de orito y evaluación del tiempo de vida útil.	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	145	2

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.



## 6.8. Administración.

La ejecución de la propuesta estará coordinada por los responsables de esta investigación: Egdo. Gabriel Moreno e Ing. MSc. Mirari Arancibia, PhD.

**Tabla 22.** Administración de la propuesta.

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Fundas biodegradables activas a partir de harina de plátano ( <i>Musa balbisiana</i> ), aplicadas a orito ( <i>Musa acuminata</i> AA).	Falta de información sobre la aplicación de biopolímeros como sustitución de bolsas plásticas sintéticas.	Aplicar la tecnología para elaboración de películas biodegradables activas, como bioensases en frutas, utilizando materiales renovables con el medio ambiente y de bajo costo.	<p>*Obtener el biopolímero activo a partir de harina de plátano (<i>Musa balbisiana</i>).</p> <p>*Evaluar las características sensoriales del orito (<i>Musa acuminata</i> AA), envasado con fundas biodegradables activas.</p> <p>* Determinar el tiempo de vida útil del orito (<i>Musa acuminata</i> AA), envasado con fundas biodegradables activas.</p>	Investigadores: Egdo. Gabriel Moreno, Ing. Mirari Arancibia, PhD.

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

## 6.9. Previsión de la evolución.

**Tabla 23.** Previsión de la evolución

PREGUNTAS BÁSICAS	EXPLICACIÓN
¿Quiénes solicitan evaluar?	Centro de investigación científica, sector agroindustrial, grupos ecologistas (medio ambiente), campo alimenticio y consumidores.
¿Por qué evaluar?	Aumento del impacto ambiental que tienen las bolsas plásticas sintéticas.
¿Para qué evaluar?	Desarrollar fundas biodegradables activas a partir de recursos naturales como carbohidratos (Harina de plátano).
¿Qué evaluar?	Características sensoriales y vida útil del orito ( <i>Musa acuminata</i> AA), envasado con fundas biodegradables activas y su capacidad termoselladora.
¿Quién evaluar?	Investigador. Tutor. Calificadores.
¿Cuándo evaluar?	Todo el tiempo, desde la caracterización del biopolímero hasta la obtención de un envase biodegradable para el orito ( <i>Musa acuminata</i> AA).
¿Cómo evaluar?	Utilizando equipos e instrumentos de evaluación.
¿Con qué evaluar?	Revisión bibliográfica, Normas internacionales, Datos experimentales, programas informativos y estadísticos.

**Elaborado por:** Gabriel A. Moreno T.

## 6.10. Aplicación del sistema modelo.

### Desarrollo de la funda biodegradable

Las películas en bicapa obtenidas anteriormente, fueron selladas mediante la técnica de pulso (154 °C durante 1,84 segundos por cuadruplicado), ampliamente utilizada en el cierre de películas sintéticas flexibles (Brody & Marsh, 1997). La técnica consiste en usar una termoselladora que calienta la resistencia hasta la temperatura de fusión y, por acción de un impulso eléctrico corto fusiona las matrices de forma homogénea (Cho *et al.*, 2007; Brody & Marsh, 1997; Osborn & Jenkins, 1992). En la Figura 27, se muestra el proceso de termosellado de las películas activas, hasta obtener en una bolsa biodegradable “fundas”.



**Figura 27.** Elaboración de las fundas biodegradables activas, utilizando la técnica desellado por impulso.

## Evaluación sensorial

Para juzgar las diferencias sensoriales, debidas a la aplicación de las películas en bicapa con aceite esencial sobre los oritos, se realizó una prueba sensorial con un panel semientrenado compuesto por 8 catadores que probaron las muestras siguiendo los procedimientos descritos por la norma (UNE87-006-92).

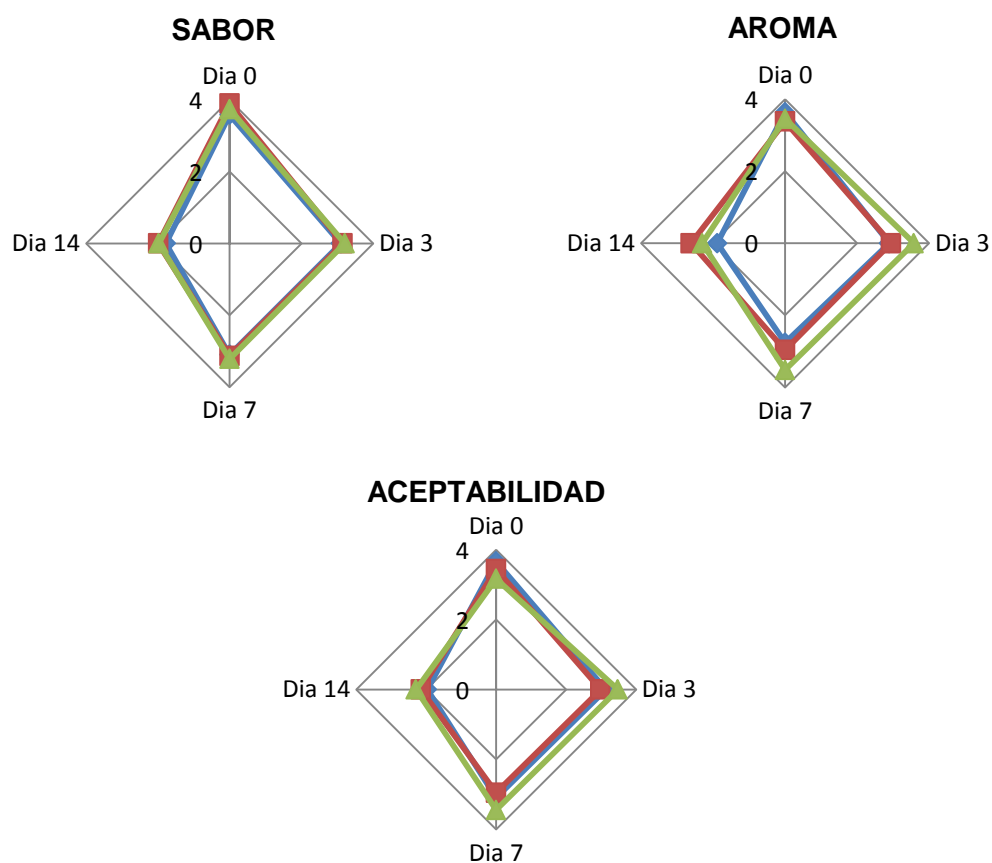
Los oritos se colocaron al interior de la bolsa, dejando un espacio libre para evitar el contacto directo de la fruta con la película, tanto con las películas en bicapa con aceite esencial como los controles fueron evaluados durante 14 días a temperatura ambiente.

Durante todo el período de conservación (14 días), los panelistas evaluaron la apariencia de la muestra con algunas modificaciones al método descrito por López-Caballero *et al.* (2007). Los panelistas evaluaron el olor, sabor y aceptabilidad utilizando una escala hedónica de 1 a 5, donde 1: nada característico/ me disgusta y 5: muy característico/ gusta mucho (Fig. 28).



