

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



Evaluación de las propiedades de barrera de un bioenvase activo a base de polisuccinimida reforzado con microcelulosa

POR:

JOSUÉ ESAÚ CRUZ ESPINOZA

TESIS

Presentada como requisito parcial para poder obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Evaluación de las propiedades de barrera de un bioenvase activo a base de polisuccinimida reforzado con microcelulosa

T E S I S

Presentada por

JOSUÉ ESAÚ CRUZ ESPINOZA

y que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

A P R O B A D A

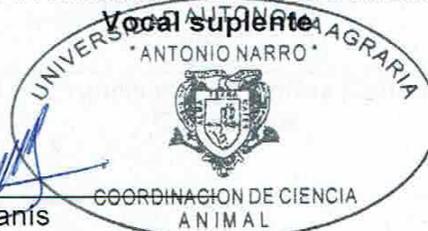
Dra. María Hernández González
Presidente

Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández
Vocal

M.C. Haydeé Yajaira López De la Peña
Vocal

M.P. Francisco Hernández Centeno
Vocal suplente

Dr. José Buéñez Alanís
Coordinador de la División de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre de 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Evaluación de las propiedades de barrera de un bioenvase activo a base de
polisuccinimida reforzado con microcelulosa**

T E S I S

Presentada por

JOSUÉ ESAÚ CRUZ ESPINOZA

y que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para
obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

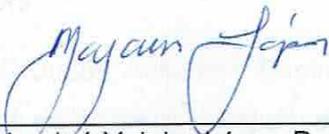
Fue dirigida por el siguiente comité:



M.P. Francisco Hernández Centeno
Asesor principal



Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández
Asesor externo



M.C. Haydeé Yajaira López De la Peña
Co-asesor



M.P. Francisco Hernández Centeno
Co-asesor

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre de 2019

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a Dios que me permitió llegar hasta este punto y concluir con mis estudios de forma correcta.

A mis padres María Concepción Espinoza Pérez y Alberto Cruz Sobrevilla que me apoyaron en esta aventura de salir de casa para crecer tanto profesionalmente como personalmente.

A mi Alma Mater por permitirme formar parte de ella.

A todos mis maestros que fueron clave para mi desarrollo académico

A la Dra. María Hernández González por la confianza, apoyo que me brindo al dejarme ser parte de su proyecto de investigación.

A la Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández por su colaboración y compromiso en el de proyecto de investigación.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada por sus equipos y laboratorios que fueron indispensables para la investigación.

A el departamento de Biociencias y Agrotecnología (CIQA), por sus instalaciones y equipos de trabajo.

También se agradece el apoyo brindado del “Laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos”, así como al Ing. Jesús Alfonso Mercado Silva y al Dr. Salvador Fernández Tavizón.

Al LCQ Jesús Alejandro Espinosa Muñoz por su disponibilidad y apoyo en el uso de equipos de pruebas indispensables para la investigación.

A la Dra. Yolanda Ortega Ortega por su importante apoyo y disponibilidad.

Al Tec. Juan Francisco Zendejo Rodriguez por por su apoyo y capacitación en el uso de equipos.

A la Ing. Ana María Ángel Sánchez por compartir sus conocimientos y apoyo en el uso de equipos.

A la MC Eneida Adilene Velasco Pérez por compartir sus conocimientos y brindar su apoyo siempre, así como también su amistad.

A Rosa María Servín Galván por su amor, apoyo y entusiasmo que siempre me brindo incondicionalmente en mi estancia en saltillo Coah.

A mis amigas Irma flores, Aráis Vázquez, Ania Isidro y Tania Padierna que siempre estuvieron conmigo en las malas y en las buenas a lo largo de la carrera.

DEDICATORIAS

A mis padres:

María Concepción Espinoza Pérez y Alberto Cruz Sobrevilla ya que son las personas más importantes de mi vida a las que les debo todo, que con su amor, valores y cultura supieron educarme adecuadamente, corregirme y guiarme por el buen camino formando la persona que soy; Darle su confianza y creer en mí, por eso y más les dedico todo mi esfuerzo y dedicación de esta investigación.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	iv
DEDICATORIAS	vi
INDICE DE FIGURAS	x
INDICE DE TABLAS	xi
RESUMEN	xiii
INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN	3
III. HIPÓTESIS	4
IV. OBJETIVOS	4
4.1. Objetivo general	4
4.2. Objetivos específicos	4
V. MARCO TEÓRICO	5
5.1. Impacto ambiental de los envases	5
5.1.1. Clasificación de los empaques alimenticios	6
5.2 Bioempaques	7
5.2.1. Materiales para el desarrollo de bioempaques	8
5.2.1.1. Almidón	8
5.2.1.2 Proteínas	9
5.2.1.3. Polisuccinimida (PSI)	10
5.2.2. Ventajas y desventajas	11

5.2.3. Materiales para refuerzos y rellenos de bioempaques.....	12
5.2.3.1. Fibras.....	12
5.2.3.1.1. Lechuguilla.....	13
5.2.3.1.1.1. Celulosa.....	14
5.2.3.1.1.2. Microcelulosa (MC).....	15
5.2.4. Tendencias.....	15
5.2.4.1. Empaques inteligentes.....	16
5.2.4.2. Empaques activos.....	17
5.2.4.2.1. Actividad Antimicrobiana.....	18
5.2.4.2.2. Actividad antioxidante.....	19
5.2.4.2.3. Propiedades de barrera.....	20
5.2.4.2.3.1. Permeabilidad al vapor de agua.....	20
5.2.4.2.3.2. Permeabilidad al oxígeno.....	21
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
6.1. Equipos, Materiales y Reactivos.....	23
6.2 Etapa 1. Obtención de las probetas de trabajo.....	24
6.2.1 Preparación de la formulación.....	24
6.2.2 Extrusión.....	24
6.2.3 Termoconformación.....	26
6.3. Evaluación de las propiedades de barrera.....	26
6.3.1. Permeabilidad al vapor de agua (PVA).....	26

6.2.2. Permeabilidad al oxígeno (PO)	28
6.3. Evaluación de las propiedades antioxidantes	28
6.4. Actividad antimicrobiana	29
6.4.1. Preparación de los inóculos equivalentes al tubo número 4 de la escala de Mcfarland	29
6.4.2. Antibiogramas	29
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
7.1. Evaluación de las propiedades de barrera	30
7.1.1. Permeabilidad al vapor de agua	30
7.1.2. Permeabilidad al oxígeno (PO)	32
7.2. Actividad antioxidante (AAO)	35
7.3. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana, técnica de difusión en placa.....	36
VIII. CONCLUSIÓN	40
IX. BIBLIOGRAFÍA	41

INDICE DE FIGURAS

Figura 2. Termoconformadora.....	26
Figura 3. Celdas preparadas para el ensayo de PVA.	27
Figura 4. Equipo OX-TRAN® <i>WVP</i> = (S)(L)(A)(VP).....	27
Figura 4. Equipo OX-TRAN®	28
Figura 5. Gráfico de medias y desviación estándar de la AAO reportado en %. <i>Figura 4. Cámara OX-TRAN® 2/21</i>	28
Figura 5. Gráfico de medias y desviación estándar de la AAO reportado en %.....	35
Figura 6. Halos de inhibición presentados por E, coli (A) y Salmonella ssp (B), ante el material PSI-MC-AEO en agar infusión cerebro corazón.	37

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Equipos, materiales y reactivos.</i>	23
<i>Tabla 2. Formulaciones empleadas durante.</i>	24
<i>Tabla 3. Condiciones del micro-compounder.</i>	25
<i>Tabla 4. Resultados de PVA de las muestras evaluadas.</i>	30
<i>Tabla 5. PVA de diferentes materiales tantos biodegradables como sintéticos expuesta por Bertuzzi et al 2002.</i>	31
<i>Tabla 6. Índice de transmisión de oxígeno y permeabilidad.</i>	33
<i>Tabla 7. Comparación de ITO de biomateriales y materiales sintéticos López, et al 2012.</i>	34
<i>Tabla 8. Muestra la media en % de la AAO de las muestras.</i>	35
<i>Tabla 9. Medias de los halos de inhibición de E. coli y salmonella ssp. reportados en mm.</i>	37