**Figura 28.** Evaluación sensorial del orito (*Musa acuminata* AA), envasado con fundas biodegradables activas.

Los resultados de la evaluación sensorial se presentan en la Figura 29. No existieron diferencias significativas ( $P \geq 0,05$ ), en cuanto a sabor, aroma y aceptabilidad del orito. Las fundas desarrolladas con películas que contenían aceite esencial de eucalipto, no generaron cambios en las propiedades sensoriales de los oritos. Los resultados fueron comparables con los obtenidos al utilizar las fundas sin aceite esencial y el control (funda de polietileno).






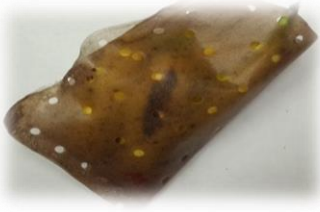








**Figura 29.** Evaluación sensorial del orito (*Musa acuminata* AA), envasado con fundas biodegradables activas vs. Tiempo de almacenamiento (días). Funda plástica sintética (azul), funda biodegradable “Sin aceite esencial” (rojo) y funda biodegradable activa “con aceite esencial “eucalipto” (verde).

## Tiempo de vida útil

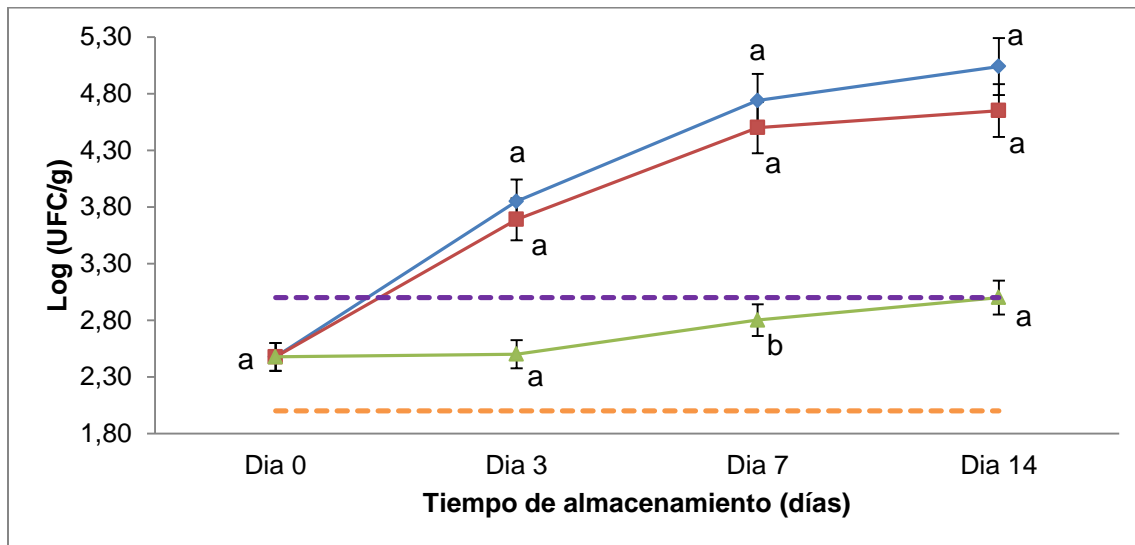
Para determinar el tiempo de vida útil, se realizaron recuentos de mohos y levaduras, durante los días 3, 7 y 14 de almacenamiento a 15 °C (Tabla 24).

**Tabla 24.** Envasado de oritos (*Musa acuminata* AA) y su tiempo de almacenamiento (días).

Día 0		
Funda plástica sintética	Funda biodegradable	Funda biodegradable activa
		
Día 3		
		
Día 7		
		
Día 14		
		

Elaborado por: Gabriel A. Moreno T.

El efecto antimicrobiano de las fundas biodegradables activas, se evaluó con placas rápidas para recuento de mohos y levaduras (RYM) (3M Petrifilm®). El aceite esencial de eucalipto reduce los recuentos de mohos y levaduras (UFC/g) para mohos y levaduras (Fig. 30), en comparación con los controles: funda biodegradable (sin aceite esencial) y funda plástica sintética (control). Esto se debe a que los aceites esenciales (como citronela, eucalipto, geranio y otros) en la fase de vapor, inhiben el crecimiento micelar, según lo observado por Passone *et al.* (2013), y Sellamuthu *et al.* (2013). La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se relaciona con la concentración, proporción y tipo de compuestos fenólicos (Ncube *et al.*, 2008). En el presente estudio una concentración de AEs de 1,5 % es suficiente para inhibir el crecimiento microbiano. Además, existen componentes mayoritarios en los aceites esenciales, el eucaliptol por ejemplo, ha sido descrito como un compuesto con capacidad antimicrobiana, antifúngica e insecticida (Singh & Maurya, 2005).



**Figura 30.** Log (UFC/g) mohos y levaduras vs. Tiempo de almacenamiento (días), para envasado de orito (*Musa acuminata* AA) con fundas plásticas sintéticas "control" (azul), fundas biodegradables "Sin aceite esencial" (Rojo) y fundas biodegradables activas "Aceite esencial eucalipto" (verde). Norma Codex *Alimentarius* CAC/GL-21(1997): Límite mín. (Línea naranja) y Límite máx. (Línea violeta).

A pesar de que las fundas se perforaron antes de su aplicación, la presencia de una película puede *per se*, reducir la transferencia de gases y la tasa de permeabilidad al oxígeno, modificando así las emisiones de etileno y el crecimiento microbiano (Arancibia, 2014) Es por ello que existieron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre muestras, con respecto al día 7 de almacenamiento.

El tiempo de vida útil del orito (*Musa acuminata* AA), almacenado en una película con AEs, fue de 14 días y se determinó mediante los límites permisibles microbiológicos de mohos y levaduras (límite min.  $10^2$  y límite máx.  $10^3$ ), de la Norma CAC/GL-21 (1997) del Codex *Alimentarius*. A través del cual se llega a la conclusión que los oritos envasados con fundas biodegradables activas (Con aceite esencial “eucalipto”), tienen un tiempo de vida útil de 14 días de envasado, ya que dentro de este período de tiempo sus estándares de calidad se encuentran dentro de la Norma CAC/GL-21. Mientras que las fundas biodegradables (sin aceite esencial), extienden un tiempo máximo de vida útil para almacenamiento de orito entre 3 a 4 días. Lo que no sucede con la muestras de oritos envasado con fundas plásticas, que en menos de 3 días la carga microbiana supera lo permitido por los estándares de calidad.

Es por ello que las fundas biodegradables activas son muy prometedoras en el campo alimenticio, ya que a más de proteger a alimentos, proporcionan un efecto antimicrobiano y es posible que aporte de una u otra manera un valor agregado a los alimentos que se envasen es este tipo de envolturas.



### **6.11. Conclusiones.**

- Se desarrollaron fundas biodegradables activas en bicapa para envasar oritos (*Musa acuminata* AA), utilizando como materia prima harina de plátano (*Musa balbisiana*), activadas con aceite esencial de eucalipto al 1,5 % en peso.
- Las películas elaboradas a partir de materiales naturales o recursos infrautilizados (harina de plátano) con capacidad filmogénica, presentaron actividad antimicrobiana y son una alternativa de sustitución al uso de plásticos sintéticos, no solo porque incrementa la vida útil de las frutas previniendo el deterioro, sino que se biodegradan fácilmente una vez desechadas.
- Las fundas biodegradables activas desarrolladas a partir de harina de plátano (*Musa balbisiana*), permiten extender la vida útil de oritos (*Musa acuminata* AA) en al menos 14 días, en comparación con las fundas biodegradables sin aceite esencial que extienden la vida útil en apenas 3 a 4 días, finalmente las fundas plásticas sintéticas no superaron los 3 días de almacenamiento. La carga microbiana de esta última envoltura aumentó considerablemente y sobrepasó los límites permisibles dispuestos por la Norma CAC/GL-21 (1997) del *Codex Alimentarius*.
- La aplicación de fundas biodegradables activas de plátano (*Musa balbisiana*), no confirió olores/sabores anómalos a los oritos (*Musa acuminata* AA), durante los 14 días de almacenamiento.

### **6.12. Recomendaciones**

- Las películas biodegradables activas se desarrollaron siguiendo una metodología básica a través del “moldeo”. Sin embargo, para su elaboración a escala industrial es necesario adaptar la tecnología a un proceso de extrusión y termoformado.

## CAPÍTULO VII

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

#### 7.1. Referencias Bibliográficas

- A.O.A.C. (1995). Official methods of analysis. En A. o. Chemistry. USA.
- Allsop, M., Adam, W., Santillo, D., & Johnston, P. (2007). Contaminación por plásticos en los océanos del mundo. *Greenpeace*.
- Alvarado, J., Almeida, A., Arancibia, M., Aparecida de Carvalho, R., Sobral, P., Barbosa, A., . . . Sereno, A. (2007). Método directo para la obtención de quitosano de desperdicios de camarón para la elaboración de películas biodegradables. *AFINIDAD*, 1-8.
- Alves, V., Mali, S., Beléia, A., & Grossmann, M. (2007). Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 941-946.
- Andersen, P., & Hodson, S. (2001). Thermoplastics starch compositions incorporating a particulate filler component.
- Andoğan, B., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbasar, D., & Mumcu, E. (2002). Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Archives of Pharmaceutical Research*, 25 (6), 860-864.
- Andrade-Mahecha, M., Tapia-Blácido, D., & Menegalli, F. (2012). Development and optimization of biodegradable films based on achira flour. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 449-458.
- Andrade-Mahecha, M. (2009). Development and characterization of films based on Canna indica L. flour. *Master thesis, Unicamp, Brazil*.
- Aoudou, Y., Léopold, T. N., Michel, J. D., Xavier, E. F., & Moses, M. C. (2010). Antifungal properties of essential oils and some constituents to reduce foodborne pathogen. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 1, 1-8.
- Arancibia, M. (2014). *Recubrimientos activos procedentes de recursos infrautilizados y residuos de la industria para su aplicación en agroalimentación*. Madrid - España: UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.
- Arancibia, M., López, E., Gómez, C., & Montero, P. (2014). Liberación de compuestos volátiles y biodegradación de películas activas de proteína de soja y lignina con la adición de aceite esencial de citronela. *Science Direct*, 7-15.

- Araujo-Farro, P. (2008). Development and optimization of biodegradable films made of products derived from "royal" variety quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) seeds. *PhD thesis. Unicamp, Brazil.*
- Araujo-Farro, P. C. (2008). Development and optimization of biodegradable films made of products derived from "royal" variety quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) seeds. *PhD thesis, Unicamp, Brazil.*
- Arvanitoyannis, I., Psomiadou, E., Nakayama, A., Aiba, S., & Yamamoto, N. (1998). Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols. *Food Chemistry*, 60, 593-604.
- Assis, O., & Pessoa, J. (2004). Preparation of thin films of chitosan for use as edible coatings to inhibit fungal growth on sliced fruits. *Brazilian Journal of Food Technology*.
- ASTM. (2005). Standard Test Method for determining anaerobic biodegradation of plastic materials under high-solids anaerobic-digestion conditions. *ASTM D5511-12.*
- ASTM D1925. (2013). *Indice de amarillamiento para plásticos.*
- ASTM D5210 - 92. (2007). *Standard Test Method for Determining the Anaerobic Biodegradation of Plastic Materials in the Presence of Municipal Sewage Sludge.*
- ASTM D6002 -96. (s.f.). *Standard Guide for Assessing the Compostability of .*
- ASTM D6400 - 04. (s.f.). *Standard Specification for Compostable Plastics.*
- ASTM D6400-04. (s.f.). *Standard specification for compostable plastics.*
- ASTM D6954 - 04. (s.f.). *Standard Guide for Exposing and Testing Plastics that Degrade in the Environment by a Combination of Oxidation and Biodegradation.*
- Atarés, L., Bonilla, A., & Chiralt, A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 678-687.
- Avérous, L., Fringant, C., & Moro, L. (2001). Plasticized starch cellulose interactions in polysaccharide composites. *Polymer*, 42, 6565-6572.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446-457.
- Balwin, E., Nisperos - Carriendo, M., & Baker, R. (1995). Use of edible coatings to preserve quality of lightly (and slightly) processed products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 35, 509-524.

- Bastioli, C., Lombi, R., Belloti, V., & Nicolini, M. (1999). Biodegradable polymer composition.
- Bastioli, C., Romano, G., Scarati, M., & Tosin, M. (1996). Biodegradable starch based articles.
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256 (12), 2166-2174.
- Bello-Pérez, L., Agama-Acevedo, E., Sánchez-Hernández, L., & Paredes-López, O. (1999). Isolation and partial characterization of banana starches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 854-857.
- Bikiaris, D., Pavlidou, E., Prinos, J., Aburto, J., Alric, I., Borredon, E., & Panayiotou, C. (1998). Biodegradation of octanoated starch and its blends with LDPE. *Polymer Degradation and Stability*, 60, 437-447.
- Bishop, C. (1995). Antiviral activity of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (Maiden and Bettche) Cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus. *Journal essential oil* , 7, 641-644.
- Blanco-Parcual, N., Fernández- Martín, F., & Montero , M. (2013). Effect of different protein extracts from *Dosidicus gigas* muscle co-products on edible films development. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 118-131.
- Bosquez-Molina, E., Rinquillo-de Jesús, E., Bautista-Baños, S., Verde-calvo, R., & Morales-Lopez, J. (2010). Evaluation of the inhibitory effect of essential oils against *Coletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 57, 132-137.
- Bravin, B., Peressini, D., & Sensidoni, A. (2004). Influence of emulsifier type and content on functional properties of polysaccharide lipid based edible films. *Journal of food science*, 52, 644-645.
- Brody, A., & Marsh, K. (1997). *Wiley Encyclopedia of Packaging Technology*. New York.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food a review. *Journal Food Microbiol*, 94, 223-253.
- Cagri, S., Ustunol, Z., & Ryser, E. (2001). Antimicrobial, mechanical and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing p-aminobenzoic or sorbic acids. *Journal of Food Science*, 66, 865-870.
- Carvalho, A., Job, A., Alves, N., Curvelo, A., & Gandini, A. (2003). Thermoplastics starch/natural rubber blends. *Carbohydrate polymer mixture*, 53, 95-99.