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1	27
------------------	----

ÍNDICE DE ABREVIATURA

°C: Grados Celsius
AAM: Actividad antimicrobiana
AAO: Actividad antioxidante
AEO: Aceite Esencial de Orégano
AMP: Amperaje
CIQA: Centro de Investigación en Química Aplicada
cm: Centímetros
G: Gramos
HDPE: Polietileno de alta densidad
HR: Humedad relativa
ITO: índice de transmisión de oxígeno
KPA: Kilo Pascales
MC: Microcelulosa
MG: Miligramos
ML: Mililitros
MM: Milímetros
O: oxígeno
Pa: Pascales
PEA: Polietileno
PET: Tereftalato polietileno
PHA: Polihidroxialcanoatos
PLA: Poli (ácido láctico)
PO: Permeabilidad al oxígeno
PP: Polipropileno
PP: Polipropileno
PS: Poliestireno
PSI: (Psi) Polisuccinimida
PVA: Permeabilidad al vapor de agua
RPM: Revoluciones por minuto
UAAAN: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
VA: Vapor de agua
VTVA: Velocidad de transmisión de vapor de agua

RESUMEN

El resultante impacto ambiental del consumo de materiales plásticos por parte de la industria alimentaria ha motivado un gran interés en el desarrollo de bioempaques, que cumplan no solo con las actividades básicas de transporte, sino con funciones activas de proteger a los alimentos de factores físicos, químicos y biológicos preservando sus características organolépticas

El objetivo del presente estudio fue la evaluación de un biomaterial Polisuccinimida-almidón-aceite esencial del orégano, reforzado con microcelulosa, en cuanto a sus propiedades de barrera, permeabilidad al vapor de agua (PVA) y del oxígeno (PO), así como de las propiedades funcionales, actividad antioxidante (AAO) actividad antimicrobiana (AAM). La integración del material fue mediante extrusión para posteriormente realizar el proceso de moldeado por termoconformación. Se evaluaron tres diferentes formulaciones identificadas como M2, M4 y M6 cuya diferencia consiste en el contenido de aceite esencial de orégano (AEO) (3.11%, 3.44% y 2.22%). Para el atributo de permeabilidad al vapor de agua, se obtuvieron valores de 1.14×10^{-7} g/s*m*KPa para la M2 6.6×10^{-8} g/s*m*KPa para la M4 y 8.58×10^{-8} g/s*m*KPa para la M6. Los cuales son inferiores a los presentados por biopelículas de almidón, aislados de proteína de soja entre otros, y la M4 es equiparable al celofán y al poliéster, ofreciendo así un mejor desempeño en este atributo. En cuanto a la permeabilidad al oxígeno las muestras resultaron ser una buena barrera a este gas con valores de 5.95 y 7.60 cc/m²*día, que resultaron superiores a los reportados para otros biopolímeros como las policaprolactónas (PCL), el ácido poliláctico (PLA) y los polihidroxicanoatos (PHA), ampliamente reportados y estudiados para el desarrollo de este tipo de empaques. Este atributo se relaciona e impacta positivamente en la preservación del alimento al daño oxidativo, donde se alcanzó el valor del 62.70% en la muestra M4, que resultó ser la más eficiente en este rubro, dicho valor es superior al reportado por el mismo AEO en estado libre, ante la misma evaluación. En lo referente a la actividad antimicrobiana, se evaluaron dos cepas gram negativas, *E. coli* y *Salmonella ssp*, mismas que resultaron sensibles a todas las muestras estudiadas, destacándose la muestra M4 al presentar los mayores halos de inhibición, de 4.27 mm y 6.46 mm respectivamente. Al contrastar estos valores

con los de otros biopolímeros funcionalizados con extractos de AEO, estos resultaron menores, pero las concentraciones empleadas en dichos trabajos son superiores a las aquí evaluadas (3.00% contra 8.00%) esto en un estudio para un biocomposito almidón de yuca-bagazo de caña de azúcar, así como para otro estudio en un biomaterial, bagazo de caña-alcohol polivinílico, que resultó después de realizar una funcionalización por adsorción previa y presentando nula actividad en el compósito sintetizado originalmente, como se llevó a cabo en el presente estudio; lo que evidencia la conveniencia de la afinidad existente entre la polisuccinimida (PSI), material base del presente biomaterial, al formar enlaces del tipo puente de hidrógeno que permiten una liberación prolongada y adecuada del aditivo hacia el producto a contener, lo que lo vuelve un objeto de estudio prometedor ya que presenta ventajas en comparación con los demás biopolímeros actualmente estudiados.

INTRODUCCIÓN

Actualmente el planeta se ha deteriorado rápidamente ocasionando cambios climáticos muy drásticos lo que han afectado diversas especies. Dos factores que van de la mano y son causantes de estos desastres son el uso inadecuado de los embalajes y alimentos, ya que alrededor de un 30% de plásticos son desechados en vertederos y terminan en los ecosistemas, siendo en su mayoría embalajes de grado alimenticio; casi un tercio de la producción anual de alimentos en el mundo se descomponen y no son aptos para el consumo, ocasionando emisión de gases de efecto invernadero, desperdicio de energía y materia invertidos.

El resultante impacto ambiental del consumo de materiales plásticos en la industria alimentaria ha motivado un gran interés en el desarrollo de bioempaques; basados en materiales de origen orgánico como el almidón, colágeno, gelatinas, cuya principal desventaja radica en sus bajas propiedades mecánicas y elevado costo de producción. Es por ello que se busca incorporar materiales de refuerzo que ayuden a mejorar las propiedades mecánicas. En los últimos años ha llamado la atención crecientemente el uso de la microcelulosa como material de refuerzo en materiales poliméricos, también es utilizada en la biomedicina, embalaje de papel, dispositivos electrónicos, etc. (Nie K., et al 2019).

La polisuccinimida (PSI) es un biopolímero amigable con el medio ambiente ya que es biodegradable y no tóxico, es reconocido como material verde; Lo que llama el interés para ser utilizado en el desarrollo de biomateriales.

Los envases y el material de embalaje han ido evolucionando conforme a las necesidades de la sociedad y la industria lo va requiriendo.

Cuando el consumo de los alimentos no se lleva a cabo de forma inmediata después de producirla esta debe contenerse en empaques que protejan los productos alimenticios particularmente de la descomposición oxidativa y microbiana prolongando con ello la vida útil de los alimentos (Duncan, 2011).

Los empaques activos a parte de almacenar y transportar los alimentos cumplen con funciones activas que protegen a los alimentos de factores físicos, químicos y biológicos preservando sus características organolépticas y al mismo tiempo la vida útil (Duncan, 2011). Este tipo de empaques están diseñados para liberar o absorber compuestos al alimento o al ambiente que lo rodea. El compuesto activo puede ser introducido dentro del empaque o en la superficie (Brandelli *et al.*, 2016). Según Brandelli *et al.*, 2016 la encapsulación de los compuestos activos puede ser favorable para protegerlos durante el proceso de fabricación del empaque y una mejor liberación.

Los aceites esenciales de plantas son opciones ideales para ser utilizados en el desarrollo de empaques activos por ser sustancias hidrófobas con propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Se encuentran clasificados como compuestos generalmente reconocidos como seguros (GRAS), siendo utilizados por la industria alimenticia.

II. JUSTIFICACIÓN

Las necesidades de la población y la industria alimentaria cada vez son más exigentes ya no solo requieren transportar y almacenar los alimentos si no protegerlos de factores químicos como pardeamiento no enzimático y enranciamiento de lípidos, factores biológicos producidos por enzimas naturales del alimentos y microbiota y factores físicos como lo son la humedad y temperatura del ambiente ayudando a su preservación de características organolépticas.

Es por ello que surge la necesidad de desarrollar empaques que ayuden a este tipo de problemáticas, mejorando las propiedades de barrera que son permeabilidad al vapor de agua y al oxígeno, introduciendo en la matriz del polímero o en la superficie algún aceite esencial alto en compuestos fenólicos como lo puede ser el timol o el carvacrol que funcionen como agente antimicrobiano y antioxidante, a este tipo de empaques se les conoce como empaques activos.