- CEN/ TR 15932. (2010). *Plastics - Recommendation for terminology and characterisation of biopolymers and bioplastics*.
- Chandra, R., & Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *proguess in plymer sciencie*, 23, 1273-1335.
- Chiellini, E. (2008). Environmetally compatible food packaging. 1 ed. *Cambridge (England): Woodhead Publishing*, 592.
- Cho, S., & Rhee, C. (2004). Mechanical propities and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. *Lebensmittel wissencchaft und techonologie*, 37, 833-839.
- Cho, S., Ullsten, H., Gallstedt, M., & Hedenqvist, M. (2007). Heat-Sealing properties of compression-molded wheat gluten films. *Journal of Biobased Material and Bioenergy*, 1, 56-63.
- Cimanga, K., Kambu, L., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., . . . Vlietinck, A. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal Ethnopharm*, 79, 213-220.
- CIMD. (2007). *Evaluacion de desempeño de embalajes plásticos ambientales degradables y de utensillos plásticos descartables para alimentos*. Informe final, Universidad estatal de california, California. USA.
- Cisneros, L., & Krochta, M. (2003). Recubrimientos comestibles. *Journal Food Science*, 68, 176.
- Coughlan, K., Shaw, N., & Kerry, J. (2004). Combine deffects of proteins and polysaccharide son physical properties of whey protein concentrate based edible films. *Journal of food science*, 69, 271-275.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J., & Guilbert, S. (1997). Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as effected by hydrophilic plasticizers. *Journal of Agricultural and Food Chemestry*, 45(3), 622-626.
- Daferera, D., Ziogas, B., & Polissiou, M. (2000). Analysis of essential oils from some Geek aromatic plants and their fungitoxity on *Penicillum digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2576-2581.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23 (2), 174-181.
- Daley, p., Patil, R., Mark, J., Vassileva, E., & Fakirov, S. (2000). Biodegradation of chemically modified gelatin films in soil. *Journal of polymer science*, 78, 1341-1347.

- Dangaran, K., Renner, J., & Krochta, J. (2006). Whay protein sucrose coating gloss and integrity stabilization by crystallization inhibitors. *Journal of food science*, 71, 152-157.
- Davis, G., & Song, J. (2006). Biodegradable packaging base on rawmaterials from crops and their impacto waste management. *Industrial crops and products*, 23, 147-161.
- De la Torre, R., Rivera, S., Ruíz, J., & Veloz, J. (2005). *Proyecto para reciclar el almidón de yuca para la fabricacion de fundas plásticas orgánicas*. Guayaquil: ESPOL.
- Delville, J., Joly, C., Dole, P., & Bliard, C. (2002). Solid state photocrosslinked starch based films; a new family of homogeneous modified starches. *Carbohydrate Polymers*, 49(1), 71-81.
- Diab, T., Biliaderis, C., & Stakiotakis, E. (2001). Physicochemical propertiesand application of pullulan adible films and coatings in fruit preservation. *Journal of Science Food and Agriculture*, 81, 998-1000.
- Dias-Alves, V., Mali, S., Beléia, A., & Grossmann, M. (2007). Effect og glycerol and amylose anrichment on cassava starch films properties. *Journal of Food Engineering*, 941-946.
- Diaz, S., & Hurtatiz, A. (2012). *Plan de negocio, diseño, fabricación y comercialización de bolsas biodegradables*. Facultad de postgrados, especialización en gerencia de proyectos. Universidad EAN, Bogota.
- Dobles, C., Zúñiga, M., & García, J. (1998). *Investigación en Educación: Procesos, Interacciones y Construcciones*. San José: EUNED.
- Donhowe, I., & Fennema, O. (1993). The effects of plasticizers on crystallinity, permeability and mechanical properties of methylcellulose films. *Journal of food process and preservation*, 17, 247-257.
- Dorman, H., & Deans, S. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterialactivity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
- Dutta, P., Tripathi, S., Mehrotra, G., Dutta, J., & Stakiotakis, E. (2009). Plastificantes. *Journal Food Chemical*, 114, 1173.
- El Comercio. (21 de Marzo de 2014). *Cereales la pradera y el MIPRO, firmaron convenio para una planta procesadora de harina de plátano*, pág. 5 C.
- EN 13432: 2000/ AC2005. (s.f.). *Packaging - Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation - Test scheme and evaluation criteria for the fi nal acceptance of packaging* .

- EN 14047. (2002). *Packaging - Determination of the ultimate aerobic biodegradability of packaging materials in an aqueous medium Method by analysis of evolved carbon dioxide*.
- EN 14995. (2006). *Plastics - Evaluation of compostability - Test scheme and specifications*.
- EN 14995:2006. (s.f.). *Plastics - Evaluation of compostability - Test scheme and specifications*.
- Espinosa, V., Jane, I., & Bello, L. (2009). Physicochemical characteristics of starches from unripe fruits of mango and banana. *Food technology*, 61, 291-299.
- European bioplastics. (Abril de 2012). *Oxo-biodegradable plastics*. Obtenido de <http://en.european-bioplastics.org/wp-content/uploads/fs/Bioplastics.pdf>
- Fakhouri, F. M., Fontes, L. C., Goncalves, P. V., Milanez, C. R., Steel, C. J., & Collares-Queiroz, F. P. (2007). Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27, 369-375.
- Falguera, V., Quintero, J., Jiménez, A., Muñoz, J., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 292-303.
- Famá, L., Goyanes, S., & Gerschenson, L. (2007). Influence of storage time at room temperature on the physicochemical properties of cassava starch films. *Carbohydrate polymers*, 265-273.
- Fang, J., Fowler, P., Tomkinson, J., & Hill, C. (2002). The preparation and characterization of a series of chemically modified potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 47, 245-252.
- Flores, S., Campos, C., & Gershenson, L. (2006). Antimicrobial performance of potassium sorbate supported in tapioca starch edible films. *European Food Research Technology*, 22, 375-384.
- Franciele, M., Andrade, M., Sobral, P., & Florencia, C. (2013). Optimización de las condiciones de proceso para la producción de películas basadas de plátano (*Musa Paradisiaca*). *LWT - Food Science and Technology*, 1-11.
- French, D. (1984). Organization of starch granules. *Chemistry and Technology*, 183-256.
- García, M., Martino, M., & Zaritzky, N. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch based films and coatings. *Journal of food science*, 65, 941-944.

- García, J. (2008). *Elaboración de películas de almidón oxidado de plátano (Musa paradisiacaL)*. Yauatepec , México: Direccion de bibliotecas [M.Sc. Tesis].
- García, M., Martino, M., & Zaritzky, N. (1999). Edible starch films and coatings characterization: scanning electron microscopy, water vapor, and gas permeabilities. *Scanning*, 21(5), 348-353.
- Gary, D. C. (2009). *Química Analítica (Sexta Edición)*. Mc Graw Hill.
- Girones, J., López, P., Mutje, A., Carvalho, A., & Curvelo, F. (2012). Natural fiber-reinforced thermoplastic starch composites obtained by melt processing. *Composites Science and Technology*, 72(7), 858-863.
- Gnanasambadam, R., Hettiarachchy, N., & Coleman, N. (1997). Mechanical and barrier properties of rice bran films. *Journal of Food Science* , 62(2), 395-398.
- Godbillot, L., Dole, P., Joly, C., Rogé, B., & Mathlouthi, M. (2006). Analysis of water binding in starch plasticized films. *Food Chemistry*, 96(3), 380-386.
- Goheen, S., & Wool, R. (1991). Degradation of polyethylene starch blends in soil. *Appl. Polym. Sci.* , 42: 2691-2701.
- Gómez, J. (2008). *Asociación de exportadores del banano del Ecuador*. FAAP.
- Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M., Gómez-Guillén, M., & Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *food microbiology*, 27, 889-896.
- Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J. (1992). Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 57(1), 190-195.
- Gonzalez , A., Strumia, M., & Alvarez, I. (2011). Cross-linked soy protein as material for biodegradable films: Synthesis, characterization and biodegradation. *Journal of food engineering*, 106, 331-338.
- Goodfellow, B. J., & Wilson, R. H. (1990). A Fourier transform IR study of the gelation of amylose and amylopectin. *Biopolymers*, 30, 1183-1189.
- Guan, Y., Liu, X., Zhang, Y., & Yao, K. (1998). Study of phase behavior on chitosan/viscose rayon blend film. *Journal of Applied Polymer Science*, 67(12), 1965-1972.



- Guarnizo, A., Martínez, N., & Vargas, F. (Agosto de 2013). Algunas características físico-químicas del jugo del pseudotallo de plátano. *Facultad de ciencias naturales y exactas. Universidad del Valle. Revista ciencias*, 17(1), 47-57.
- Guenther, E. (1948). *The essential oils*. New York: D. Van Nostrand.
- Guerra-Della Valle, D., Bello-Pérez, L., González-Soto, R., Solorzano-Feria, J., & Arámbula-Villa, G. (2008). Effect of reaction time on the acetylation of plantain starch. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 7, 283-291.
- Gustafson, J., Liew, Y., Chew, S., Markham, J., Bell, H., Wyllie, S., & Warmington, J. (1998). Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Lett. Appl. Microbiol*, 26, 194-198.
- Habermas, J. (1992). *Ciencia y Técnica como ideología*. Madrid: Tecnos S.A.
- Ifuku, S., Nogi, M., Abe, K., Handa, K., Nakatsubo, F., & Yano, H. (2007). Surface modification of bacterial cellulose nanofibers for property enhancement of optically transparent composites: Dependence on acetyl group DS. *Biomacromolecules*, 8, 1973-1978.
- INTI - Instituto Nacional de Tecnología Industrial de Argentina. (2008). *Materiales plásticos tradicionales y materiales plásticos biodegradables*.
- Ishigaki, T., Sugano, W., Nakanishi, A., Tateda, M., Ike, M., & Fijita, M. (2004). The degradability of biodegradable plastics in aerobic and anaerobic waste landfill model reactors. *Chemosphere*, 54, 225-233.
- ISO 14853. (2005). *Plastics - Determination of the ultimate anaerobic biodegradation of plastic materials in an aqueous system Method by measurement of biogas production*.
- ISO 16929. (2002). *Plastics. Determination of the degree of disintegration of plastic materials under defined composting conditions in a pilot-scale test*.
- ISO 17088. (2008). *Specifications for compostable plastics*.
- ISO/DIS 10210. (2009). *Plastics - Preparation of samples for biodegradation testing*.
- ISO/DIS 10210:2009. (s.f.). *Plastics - Preparation of samples for biodegradation testing*.
- Jagannath, J., Najappa, C., Das Gupta, D., & Bawa, A. (2003). Mechanical and barrier properties of edible starch protein based film. *Journal of applied polymer science*, 88, 64-71.
- Juglal, S., Govinden, R., & Odhav, B. (2002). Spice oils for the control of co-occurring mycotoxin producing fungi. *Journal food protect*, 65, 683-687.

- Kacuráková, M., & Wilson, R. (2001). Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. *Carbohydrate Polymers*, 44, 291-303.
- Karpounhtsis, I., Pardali, E., Peggou, E., Okkini, S., Scouras, Z., & Mavragani, P. (1998). Isecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *Journal Agric. Food Chem*, 46, 1111-1115.
- Kok, R., & Biemans, W. (2009). Creating a marketorient product innovation process: A contingency approach. *Technovation*, 29 (8), 517-526.
- Krochta, J., & De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food technology*, 51, 61-72.
- Kyrikou, I., & Briassoulis, D. (2007). Biodegradation of agricultural plastic fimls: a critical review. *Journal of Polymer Environment*, 15, 125-126.
- Kyrikou, I., & Briassoulis, D. (2007). Biodegradation of agricultural plastics films: critical review. *Journal of polymer enviroment*, 15: 125-126.
- Laohakunjit, N., & Noomhorn, A. (2004). Effect of plasticizer on mechanical and barrier properties of rice starch films. *Starch/Starke*, 56, 348-356.
- Ledesma, E. (2010). *A.E.B.E. (Asociacion de exportadores de banano del ecuador)*. Quito.
- López, O. (2011). *Desarrollo, Caracterización y Aplicación de envases biodegradables a partir de almidón*. La Plata, Argentina: E-Book.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, & Nerín, C. (2007). Vapor phase activities of cinnamon, thyme and oregano essential oils and key constituents against foodbourne microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemisty*, 55, 4348-4358.
- López-Caballero, M., Sánchez-Fernández, J., Gómez-Guillén, M., & Montero, P. (2007). Quality of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with melanosis-inhibiting formulations during chilled storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(9). 1029-1038.
- Lourdin, D., Valle, G., & Colonna, P. (1995). Influence of amylose content on starch films and foams. *Carbohydrate Polymers*, 27(4), 261-270.
- MAGAP. (Marzo de 2014). *Catastro bananero a nivel Nacional*. Obtenido de <http://portalbananero.agricultura.gob.ec/index.php/publicaciones>
- Mali, S., Grossmann, M., García, M., Martino, M., & Zaritzky, N. (2006). Effect of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch source. *Journal of Food Engineering*, 75(4), 453-460.