El orégano es una especia ampliamente estudiada por sus beneficios que se le atribuyen a su alto contenido en compuestos fenólicos como timol y carvacrol. Es por esa razón que la inclusión del aceite esencial de esta especia en la matriz de un biopolímero a base de almidón y polisuccinimida fue la base de esta investigación para evaluar el material, realizando pruebas de permeabilidad de vapor de agua y de oxígeno, actividad antioxidante y antimicrobiana.

III. HIPÓTESIS

La incorporación de microcelulosa al compuesto Polisuccinimida-Aceite esencial de orégano modificará positiva y significativamente las propiedades de barrera del bioenvase.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar las propiedades de barrera y la actividad antimicrobiana y antioxidante del compuesto Polisuccinimida-almidón-aceite esencial del orégano reforzado con microcelulosa que le permitirán un mejor desempeño mecánico.

4.2. Objetivos específicos

- Evaluar las propiedades de barrera (permeabilidad al vapor de agua y oxígeno) del compuesto PSI-MC-AEO.
- Evaluar la actividad Antimicrobiana y Antioxidante del compuesto PSI-MC-AEO.

V. MARCO TEÓRICO

5.1. Impacto ambiental de los envases

Conforme ha crecido la población la demanda de la industria alimentaria, de bebidas y medicamentos ha aumentado junto a ello la producción del embalaje que transporta, almacena, conserva al producto, dependiendo casi completamente de él. En las últimas dos décadas la elaboración de productos de embalaje ha incrementado radicalmente en casi todo el mundo (Kartick *et al.*, 2016).

La industria del envasado desempeña un papel importante en el medio ambiente ya que es uno de los principales responsables de la contaminación ambiental, afectando a gran medida a la tierra, el aire, el suelo y el agua (Varun *et al.*, 2016).

La mayoría de los plásticos son de origen sintético derivados del petróleo, este tipo de material es el más utilizado en industria para envasar, transportar y proteger los productos debido a su bajo costo, peso ligero, buenas propiedades mecánicas que le dan la flexibilidad, maleabilidad, tenacidad, dureza, etc. al polímero, propiedades ópticas y excelente barrera al vapor de agua (Kartick *et al.*, 2016).

Los plásticos son material inorgánico, polímeros incapaces de descomponerse en moléculas más simples lo que hace que persistan en el medio ambiente por un largo periodo de tiempo causando una acumulación y efecto negativo contaminando a los ecosistemas (Roohi *et al.*, 2018).

Conforme el estilo de vida de la población cambia, las familias son más pequeñas, pasan más horas fuera de casa, en el trabajo o escuela, es por ello que se tiene la necesidad de producir embalajes de porciones individuales y prácticos dejando atrás el consumo de productos a granel, propiciando un efecto negativo al medio ambiente (Kartick *et al.*, 2016).

El reciclaje es utilizado como el principal mecanismo para disminuir la contaminación ambiental y gestión de residuos asociados con el uso de plásticos, sin embargo el 30% de embalaje no puede ser reciclado por distintas causas puede ser que se utilice en

pequeñas cantidad para su clasificación, el material tiene combinaciones de polímeros o se puede encontrar contaminador por sustancias químicas y orgánicas como residuos de alimentos, por otro lado se ha estimado que el 30% de los embalajes son desechados en vertederos, calles de países en desarrollo, estos llegando a nuestros ecosistemas, con potencial de acumularse en nuestros océanos dando un efecto negativo para vida marina, contaminando las tierras y el aire (Dilkes-Hoffman *et al.*, 2018)

El proceso de reciclaje consta de varias etapas que son recolección, identificación y transporte de material pastico, lo que hacen que sea costoso haciendo más conveniente la incineración o relleno sanitario (Roohi *et al.*, 2018).

En el mismo sentido se estima que resulta más conveniente el desarrollo de nuevos materiales de embalaje para alimento que tengan la capacidad de ser biodegradables, ya que la producción, uso, eliminación y recuperación de los embalajes no solo genera grandes cantidades de desechos, si no también gastos de materias primas, agua y energía. También cualquier proceso eliminación o reducción de los residuos plásticos contribuye a los problemas de contaminación (Herbes *et al.*, 2018).

El envasado de alimentos es responsable de uno de los desafíos más fuertes para la contaminación ambiental ya que en la industria alimentaria se utiliza más plástico sintético como material de embalaje y son los residuos los que persisten en el medio ambiente llegando a los ecosistemas (Dilkes-Hoffman *et al.*, 2018).

5.1.1. Clasificación de los empaques alimenticios

Estudios han demostrado que los materiales más comunes y populares, utilizados en la industria del embalaje son el polietileno tereftalato (PET), polietileno de alta densidad (HDPE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), recipientes de acero, contenedores de aluminio, vidrio, cajas de cartón, cartones líquidos, etc. (Varun *et al.*, 2016).

Los materiales de embalaje se clasifican en tres grupos: primario, secundario y terciario.

Los embalajes primarios son los que están en contacto directo con el producto pueden ser papel, vidrio, metales y plástico.

Los embalajes secundarios pueden ser más grandes utilizados para transportar los embalajes primarios ya empaquetados, pueden ser cajas, bolsas, vasos y platos desechables etc.

Los embalajes terciarios son los utilizados para ayudar en el transporte de grandes cantidades de paquetes, pueden ser tarimas de madera y envoltura de plástico.

Los embalajes secundarios y terciarios son utilizados en menos cantidad y tienen una mayor extensión, lo que facilita su recolección para ser reciclados por el otro lado los embalajes primarios tienen la facilidad de ser distribuidos en gran medida por el mundo, se contaminan fácilmente, se dañan, siendo un desafío para su recolección y reutilización (Kartick *et al.*, 2016).

5.2 Bioempaques

Se han buscado estrategias para disminuir día a día el daño que causamos al medio ambiente con nuestras actividades diarias, preservándolo y cuidándolo haciendo conciencia de lo importante que es mantener los océanos, suelos y aire sin contaminantes. Estrategias como la gestión de residuos y el diseño de nuevos materiales que no causen contaminación (Kartick *et al.*, 2016).

Los polímeros (plásticos) son principalmente materiales de embalaje utilizados por la industria es por ello, que es un área de interés el desarrollo de materiales poliméricos a base de recursos naturales que se degraden fácilmente y no afecte negativamente al medio ambiente.

Los bioempaques, empaques biodegradables o empaques biobasados son polímeros que se caracterizan principalmente por estar fabricados a base de recursos renovables y son capaces de ser degradados por condiciones ambientales ya sea luz, agua, microorganismos, enzimas, etc., al degradarse los productos finales serían CO_2 , CH_4 y H_2O en condiciones aeróbicas y anaeróbicas (Roohi *et al.*, 2018).

Los polímeros biodegradables se pueden clasificar en cuatro categorías según el origen de su síntesis (Valdés *et al.*, 2014). La primera categoría incluye a polímeros sintetizados a partir de biomasa, generalmente de recursos agrícolas, como polisacáridos, por ejemplo, almidones, proteínas, plantas. La segunda se refiere a polímeros elaborados a base de acción microbiana, por ejemplo el polihidroxicanoatos (PHA). La tercera clasificación son polímeros sintetizados químicamente utilizando monómeros obtenidos de recursos agrícolas, por ejemplo, ácido poliláctico (PLA). La cuarta son polímeros donde los monómeros son formados por síntesis química de recursos fósiles, ejemplo poliesteramidas (PEA).

5.2.1. Materiales para el desarrollo de bioempaques

Como anteriormente se indicó los bioempaques se pueden obtener de diversas materias primas entre las que destacan polisacáridos como el las fibras y el almidón, proteínas como la zeína, caseína, entre otros a continuación se hace una breve descripción de los más representativos.

5.2.1.1. Almidón

El almidón es un polímero semicristalino que se encuentra almacenado como reserva en las semillas de la mayoría de las plantas y en vegetales, se encuentra conformado por unidades de amilosa en forma lineal que están unidos por el enlace α - (1-4) y amilopectina que se encuentra en forma ramificada enlazadas a enlaces α - (1-6). Los porcentajes de estos dependerán de la fuente de la cual se obtuvo el almidón (Kartick *et al.*, 2016).

Este polímero es de origen natural, económico, biodegradable, con la característica de ser termoplástico que lo hace ser uno de los materiales más investigados para la elaboración de bioempaques.

Lamentablemente es pobre en propiedades mecánicas las cuales son necesarias para un material de embalaje competitivo contra los materiales de embalaje convencionales de origen sintético, también tiene un fuerte comportamiento hidrofílico lo que ocasiona propiedades de barrera deficientes contra el agua (Ren *et al.*, 2009).

Hay investigaciones donde han realizado mezclas de materiales sintéticos con almidón de papa, maíz, arroz, plátano con el fin de mejorar las propiedades mecánicas y hacer un material que se degrade más rápidamente pero lamentablemente al poner más del 5% de almidón a la mezcla las propiedades del material disminuyen, esto debido por los componentes incompatibles de los materiales (polares y no polares) (Gupta, *et al.*, 2010).

Otras investigaciones han combinado el almidón con plastificantes como el sorbitol y el glicerol con el mismo fin declarando que si aumentan estas propiedades, pero depende de la humedad relativa, tipo y concentración de plastificante (Mali *et al.*, 2005). También la combinación con nanocompuesto (carbamida, etanolamina, y mintmorillonita) resultó favorable para la resistencia de tracción en un porcentaje del 2-4% (Ren *et al.*, 2009).

5.2.1.2 Proteínas

Las proteínas son cadenas largas de aminoácidos que se encuentran unidos entre sí por enlaces de tipo peptídicos. Existen 22 tipos de aminoácidos, pueden ser esenciales o no esenciales. Las proteínas se encuentran en forma globular en el gluten de trigo, zeína de maíz y forma fibrosa en caseínas o gelatina. Estas se pueden obtener de una fuente animal como lo son las caseínas y proteína de suero de leche o de fuente vegetal como la zeína de maíz y proteína de soja (Aung *et al.*, 2018).

Películas desarrolladas a base de proteínas presentaron un elevado valor nutricional, mejoras en las propiedades mecánicas y en las propiedades de barrera, en comparación a las desarrolladas a base de polisacáridos. Aun presentando mejoras en las propiedades tanto como mecánicas y de barrera no es suficiente, aún existe una deficiencia en las propiedades mecánicas al comparar contra las sintéticas y al ser de origen hidrofílico cuentan con baja barrera contra el vapor de agua (Aung *et al.*, 2018).

Las caseínas y proteínas de suero de leche (lactoglobulina más abundante y otras) son las proteínas de la leche, se encuentran aproximadamente en un 3.2%, las

caseínas constituyen el 75% del total de las proteínas que se encuentran en la leche y el 25% de las del suero de leche. Las películas a base de caseínas y proteínas de suero de leche presentan un buen rendimiento en su formación al igual que flexibilidad, propiedad de barrera, transparencia y no presenta sabor (Ayala *et al.*, 2018).

La caseína tiene una estabilidad térmica muy fuerte esto debido a la estructura de las micelas que son caseínas en forma coloidal, esta proteína posee una conformación abierta a lo que le atribuye tener la capacidad de flexibilidad conformacional (Guo *et al.*, 2016).

Dentro de las proteínas del suero de leche se encuentra la lactoglobulina que representa aproximadamente el 50% del contenido proteico, presentando excelentes propiedades de gelificación esto atribuido a la presencia del grupo tiol y el enlace disulfuro (Guo *et al.*, 2016).

Otras de las proteínas investigadas son las de origen vegetal como lo es el gluten de trigo que debido a sus propiedades de barrera, mecánicas y formación películas es un material prometedor para su uso en biomateriales, para poder expandir el uso de este material es necesaria la mejora de las propiedades mecánicas. Wretfors *et al.*, en 2009 utilizaron fibras naturales de cáñamo como refuerzo en el gluten de trigo, concluyendo que mejoraron las propiedades mecánicas, obteniendo mejores resultados al agregar 20% de fibra es posible la utilización de este material en la industria automotriz o de construcción.

El uso de proteínas en el desarrollo de bioempaques para el envasado de alimentos no puede realizarse, lamentablemente debido a su carencia de propiedades mecánicas es por ello necesario la adición de otros compuestos como plastificantes para aumentar el alargamiento y módulo de elasticidad (Aung *et al.*, 2018).

5.2.1.3. Polisuccinimida (PSI)

Los polímeros no se descomponen naturalmente. En consecuencia, la investigación sobre polímeros biodegradables se ha vuelto activa recientemente. Los poli (aminoácidos) con enlaces amida similares a proteínas son completamente

biodegradable poliaspartato de sodio, un poli (aminoácido) con cadenas laterales de ácido carboxílico, exhibe biodegradabilidad y funcionalidad como capacidad quelante y dispersabilidad.

La polisuccinimida (PSI) es un biopolímero amigable con el medio ambiente ya que es biodegradable y no tóxico, es reconocido como material verde. En 1970 se descubrió que al calentar ácido aspártico daba como resultado la formación un anhídrido interno reactivo que al condensarse forma una poliimida.

La PSI ofrece la posibilidad de reemplazar poli (ácido acrílico) y afines con polímeros en muchas aplicaciones. El poliaspartato de sodio es comúnmente sintetizado por la hidrólisis de polisuccinimida preparado por la policondensación térmica de aspárticoácido.

5.2.2. Ventajas y desventajas

El desarrollo de nuevos materiales a base de recursos biodegradables surge de la preocupación del daño que causamos al medio ambiente con el uso inadecuado que se les da a los plásticos al ya no ser útiles, esta principalmente embalajes de productos alimentarios.

Los beneficios que nos brinda la producción de este tipo de embalajes o plásticos es que se degradan rápidamente con ayuda de procesos biológicos, una vez degradados los residuos mejoran la fertilidad de los suelos, reducen el agotamiento de los recursos naturales utilizados para la producción de plásticos convencionales, se utiliza un 65% menos cantidad de energía en la producción de este tipo de polímeros en comparación con los plásticos convencionales (Roohi *et al.*, 2018).

Así como brindan múltiples ventajas hay limitaciones que no permiten sustituir el uso de los plásticos convencionales por los biodegradables, como lo es el alto costo de producción de estos materiales, el uso y disponibilidad de la tierra son factores que limitan su producción (Roohi *et al.*, 2018).

En una tabla realizada por Aung *et al.*, 2018 donde se enlistan las ventajas y desventajas de diferentes biomateriales desarrollados, es posible apreciar que las limitantes que más se repitieron fueron la carencia de propiedades mecánicas (fragilidad, resistencia de tracción) y la alta accesibilidad al agua y al oxígeno.

5.2.3. Materiales para refuerzos y rellenos de bioempaques

El uso de los biopolímeros no se ha explotado al máximo por sus limitantes que anteriormente se han mencionado es por ello que se ha buscado contrarrestar estos inconvenientes al incorporar compuestos que ayuden como refuerzo al material ya sea de tamaño micro o nano métrico (Kartick *et al.*, 2016).

5.2.3.1. Fibras

Las fibras naturales se encuentran abundantemente en diversos productos de origen natural (paja, yute, sisal, fibra de coco, okra), son de baja densidad, alta resistencia específica, biodegradables, su producción presenta bajo costo, menor consumo de energía y alta resistencia específica. Están constituidas principalmente por celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina (Sood *et al.*, 2018)

El uso de las fibras naturales mejora las propiedades mecánicas y al mismo tiempo reduce los costos del material al ser un producto de bajo costo, lo que ha hecho que aumente el interés en el desarrollo de biomateriales con fibras naturales (Li *et al.*, 2019). Las propiedades mecánicas de las fibras naturales dependen de diferentes factores como lo son la ubicación de la planta de donde se extrae, el porcentaje de madures de la planta y las condiciones climáticas. Los tratamientos químicos y físicos pueden mejorar la adherencia interfacial entre las partículas de relleno, propiedades mecánicas, detener el proceso de absorción de humedad y aumentar la rugosidad de la superficie (Sanal *et al.*, 2017).