- Mali, S., Grossmann, M., García, M., Martino, N., & Zaritzky, E. (2004). Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. *Carbohydrate polymers*, 56, 129-135.
- Mano, J., Koniarova, D., & Reis, R. (2003). Thermal properties of thermoplastic Starch/Synthetic polymer blends with biomedical applicability. *Journal materials science: Materials in Medicine*, 14, 127-135.
- Mansour, Z., & Guth, E. (1968). Complexing behavior of starches with certain pharmaceuticals. *Journal of pharmaceutical science*, 57, 404-411.
- Manual de gestión integral. (12 de Febrero de 2012). *Residuos sólidos urbanos*. Obtenido de Manual reciclaje de plásticos: <http://www.manual-es.com/Buscar-manuales-pdf-de-.../1/>
- Mariniello, L., Di Pierro, P., Esposito, C., Sorrentino, A., Masi, P., & Porta, R. (2003). Preparation and mechanical properties of edible pectine soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. *Journal of biotechnology*, 102, 192-198.
- Mars, K., & Bugusu, B. (2007). Food packaging roles, materials, and environmental issues. *Journal of food science*, 72, 39-55.
- Martínez-Ferrer, M., Harper, C., Pérez-Muñoz, F., & Chaparro, M. (2002). Plastics biodegradables. *Journal of Food Science*, 67, 3365.
- Martucci, J., & Ruseckaite, R. (2009). Biodegradation of three-layer laminate films based on gelatin under indoor soil conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 95(8), 1307-1313.
- Mazura, M., Mazilah, A., Norziah, M., & Karim, A. (2007). Antibacterial activity and mechanical properties of partially hydrolyzed sago starch-alginate edible film containing lemongrass oil. *Journal of Food Science*, 72 (6), 324-330.
- Medlicott, A. (2002). *Manejo poscosecha y comercialización del plátano*. Armenia: Sena-NRI.
- Min, S., & Krochta, J. (2005). Inhibition of *Penicillium commune* by edible whey protein films incorporating lactoferrin, lactoferrin hydrolysate and lactoperoxidase systems. *Food Microbiology and safety*.
- Ministerio de agricultura de Colombia. (2008). Eucalipto essential oils antimicrobial activities against. *Journal of Food Science*, 73, 264-267.

- Mocicki, L., Mitrus, M., Wojtowicz, A., Oniszczyk, T., Rejak, A., & Janssen, L. (2012). Application of extrusion-cooking for processing of thermoplastic starch (TPS). *Food Research International*, 47 (2), 291-299.
- Moraes, I. C., Silva, G. G., Carvalho, R. A., Habitante, A. M., Bergo, P. V., & Sobral, P. J. (2008). Influência do grau de hidrólise do poli(vinil álcool) nas propriedades físicas de filmes à base de blendas de gelatina e poli(vinil álcool) plastificados com glicerol. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, 738-745.
- Moreno, D. R. (1978). *Clasificación de pH del suelo, contenido de sales y nutrientes asimilables*. México D.F.: INIA-SARH.
- Moreno, J. (2009). *Buenas prácticas agrícolas en el cultivo de banano en la región de Magdalena*.
- Müller, C., Yamashita, F., & Laurindo, J. (2008). Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. *Carbohydrate polymers*, 72, 82-87.
- Muller, P., Renner, K., Moczo, J., Fekete, K., & Pukanszky, K. (2014). Thermoplastic starch/wood composites: Interfacial interactions and functional properties. *Carbohydrate Polymers*, 102 (15), 821-829 .
- Mundo material. (2007). Food packaging-roles, materials and environmental issues. *Journal of Food Science*, 72, 39-55. Obtenido de <http://www.mundomaterial.eu/el-mercado-de-los-bioplásticos-en-brazil-y-mexico-por-frost-sullivan..>
- Murali, R., Singaravelu, V., Manjusri, M., Sujata, B., & Amar, M. (2013). Biobased plastics and bionanocomposites: Current status. *Progress in Polymer Science*, 38 (10-11), 1653-1689.
- Myllarinen, P., Partanen, R., Seppala, J., & Forsell, P. (2002). Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, 50, 355-361.
- Nam, T., Ogihara, S., Tung, H., & Kobayashi, S. (2011). Effect of alkali treatment on interfacial and mechanical properties of coir fiber reinforced poly(butylene succinate) biodegradable composites. *Composites Part B: Engineering*, 42 (6), 1648-1656.
- Naranjo, G. (2005). *Epistemología y Fundamentos de la Investigación- Enfoques, métodos y técnicas de la investigación científica*. Ambato: UTA.
- Ncube, N., Afolayan, C., & Okoh, A. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*, 7 (12), 1797-1806.

- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., & Vijoën, A. (2007). Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of Fusarium wilt of banana. *Crop Protection*, 26 (4), 697-705.
- Nirmal, U., Singh, N., Hashim, J., Lau, S., & Jamil, N. (2011). On the effect of different polymer matrix and fibre treatment on single fibre pullout test using betelnut fibres. *Materials and Design*, 32 (5), 2717-2726.
- Norma CAC/GL-21. (1997). Principios para el Establecimiento y la Aplicación de Criterios Microbiológicos para los Alimentos. *Codex Alimentarius*, 21.
- O'Bryan, C., Crandall, P., Chalova, V., & Ricke, S. (2008). Eucalipto essential oils antimicrobial activities. *Journal of Food Science*, 73, 264-267.
- Ojagh, S., Rezaei, M., Razavi, S., & Hosseini, S. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, In press.
- Olsen, E. (1990). *Métodos ópticos de análisis*. Mexico: Reverté.
- Orhan, Y., & Büyükgüngör, H. (2000). Enhancement of biodegradability of disposable polyethylene in controlled biological soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 45, 49-55.
- Osborn, K., & Jenkins, W. (1992). *Plastic films: technology and packaging applications*. PA, USA.: Technomic Publishing Co. Inc.
- Pacheco, F. (18 de 02 de 2015). Obtenido de [www.figueraspacheco.com/.../PLASTICOS%20BIODEGRADABLES.pdf](http://www.figueraspacheco.com/.../PLASTICOS%20BIODEGRADABLES.pdf)
- Parada, B. (2003). Manejo de semilleros y viveros frutícolas. *Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal*, 28 p.
- Passone, M., Girardi, N., & Etcheverry, M. (2013). Antifungal and anti-aflatoxigenic activity by vapor contact of three essential oils, and effects of environmental factors on their efficacy. *LWT - Food Science and Technology*, 53 (2), 434-444.
- Patil, R., Dalev, P., Mark, J., Vassileva, E., & Fakirov, S. (2000). Biodegradation of chemically modified gelatin films in lake and river waters. *Journal of Applied Polymer Science*, 76, 29-37.
- Pattanaik, S., Subramanyam, V. R., & Kole, C. (1996). Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, 86 (349), 237-246.