Ford en 1930 utilizaba plásticos reforzados con fibras de cáñamo para la fabricación de paneles de automóviles, en 1938 se sustituye el uso de las fibras naturales por fibras de vidrio ya que económicamente eran más viables. Actualmente el uso de fibras naturales es una alternativa amigable con el medio ambiente y rentable para la

sustitución de las fibras sintéticas. El refuerzo de matrices compuestas como cemento y polímeros a base de fibras naturales está atrayendo la atención para el desarrollo materiales construcción más económicos (Sanal *et al.*, 2017).

En la india, las fibras naturales de yute y almidón son introducidas a estructuras textiles debido a sus ventajas de biodegradabilidad, flexibilidad estructural y rentabilidad, son utilizadas para el envasado de granos y productos industriales (Kartick *et al.*, 2016).

De acuerdo con lo reportado por Moezzi pour *et al.*, en 2017, se utilizaron fibras de kenaf y palma como refuerzo en las propiedades físicas y mecánicas del contrachapado que es un material utilizado en construcción, obteniendo mejores resultados con las fibras de kenaf.

Según las investigaciones reportadas el uso de fibras naturales en materiales de construcción o embalajes para granos ha resultado satisfactorio al mejorar los costos, propiedades mecánicas y al ser amigable con el medio ambiente, es por ello que las fibras naturales son un material prometedor para disminuir el uso de materiales sintéticos y así contribuir a la reducción de la contaminación ambiental.

5.2.3.1.1. Lechuguilla

El agave lechuguilla es una especie de agave muy común y abundante del desierto chihuahuense con uno de los mayores rangos de distribución, se encuentra desde el norte de la ciudad de México hasta el sur de Texas y Nuevo México en los Estados Unidos (Eguiarte *et al.*, 2013). Es una excelente fuente de fibras naturales es utilizada para la fabricación de diferentes objetos domésticos como cepillos, estropajos, brochas, ya que son resistentes a solventes químicos, altas temperaturas en agua (150°C), ácidos, retención de agua (Quiroz *et al.*, 2013). La fibra de lechuguilla se ha utilizado desde hace 800 años y para alrededor de 20,000 recolectores y sus familias aún su producción es una actividad importante para su economía. (Pando-Moreno *et al.*, 2008)

Las fibras de lechuguilla son un recurso renovable constituido aproximadamente de 80% de celulosa, 5% de hemicelulosa y 15% de lignina, encontrándose como principal

constituyente la celulosa, el material fibroso de esta especie tiene gran resistencia y rigidez siendo prometedor para su uso como materia prima en productos donde se utilizan fibras sintéticas (Vieira *et al.*, 2002).

Otra especie de agave es la sisalana que también es explotada por su alto contenido en fibras naturales constituidas por un 60-80% de celulosa, 10-25% de hemicelulosa, 7-14% de lignina. Investigaciones muestran que estas fibras presentan una resistencia a la tracción que varía entre 100 a 700 MPa, el módulo de tracción se encuentra entre 9 a 40 GPa y el alargamiento a la rotura de 2 a 14%. Un factor importante para las propiedades de tracción es de que parte de la planta es extraída, por ejemplo, las fibras extraídas de la parte inferior de la hoja presentan una disminución en la resistencia a la tracción y una mayor deformación por fractura, las extraídas de la parte media se vuelven más fuertes y rígidas, y en la punta se encuentran de forma moderada (Saxena *et al.*, 2011).

La industria de las fibras de agave llegó a consumir más de un millón de hectáreas de agave entre las principales especies están *A. lechuguilla*, *A. fourcroydes* y *A. sisalana*, conforme la industria de la fibra sintética creció el uso de estas fibras fue sustituido hasta un 90% (Escamilla-Treviño, 2012). Actualmente es un área de interés para los investigadores aprovechar las fuentes naturales de fibra debido a las ventajas que brindan y al ser una alternativa para los materiales de origen sintético.

5.2.3.1.1.1. Celulosa

La celulosa es el principal componente de las fibras naturales, es la biomolécula más abundante se encuentra en la pared de plantas y células, es un biopolímero semicristalino que está compuesto por una cadena lineal formada por cientos a miles de enlaces β - (1,4) -glicosídicos unidos a D-glucopiranososa con la presencia de grupos hidroxilo (Orue *et al.*, 2018).

El uso de la celulosa ha resultado de interés al ser un componente abundante, de bajo costo, con buenas propiedades mecánicas, buena biodegradabilidad y renovación prometedora. Se espera que la inclusión de celulosa en un biomaterial obtenga

resultados favorables en su resistencia mecánica, disminución del peso del material final, reducción de los costos y a la vez que su degradación sea más rápida, y así poder expandir la aplicación de estos materiales biodegradables industrialmente (Rosli *et al.*, 2019).

Rosli *et al.*, en el 2019 desarrollaron un biocompuesto a base de ácido poliláctico, caucho natural y caucho natural líquido reforzado con celulosa, mostrando mejoras en la resistencia de tracción y módulo de tracción, debido a la formación de puentes de hidrogeno, la biodegradabilidad aumento hasta un 300% con la adición de celulosa.

Días *et al.*, 2011 al combinar fibras de celulosa con harina de arroz y plastificada con glicerol con lo cual se aumenta en un 35% la permeabilidad al vapor de agua, al tener una concentración de 20-30% de glicerol en 100 g de harina los coeficientes de solubilidad fueron mejores esto puede atribuirse al aumento de la higroscopicidad del material.

La adición de celulosa en una película a base de harina de arroz y glicerol ayudó como refuerzo en la resistencia de tracción y el módulo de Young (Dias *et al.*, 2011).

5.2.3.1.1.2. Microcelulosa (MC)

La microcelulosa se obtiene de la trituración de partículas de celulosa hasta llegar a un tamaño micrométrico. Residuos agrícolas son ricos en celulosa lo que los hacen ser candidatos para la extracción de micro y nanocelulosa.

En los últimos años ha llamado la atención crecientemente el uso de la microcelulosa como material de refuerzo en materiales poliméricos, también es utilizada en la biomedicina, embalaje de papel, dispositivos electrónicos, etc. (Nie K., et al 2019).

5.2.4. Tendencias

El desarrollo de embalajes biodegradables eficientes para la industria alimenticia es un desafío ya que se buscan materiales que sean capaces de brindar una buena permeabilidad al vapor de agua y óptimas propiedades mecánicas al mismo tiempo deben encontrarse de manera abundante y con un bajo costo de producción.

Actualmente el mercado y las exigencias de los consumidores han cambiado no solo requieren un embalaje que transporte, proteja o almacene al producto, si no que ayuden para combatir la proliferación de microorganismos, oxidación en los alimentos, para así preservar por más tiempo al producto en óptimas condiciones, también se está buscando que el embalaje comunique las condiciones en que se encuentra el producto ya sea la madurez en frutas o verduras, oxidación en carnes u hortalizas, contenido de contaminantes (microorganismos o toxinas), etc. El resultado de estas exigencias son los empaques inteligentes y los empaques activos.

5.2.4.1. Empaques inteligentes

Este tipo de empaques se refieren a sistemas con tecnología de sensores integrados utilizados principalmente en alimentos, fármacos y otros tipos de productos. Son empleados para aumentar la vida útil, tener un control de la frescura, comunicar información sobre la calidad en que se encuentra el producto y mejorar la seguridad del producto y del cliente (Schaefer *et al.*, 2018).

Existen distintos mecanismos que pertenecen a los empaques inteligentes: indicadores de tiempo-temperatura, indicadores de estanqueidad o de integridad del envase, indicadores de frescura e indicadores de crecimiento microbiano (González, 2017).

Indicadores de tiempo-temperatura: con el aumento de la temperatura el alimento es más propenso a reacciones químicas, bioquímicas o de crecimiento microbiano, estos indicadores sirven para monitorear la temperatura en rupturas de cadenas de frío, transporte del producto y almacenamiento, mostrando cambios de coloraciones que responden a estos factores (temperatura y tiempo) utilizando reacciones químicas, enzimáticas o procesos de difusión.

Indicadores de estanqueidad (detectores de fugas): son utilizados en productos empaquetados a vacío y en atmosfera protectora, para el control de la atmosfera en que se encuentra el producto conservando la calidad y seguridad del mismo. Los indicadores más utilizados son los de oxígeno y dióxido de carbono ya que son

componentes que regulan la atmosfera interna del producto, la mayor parte de estos indicadores emite un cambio de coloración activado por reacciones químicas o enzimáticas.