- Pelissari, F., Andrade, M., Sobral, P., & Menegalli, F. (2012). Comparative study on the properties of flour and starch films of platain bananas (*Musa paradisiaca*). *Food Hydrocolloids*, 10.
- Pérez, B., & Báez, R. (2003). *Revista alimentaria*. 59.
- Pessoa, L., Morais, S., Bevilaqua, C., & Luciano, J. (2002). Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gastissimum* linn and eugenol against *haemonchus contortus*. *Veterinary parasitol*, 109, 59-63.
- Plotto, A., Roberts, R., & Roberts, D. (2003). Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato. *Horticulture*, 737-745.
- PNUMA. (20 de Diciembre de 2012). *Programa de naciones unidas para el medio ambiente*. Obtenido de [http://www.unep.org/chinese/biosafety/files/informe%20final\\_MNB%20Panama%20Odic2007.pdf](http://www.unep.org/chinese/biosafety/files/informe%20final_MNB%20Panama%20Odic2007.pdf)
- Ponce, A., Roura, S., Del valle, C., & Moreira, M. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. *Biology ang technology*, 49, 294-300.
- Prachayawarakorn, J., Chaiwatyothin, S., Mueangta, S., & Hanchana, A. (2013). Effect of jute and kapok fibers on properties of thermoplastic cassava starch composite. *Materials & Design*, 47 (3), 309-315.
- Pranoto, Y., Rakshit, S., & Salokhe, V. (2005). Enhancing antimicrobialactivity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *Food Science and technology*, 38, 859-865.
- Privas, E., Leroux, F., & Navard, P. (2013). Preparation and properties of blends composed of lignosulfonated layer double hydroxide/plasticized starch and thermoplastics. *Carbohydrate Polymers*, 96 (1), 91-100.
- PROECUADOR. (2013). *Boletín de análisis de mercados internacionales*. Quito.
- Psomiadou, E., Arvanitoyannis, I., Nakayama, A., Aiba, S., & Yamamoto, N. (1998). Edible fims made from gelatin, soluble starch and ployols. *Food chemistry*, 60, 593-604.
- Rayas , L., Hernandez, J., & Ng, P. (1997). Development and characterization of biodegradable/edible wheat protein films. *Journal of food science*, 62, 160-162.
- Raybaudi-Massilia, R., Mosqueda-Melgar, J., & Martin-Belloso, O. (2006). Antibacterial activity of essential oils on *Salmonella enteritis*, *Escheichia coli* and *Listeria innocua* in fruit juices. *Journal of Food Protection*, 69, 1579-1586.

- Remar. (2011). *Red energía y medio ambiente. Bioplásticos*.
- Remar, Red de Energía, & Medio Ambiente. (2011). *Bioplásticos* (Septiembre 2011 ed., Vol. 2). REDREMAR.
- Rendon, K., & Ayllón, C. (2009). *Producción y comercialización de productos derivados del plátano como alternativa nutricional para los ecuatorianos*. Guayaquil, Guayas, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.
- Rijas-Grau, M., Avena-Bustillos, R., Friendman, M., Henika, P., Marin-Belloso, O., & McHugh, T. (2006). Mechanical, barrier and antimicrobial properties of apple puree edible films containing plant essentials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9262-9267.
- Rimsa, S., & Tatarka, P. (2009). Starch ester blends with linear polyesters.
- Rivas-González, M., Zamudio-Flores, P., & Bello-Pérez, L. (2009). Efecto del grado de acetilación en las características morfológicas y fisicoquímicas del almidón de plátano. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 8, 291-298.
- Rizzarelli, P., Puglisi, C., & Montaudo, G. (2004). Soil burial and enzymatic degradation in solution of aliphatic co polyesters. *Polymer degradation and stability*, 85, 855-863.
- Rodríguez, S., Albartengo, L., Debbaud, A., & Argullo, E. (2005). Uso de quitosano en alimentos. *Centro de investigaciones en alimentos y desarrollos*, 558.
- Rojas, M. (2006). *Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación*. Madrid, España: Tesis de Doctor. Universidad de Lleida.
- Romero-Bastidas, C., Bello, L., García, M., Martino, M., Solorza, J., & Zaritzky, N. (2005). Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from nonconventional sources of starches. *carbohydrate polymers*, 60, 235-244.
- Romero-Bastidas, C., Zamudio-Flores, P., & Bello-Pérez, L. (2011). Antimicrobianos en películas del almidón oxidado de plátano: Efecto sobre la actividad antibacteriana, microestructural, propiedades mecánicas y de barrera. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol. 10, (3): 445-453.
- Ronquillo, E. (2007). Evaluación del potencial antimicrobiano de películas comestibles con aceite esencial in vitro e in situ. *Tesis de Maestro de ciencias. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa*, 46.
- Royal Society of Chemistry. (04 de Octubre de 2014). Obtenido de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13849989.html>

- Ruíz, G. (2006). Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir de un almidón de yuca. *Ingeniería y ciencia*, Vol. 2.
- Ryman, D. (1991). *Aromaterapia. Enciclopedia de las plantas aromáticas y sus aceites esenciales*. Barcelona: KAIROS.
- Salleh, E., Muhamad, I., & Khairuddin, N. (2009). Structural characterization and physical properties of antimicrobials (AM) Starch-Based films. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 55, 432-440.
- Sánchez-González, L., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Chéfer, M. (Journal of Food Engineering). Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite films. 2010, 98 (4), 443-452.
- Sánchez-Rivera, M., & Bello-Pérez. (2008). Efecto de la temperatura en la reacción de oxidación en almidón de plátano (*Musa paradisiaca* L) estimación de la energía de activación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 275-278.
- Sellamuthu, P., Sivakumar, D., & Soundy, P. (2013). Antifungal activity and chemical composition of thyme, pepper and citronella oils in vapor phase against avocado and peach postharvest pathogens. *Journal of Food Safety*, 33 (1), 86-93.
- Sharma, R., & Singh, R. (2009). *Biol. control*. 50, 205.
- Shen, L., Haufe, J., & Martin, K. (2009). Products overview and market projection of emerging bio-based plastics. *Technology and Society*.
- Sikkema, J., De Bont, A., & Poolman, B. (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry*, 59, 201 - 222.
- Sikkema, J., De Bont, J., & Poolman, B. (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry*, 269 (11), 8022-8028.
- Singh, G., & Maurya, S. (2005). Antimicrobial, antifungal and insecticidal investigations on essential oils: an overview. *Natural Product Radiance*, 4, 179-192.
- Skandamis, P., & Nychas, G. (2001). Effect of eucalyptol essential oil on microbiological and physicochemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 1011 - 1022.
- Sobral, P., Menegalli, F., Hubinger, M., & Roques, M. (2001). Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15(4), 423-432.
- Socrates, G. (2001). *Infrared Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts*. 3rd edition Wiley.



- Soroudi, A., & Jakubowicz, I. (2013). Recycling of bioplastics, their blends and biocomposites: A review. *European Polymer Journal*, 49(10), 2839-2858.
- Sothornvit, R., & Krochta, J. (2001). Plasticizer effect on mechanical properties of B-lactoglobulin films. *Journal of Food Engineering*, 50(3), 149-155.
- Sothornvit, R., & Pitak, N. (2007). Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. *Food research international*, 40, 365-370.
- Souza, A., Benze, R., Ferrao, E., Ditchfield, C., Coeho, A., & Tadini, C. (2012). Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles. *LWT - Food Science and Technology*, 46(1), 110-117.
- Tapia-Blácido, D. R. (2006). Films based on derivatives of amaranth for use in foods. *PhD thesis, Unicamp, Brazil*.
- Tapia-Blácido, D. R., Mauri, A. N., Menegalli, F. C., Sobral, P. J., & Añón, M. C. (2007). Contribution of the starch, protein, and lipid fractions to the physical, thermal, and structural properties of amaranth (*Amaranthus caudatus*) flour films. *Journal of Food Science*, E293-E300.
- Tapia-Blácido, D., Mauri, A., Menegalli, F., Sobral, P., & Añón, M. (2007). Contribution of the starch, protein, and lipid fractions to the physical, thermal, and structural properties of amaranth (*Amaranthus caudatus*) flour films. *Journal of Food Science*, 72(5), E293 - E300.
- Tapia-Blácido, D., Sobral, P., & Menegalli, F. (2005). Development and characterization of biofilms based on amaranth flour (*Amaranthus caudatus*). *Journal of food engineering*, 67, 215-223.
- Teixeira, E., Curvelo, A., Correa, A., Marconcini, A., Glenn, G., & Mattoso, L. (2012). Properties of thermoplastic starch from cassava bagasse and cassava starch and their blends with poly (lactic acid). *Industrial Crops and Products*, 31(1), 61-68.
- Teixeira, E., Pasquini, D., Curvelo, A., Corradini, E., Belgacem, M., & Dufresne, A. (2009). Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 78 (3), 422-431.
- Tomka, I. (1998). Biologically degradable polymers mixture.
- Trezza, T. A., & Krochta, J. M. (2001). Specular reflection, gloss, roughness and surface heterogeneity of biopolymer coatings. *Journal of Applied Polymer Science*, 79(12), 2221-2229.
- Turhan, K., & Sahbaz, F. (2004). Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose based edible films. *Journal of Food Engineering*, 61, 459-466.

- Tzortzakis, N. G. (2007). Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innovative Food Science Emerging Technology*, 8, 111-116.
- UNE 87-006-92. (1992). Prueba triangular. Análisis sensorial. Metodología. Madrid, España. *Asociación española de normalización y certificación (AENOR)*.
- UNE87-006-92. (1992). *Prueba Triangulá. In Análisis sensorial. Metodología*. Madrid, España: Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR).
- UNESCO. (2013). Nomenclatura Internacional de UNESCO para los campos de Ciencia y Tecnología. En *Codigos UNESCO* (págs. 1-44).
- Van de Velde, K., & Kiekens, P. (2002). Biopolymers: overview of several properties and consequence on their applications. *Polymer testing*, 21, 433-442.
- Villalva, H., Acosta, H., & Velasco, R. (2008). Investigación de almidones termoplásticos; precursores de productos biodegradables. *Información tecnológica*, 19 (2), 3 - 14.
- Wasteonline. (11 de Mayo de 2008). *In deph information on waste*. Obtenido de Plastic recycling: <http://www.wasteonline.org.uk/index.aspx>
- Wilhelm, H., Sierakowski, M., Souza, G., & Wypych, F. (2003). Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate Polymers*, 52, 101-110.
- Xiao, M., Lu, G., & Xu, S. (2009). Starch based completely biodegradable polymer materials. *Express polymer letters*, Vol. 3, (6), 366 - 375.
- Yin, Y., Yao, K., Cheng, G., & Ma, J. (1999). Properties of polyelectrolyte complex films of chitosan and gelatin. *Polymer International*, 48, 429-433.
- Zamudio-Flores, P., Bello-Pérez, L., Vargas-Torres, A., Hernández-Uribe, J., & Romero-Bastidas, C. (2007). Caracterización parcial de películas preparadas con almidón oxidado de plátano. *Agrociencia*, 41, 837-844.
- Zhand, P., Whistler, R., BeMiller, J., & Hamaker, B. (2005). Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility e a review. *Carbohydrate polymers*, 59, 443-458.
- Zhang, Y., & Han, J. (2006). Mechanical and thermal characteristics of pea starch films plasticized with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, 71, 109-118.
- Zivanovic, S., Shuang, C., & Draughon, A. (2005). Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of Food Science*, 70, 45-51.

## CAPÍTULO VIII

### ANEXOS

8.1. Hoja de cata para la evaluación sensorial del orito (*Musa acuminata* AA).

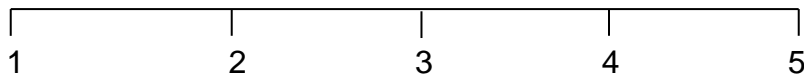
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIRÍA EN ALIMENTOS**

Edad: \_\_\_\_\_

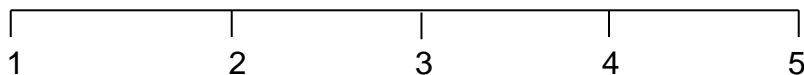
Sexo: \_\_\_\_\_

Usted ha recibido tres muestras de orito codificadas (420, 704, 714). Proceda a degustarlas una a continuación de la otra, cuidando de enjuagarse la boca con agua luego de su degustación. Señale en la escala, su apreciación sensorial donde 1: Nada característico/ Me disgusta y 5: Muy característico/ Gusta mucho.

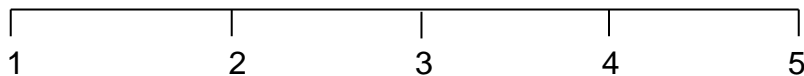
**Sabor**



**Aroma**



**Aceptabilidad**



**¡Muchas gracias!**

- 8.2. Análisis del contenido de nitrógeno total en muestras de suelo inicial (día 0) y final (día 30), certificado a través del laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL).



UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS  
UNIDAD DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
**LABORATORIO DE CONTROL Y ANALISIS DE ALIMENTOS**



Dir: Av. Los Chasquis y Río Payamino, Huachi, Ambato Ecuador Telefonos: 2400987 Correo: laconal@hotmail.com

**CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO**

<b>Certificado No:14-071</b>						R01-5.10 06
Solicitud N°: 14-071						Pág.:1 de 1
Fecha recepción: 06 marzo 2014			Fecha de ejecución de ensayos: 07marzo2014			
<b>Información del cliente:</b>						
Empresa: n/a				C.I./RUC: 1500647910		
Representante: Gabriel Moreno Toasa				Tlf: 0987292979		
Dirección: Barrio La Floresta				Email: ale_gabo1990@hotmail.es		
Ciudad: Ambato						
<b>Descripción de las muestras:</b>						
Producto: Suelo			Peso: 100 g			
Marca comercial: n/a			Tipo de envase: Frasco de vidrio			
Lote: n/a			No de muestras: Una			
F. Elb.: n/a			F. Exp.: n/a			
Conservación: Ambiente: X Refrigeración: Congelación:			Almac. en Lab: n/a			
Cierres seguridad: Ninguno: X Intactos: Rotos:			Muestreo por el cliente: 06mar2014			
<b>RESULTADOS OBTENIDOS</b>						
Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados	Métodos utilizados	Unidades	Resultados
Suelo	7114153	Muestra inicial	*Nitrógeno Total	PE03-5.4-FQ . AOAC Ed 19, 2012 2001.11	%	0.168
	7114154	Muestra inicial	*Nitrógeno Total	PE03-5.4-FQ . AOAC Ed 19, 2012 2001.11	%	0.113
Conds. Ambientales: 19.1°C; 51%HR						
				<b>DIRECTOR DE CALIDAD</b>  Ing. Marcela Sorza V. Director de Calidad		
Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si						<small>MBV</small>

Nota: Los resultados consignados se refieren exclusivamente a la muestra recibida. El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado.  
No es un documento negociable. Sólo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente.

*"La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser vinculante. Si usted no es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente".*