Indicadores de humedad: El aumento de humedad en los alimentos es un factor importante ya que los microorganismos se desarrollan a elevadas cantidades de humedad. Estos indicadores muestran cambios de coloración al aumento este factor, se puede utilizar cloruro de cobalto que funciona como marcador a la humedad al reaccionar de azul a rosa cuando está aumentando.

Indicadores de frescura: Estos indicadores monitorean el estado en que se encuentra el alimento comunicando la pérdida de frescura y deterioro tanto químico como bacteriológico, los metabolitos volátiles producidos con el tiempo por los alimentos son factores que ayudan a esta interacción con el cliente.

5.2.4.2. Empaques activos

Los empaques activos se usan comúnmente en alimentos, ya que tiene funciones que ayudan a preservar la vida útil, mejorar las características sensoriales y de seguridad, manteniendo así la calidad del producto. Normalmente este tipo de envasado incluyen el uso de eliminadores de oxígeno, emisores y eliminadores de dióxido de carbono o etileno, liberadores de etanol, así como agentes antimicrobianos y antioxidantes (Mallardo *et al.*, 2018).

Este tipo de empaques están diseñados para liberar o absorber compuestos al alimento o al ambiente que lo rodea. El compuesto activo puede ser introducido dentro del empaque o en la superficie (Brandelli *et al.*, 2016).

Según Brandelli *et al.*, 2016 la encapsulación de los compuestos activos puede ser favorable para protegerlos durante el proceso de fabricación del empaque y una mejor liberación.

5.2.4.2.1. Actividad Antimicrobiana

Unos de los principales causantes del deterioro de los alimentos son los microorganismos, es por ello que introducir agentes antimicrobianos en el material de empaque es alentador para el aumento de vida útil del alimento.

Se han evaluado un alto número de agentes como el etanol, dióxido de carbono, bacteriocinas, antibióticos, ácidos orgánicos, polisacáridos, aceites esenciales, extractos de especias, etc. que pueden ser utilizados para disminuir el deterioro en los alimentos (González, 2017).

Los aceites esenciales de plantas son opciones ideales para ser utilizados en el desarrollo de empaques activos por ser sustancias hidrófobas con propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Se encuentran clasificados como compuestos generalmente reconocidos como seguros (GRAS), siendo utilizados por la industria alimenticia. Se han realizado investigaciones donde se utilizan aceites esenciales en bioempaques y películas comestibles para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, aumentando la vida útil del alimento (Ketkaew *et al.*, 2018). El efecto antimicrobiano se liga al contenido de terpenoides y fenólicos (carvacrol, eugenol y timol) presentes en la estructura del aceite esencial (Debiagi *et al.*, 2014).

Debiagi *et al.*, 2014 utilizó aceite esencial de orégano (AEO) y clavo, para evaluar propiedades mecánicas y actividad antimicrobiana de un material a base de gabazo de yuca y alcohol polivinílico, las muestras adicionadas con aceite esencial de orégano fueron las que obtuvieron mejores resultados. Los tratamientos con 5 y 7.5% de concentración de este compuesto presentaron mayor rango de inhibición principalmente contra mohos, levaduras y bacterias Gram-positivas.

Autores informan que la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano es atribuida a su alta concentración de carvacrol y timol, componentes fenólicos que son capaces de desintegrar la membrana celular externa y las mitocondrias (Debiagi *et al.*, 2014).

Ketkaew *et al.*, en el 2018 evaluó el efecto del aceite esencial de orégano en diferentes proporciones 0, 2, 4, 6 y 8% en una espuma de un polímero natural, la muestra con 8% de aceite esencial de orégano resultó ser la que logro tener una inhibición mínima contra *E. coli* y *S. aureus*. La actividad antimicrobiana se atribuye a que la membrana externa que rodea la pared celular de las bacterias Gram negativas restringe la difusión de compuestos hidrófobos a través de su cubierta de lipopolisacáridos.

Una investigación realizada por Hosseini *et al.*, 2015 demostró que al utilizar una concentración mayor de aceite esencial de orégano (1.2% p/v) en la matriz de una película a base de quitosán inhibió satisfactoriamente el crecimiento de los microorganismos probados que fueron *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. enteritidis*, *E. coli*, formando halos de 32.0 y 34.1 mm. Siendo *S. aureus* la bacteria más afectada.

5.2.4.2.2. Actividad antioxidante

La oxidación en los alimentos es un problema importante en la industria alimentaria ya que afecta la apariencia y el sabor del producto, para combatir esta problemática se ha propuesto el desarrollo de empaques activos. Dentro del envasado activo la categoría de envases antioxidantes es de suma importancia, estos tienen como principal principio incluir un compuesto activo en el empaque que sea capaz de interactuar con el alimento o el entorno en que se encuentra, ya sea capturando compuestos oxidantes o liberando antioxidantes que ayuden a retardar o inhibir el proceso de oxidación en el alimento.

Los extractos de plantas son atractivos para ser utilizados como compuestos activos en el desarrollo de empaques biodegradables activos, por su origen natural y su alto poder antioxidante (Mir *et al.*, 2018). La cantidad de aceite esencial o antioxidantes junto con la velocidad de liberación son parámetros importantes para el aumento del tiempo del efecto en el envase activo (Domínguez *et al.*, 2018).

Kanatt *et al.*, en el 2012 desarrollaron una investigación de la actividad de extractos naturales de menta y cascara de granada en una película a base de quitosano y alcohol polivinílico, la adición de estos compuestos desarrolló una baja transmisión de luz UV,

mejorando la barrera contra la misma. Las películas adicionadas con extracto de menta tuvieron un contenido fenólico y actividad antioxidante mayores en comparación con las películas adicionadas con extracto de cascara de granada. La temperatura influyó en la liberación de los compuestos, a temperaturas altas (37°C) la liberación fue mayor.

Se obtuvieron resultados positivos reduciendo el proceso de oxidación en dos tipos de salchichas típicas portuguesas, al recubrirlas con una película a base de suero de leche adicionado con aceite esencial de orégano como agente activo, conservando sus propiedades organolépticas por más tiempo (Catarino *et al.*, 2017).

Rambabu *et al.*, 2019 utilizó extracto de hoja de mango en una película, midió por tres métodos diferentes que se basan en la cantidad de radicales reducidos, obteniendo resultados significativamente positivos, este potente poder antioxidante no solo se le atribuye a sus compuestos fenólicos sino también a otros componentes, como son mangiferina, glucósidos y otros flavonoides presentes.

5.2.4.2.3. Propiedades de barrera

El plástico es un material que a diferencia del vidrio y metales permite la permeación de gases, solventes y vapores, un factor importante para la industria alimentaria.

Las propiedades de barrera son muy importantes para la conservación de alimentos dentro del empaque, ya que estas son fundamentales para prevenir el deterioro del alimento ya sea por el paso del vapor de agua o de gases principalmente oxígeno y dióxido de carbono.

Es por ello que se busca obtener un material con un flujo mínimo de estos compuestos. Con el propósito de inhibir conservar la integridad del alimento

5.2.4.2.3.1. Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua (PVA) es un criterio importante en el almacenamiento de alimentos y su conservación, los materiales con una PVA bajo reducen el flujo del vapor de agua a través material al alimento al mismo tiempo aumentando la vida útil del alimento (Rambabu, *et al* 2019).

Para la preservación de los alientos es importante el control de humedad del ambiente que lo rodea, evitando la proliferación de microorganismos y cambios en las propiedades organolépticas.

Rambabu, et al 2019 desarrolla un biomaterial a base de quitosano mejorando su deficiencia de propiedades de barrera con la inclusión de almidón de maíz termoplástico y extracto de hoja de mango.

Bertuzzi, et al 2002 Estudio la permeabilidad de vapor de agua de un material a base de almidón y glicerol como plastificante en concentración de 0, 20, 30, 40, 60 %, aumentando consecutivamente la PVA en función a las concentraciones a partir del 30% fueron aumentos más significativos.

La cantidad de plastificante utilizado en el desarrollo del material y la fuente botánica de la cual se obtiene el almidón influyen en las propiedades de barrera (*Joaqui, et al 2013*).

5.2.4.2.3.2. Permeabilidad al oxígeno

La capacidad de un material de dejar pasar gases como el oxígeno y el dióxido de carbono es muy importante para ser utilizado en la conservación de alimentos. Dependiendo la composición del alimento será su forma de conservación y vida útil. Hay factores que aceleran el deterioro del alimento ayudando a la proliferación de microorganismos y oxidación de las grasas de los mismos, lo que provoca cambios químicos y físicos en el alimento.

El oxígeno es esencial para la vida lo que ayuda al desarrollo del crecimiento microbiano.

La oxidación es el principal factor para el desarrollo de la rancidez en grasas y aceites, los ácidos grasos poliinsaturados son más vulnerables al este proceso químico. La tasa de oxidación va depender de cofactores como oxígeno disponible, temperatura, catalizadores metálicos y luz; Es por ello que es importante el uso de materiales con buena barrera al oxígeno. (*Fotie, et al 2017*).

Proteínas y carbohidratos como el almidón se han utilizado en el desarrollo de biomateriales por su resistencia a la transmisión de oxígeno (Bertuzzi, et al 2002).

El ácido poliláctico ha llamado mucho la atención a investigadores por ser un polímero extraído a partir de recursos renovables y su biodegradabilidad, el uso de este material en biomateriales a demostradas buenas propiedades físicas, mecánicas y de barrera (Arboledas-Muñoz, et al 2017).

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de inocuidad y empaques del departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en él, y en el laboratorio de agrobiotecnología del Centro de investigación en Química Aplicada ambas instituciones situadas en Saltillo, Coahuila.

6.1. Equipos, Materiales y Reactivos

La Tabla 1 se presentan los equipos, materiales y reactivos que se utilizaron en la presente investigación.

Tabla 1. Equipos, materiales y reactivos.

Equipos	Materiales	Reactivos
- Balanza analítica (Biobase).	- Espátulas.	- Aceite esencial de orégano alto en timol.
- Extruder micro compounder.	- Vasos de precipitado.	- Microcelulosa.
- Termoconformadora.	- Sílica gel.	- Almidón.
- Cámara climática.	- Celdas de acrílico.	- Glicerol.
- Incubadora.	- Cajas petri.	- Polisuccinimida.
- Campana de flujo laminar.	- Micropipetas.	- Metanol.
- Autoclave.	- Puntillas.	- Reactivo DPPH.
	- Asa bacteriológica.	- Agar infusión cerebro-corazón.
	- Mechero.	- Caldo infusión cerebro.

6.2 Etapa 1. Obtención de las probetas de trabajo

6.2.1 Preparación de la formulación

Para realizar la investigación se utilizaron tres diferentes formulaciones, las cuales se describen en la tabla 2.

Tabla 2. Formulaciones empleadas durante.

<u>%</u>	<u>Mezclas</u>		
Materiales	M2	M4	M6
PSI	22.22	22.03	22.22
MC	22.22	22.03	22.22
Almidón	22.22	22.03	22.22
AEO	3.11	3.44	2.22
Glicerol	30.22	30.48	31.11

PSI= polisuccinimida, MC= microcelulosa, AEO=aceite esencial de orégano

6.2.2 Extrusión

La extrusión del material se llevó a cabo en la planta piloto 1 del CIQA en el equipo extruder micro compounder Xplore IM 15, Serial 15-14-20, 204-245 V 50-60 Hz; 3100 watts, 14 Amp, cuya imagen es presentada en la figura 1. Bajo las siguientes condiciones que se presentan en la tabla 3, previamente establecidas por Sánchez, 2019



Figura 1. Extruder micro compounder.

Tabla 3. Condiciones del micro-compounder.

Parámetro	Unidades	Condición probada
Temperatura	° C	125
Velocidad de husillo	r.p.m.	60
Tiempo de residencia	min	3

r.p.m=revoluciones por minuto.

Primeramente, se pesaron los reactivos y se mezclaron por separado los líquidos (glicerol y AEO) y los sólidos (almidón, PSI y MC) hasta obtener una mezcla homogénea, posteriormente se juntaron las mezclas en un solo vaso de precipitado se continuó introduciendo el material a la tolva iniciando el proceso de extrusión en el equipo Xplore.

Una vez el equipo concluido el proceso de extrusión el material es descargado por el pistón del equipo, y almacenado en frascos de vidrio para posteriormente ser moldeado.

6.2.3 Termoconformación

El moldeo del material se llevó a cabo en la planta piloto 1 del CIQA utilizando una termoconformadora marca PHI mostrada en la figura 2.

Se elaboraron probetas con un grosor de 1 mm aproximadamente mediante moldeo por compresión en una prensa de placa caliente a una temperatura de 80 °C a 25 ton de presión durante 3 min, una vez transcurrido el tiempo se pasaron a una placa de enfriamiento con circulación de agua a 25 ton de presión por 3 min.

6.3. Evaluación de las propiedades de barrera



Figura 1. Termoconformadora

6.3.1. Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

El experimento se realizó en el laboratorio de bioprocesos dentro del departamento de alimentos de la UAAAN, en la cámara climática BINDER 00-4A-E9-28-E9.

La prueba se realizó utilizando una modificación del método de la norma ASTM F-1249-06. Se evaluaron los tratamientos (M2, M4 y M6) con tres repeticiones cada uno, utilizando probetas redondas con 2.5 cm de radio. Se utilizaron celdas de acrílico especiales para este tipo de ensayo, agregando 3 g de sílica gel deshidratado y colocando a la muestra polimérica de manera que la cara del material, esté expuesta al ambiente, las celdas empleadas en el presente estudio se ilustran en la figura 3.



Figura 2. Celdas preparadas para el ensayo de PVA.

Las celdas con el polímero y el agente higroscópico se introdujeron dentro de una cámara climática acondicionada a una temperatura de 30°C y 70% de HR, las cuales fueron evaluadas en función a su incremento de peso durante 3 h a intervalos de 30 minutos.

Los valores de velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA), se determinaron a partir de la pendiente de la recta obtenida de los datos de ganancia de peso en función al tiempo. Utilizando la ecuación (1), es posible obtener el valor de la permeabilidad al vapor de agua (PVA) para cada muestra.

Ecuación 1

$$WVP = \frac{(S)(L)}{(A)(VP)}$$

S= Pendiente

L= Espesor del material (m)

A= Área de permeabilidad del polímero

VP= Presión entre el interior y el exterior del sistema

6.2.2. Permeabilidad al oxígeno (PO)

Esta determinación se llevó a cabo en el laboratorio de pruebas fisicomecánicas y analíticas del CIQA. La permeabilidad al oxígeno se determinó en un equipo OX-TRAN® 2/21 (Oxygen Permeability con Módulo ST, MOCON®, EUA) ilustrada en la figura 4. Las condiciones de operación del equipo fueron 23 °C, con 0 % de humedad, en un área de muestra de 100 cm², con flujo de N₂-H₂ de 20 cm³/min, y flujo de O₂ de 40 cm³/min. El tiempo de acondicionamiento del equipo fue de 0.5 h, usando el método de prueba ASTM D3985-2010, por triplicado.

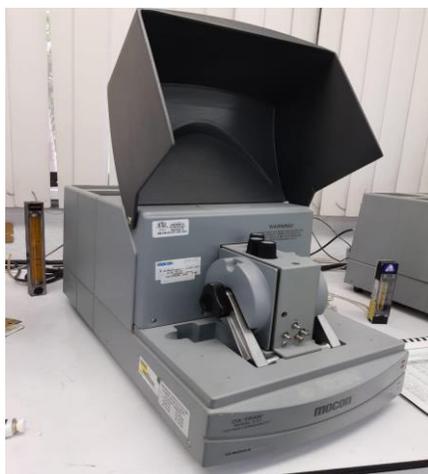


Figura 4. Equipo OX-TRAN®

6.3. Evaluación de las propiedades antioxidantes

La evaluación de las propiedades antioxidantes se realizó en el laboratorio de inocuidad y empaques del de Ciencia y Tecnología de Alimentos, en un espectrofotómetro UV/VIS VELAB.

La evaluación se llevó a cabo mediante el uso del reactivo 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) siguiendo la metodología estandarizada OSU FAPC, 2008, modificada, utilizando 0.1 g del material extruido en contacto con el reactivo para posteriormente monitorear la cinética del proceso de captación de electrones a intervalos de 5 min durante 30 min a una longitud de onda de 500 nm.

6.4. Actividad antimicrobiana

Las pruebas antimicrobianas fueron realizadas para evaluar la eficiencia del bioempaque y para inhibir el desarrollo de las bacterias, *Escherichia coli* y *Salmonella ssp*, las cepas provienen de la colección del laboratorio de inocuidad y empaques del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, previamente caracterizadas.

La evaluación se realizó mediante la técnica normalizada por Kirby-Bauer del antibiograma.

6.4.1. Preparación de los inóculos equivalentes al tubo número 4 de la escala de Mcfarland

Se utilizó como medio de enriquecimiento el caldo infusión cerebro corazón BD Bioxon para las dos bacterias; se colocó 0.001 mL de inóculo de cada una de las cepas con un asa bacteriológica en un tubo de ensaye con 4 mL de caldo, se realizó esta operación por triplicado para cada bacteria y se incubaron a 37 °C durante el tiempo necesario para alcanzar la absorbancia requerida equivalente al tubo número 4 de la escala de Mcfarland (0.6815 nm). Esta medición se realizó en un espectrofotómetro Genesys 10 UV-Vis a 540 nm.

6.4.2. Antibiogramas

Este prueba se llevó a cabo de acuerdo con la técnica normalizada de Kirby-Bauer descrita por Bernal, *et al* 1984, para lo cual se prepararon cajas petri con agar infusión cerebro corazón, mismas que fueron sembradas con el inóculo previamente preparado, a las cuales se le colocaron las muestras de los materiales M2, M4 y M6 cortadas en forma de círculos de 5.7 mm de diámetro los cuales fueron colocados en las cajas inoculadas para posteriormente incubarse a 37°C y evaluarlos a intervalos de 24 horas, hasta observar el desarrollo microbiano y la presencia de halos de inhibición.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Evaluación de las propiedades de barrera

7.1.1. Permeabilidad al vapor de agua

Los resultados de PVA obtenidos en esta investigación se muestran en la tabla 5. De donde es posible apreciar que la M4 es la que presenta una menor tasa de permeabilidad al vapor de agua, con un 6.67×10^{-08} g/x.m.kPa.

Tabla 4. Resultados de PVA de las muestras evaluadas.

Muestra	PVA (g/s.m.kPa)	PVA (g/s.m.Pa)
M2	1.14×10^{-07}	1.14×10^{-10}
M4	6.67×10^{-08}	6.67×10^{-11}
M6	8.58×10^{-08}	8.58×10^{-11}

A esta muestra le sigue la M6 con 8.58×10^{-08} g/s.m.kPa y por último la muestra M2 con 1.14×10^{-07} g/s.m.kPa. La reducción del flujo del VA a través del material se puede atribuir la presencia del AEO ya que Rambabu, *et al* 2018 mostró que al mezclar quitosano y extracto de hoja de mango, éste último llenó los huecos estructurales de la cadena polimérica bloqueando así los canales y caminos para el flujo de VA del material.

En la tabla 6 se muestran los diferentes niveles de PVA logrados al exponer diversos tipos de materiales, tanto biodegradables como sintéticos, a dicha determinación.

Tabla 5. PVA de diferentes materiales tanto biodegradables como sintéticos expuesta por Bertuzzi et al 2002.

Film	P(g/m.s.Pa)
Cloruro de polivinilideno	$0.7-2.4 \times 10^{-13}$
Poliétileno de alta densidad	2.4×10^{-13}
Poliétileno de baja densidad	$7.3-9.7 \times 10^{-13}$
Etilen-vinil acetato	$2.4-4.9 \times 10^{-13}$
Poliéster	$1.2-1.5 \times 10^{-12}$
Celofán	$7.7-8.4 \times 10^{-11}$
Acetato de celulosa	$0.5-1.6 \times 10^{-11}$
Almidón de alta amilosa	$2.0-10 \times 10^{-10}$
Gluten de trigo	$1.4-4.6 \times 10^{-9}$
Aislado de proteína de soja	$1.6-4.4 \times 10^{-9}$

Se observa que el material evaluado a base de PSI-MC-almidón se encuentra por encima de las películas biodegradables reportadas en la tabla 6, los datos obtenidos de la muestra M4 compiten con los materiales comerciales que son el celofán y el poliéster, se le atribuyen estos resultados al AEO ya que en esta formulación se encuentra en mayor cantidad, según Arboleda-Muñoz, *et al* 2017, la permeabilidad del material se encuentra fuertemente ligado a la naturaleza de sus componente ya sea hidrofóbica o hidrofílica.

Rambabu, *et al* en el 2018 sintetizó una película a base de quitosano y extracto de hoja de mango (EHM) rico en compuestos fenólicos como ácido gálico, mangiferina entre otros; con el fin de aumentar las propiedades de barrera y AAO del material biodegradable utilizó diferentes concentraciones 1, 3, y 5%, reportó que a mayor % de EHM su PVA aumentó, siendo así el tratamiento con 5% de EHM el mejor con una PVA de $1.08E-10$ g/s.m.Pa, seguido del tratamiento con 3% con $1.32E-10$ g/s.m.Pa y por último el tratamiento con 1% $1.45E-10$ g/s.m.Pa.

Mostrando una PVA por debajo de las películas a base de PSI, MC y almidón funcionalizadas con AEO con 2.22 y 3.44%, posiblemente debido por su mayor naturaleza hidrofóbica.

Otro estudio realizado por Arboleda Muñoz, *et al* 2017 mostró que al realizar mezclas de ácido poliláctico (PLA), policaprolactona y almidón termoplástico obtenían una PVA más alta en comparación de otras investigaciones en las cuales se utilizaba el PLA, culpando de esto a la cantidad de almidón termoplástico utilizada (no mencionada), debido a la alta polaridad de sus grupos hidroxilo, provocando cambios en sus propiedades de desempeño, también menciona que la PVA de los biopolímeros es alta debido que son polímeros polares con valores relativamente altos de solubilidad en VA.

7.1.2. Permeabilidad al oxígeno (PO)

La capacidad de un material de dejar pasar gases como el oxígeno es muy importante para ser utilizado en la industria alimenticia, ya que el oxígeno afecta negativamente a los alimentos incitando la proliferación de microorganismos y la oxidación de las grasas de los mismos, lo que provoca cambios químicos y físicos en el alimento. Es por eso que se busca desarrollar materiales con un bajo flujo de oxígeno.

En la presente investigación se evaluó dicha propiedad en el composito objeto de estudio, la tabla 5 muestra los resultados obtenidos, de índice de transmisión (ITO) y permeabilidad de oxígeno (PO).

Tabla 6. Índice de transmisión de oxígeno y permeabilidad.

Muestra	ITO cc/ m*día	Permeabilidad cc*mil/m*día
M2	7.6	279.57
M4	5.95	156.93
M6	ND	ND

*ND= No determinada.

Para la muestra M6, no fue posible realizar la determinación debido a que las muestras evaluadas sufrieron fracturas durante la prueba, lo que ocasionó un flujo de oxígeno elevado debido a la fractura por los que los resultados obtenidos resultaron no confiables y no fue posible repetir la determinación debido a la disponibilidad del equipo. Por otro lado la muestra M4 presentó un ITO de 5.95 cc/m².día y una PO de 156.93 cc.mil/m².día y la M2 un ITO de 7.60 cc/m².día y una PO de 279.57 cc.mil/m².día. La PO de un biomaterial depende notablemente de la cantidad de puentes de hidrógeno que conforma la estructura de la matriz polimérica del material. Atribuyendo bajo flujo de moléculas de oxígeno debido a la formación de puentes de hidrógeno dentro de la matriz del material (Arrieta, et al 2014).

Arrieta, et al 2014 desarrolló un biomaterial a base de caseinato de calcio y glicerol en concentraciones de 25 y 35% y carvacrol al 10%, obteniendo un ITO de 1.3 cc/m²*día al utilizar 35% de glicerol y 10% de carvacrol, se atribuye este resultado al cambio de morfología del biopolímero formado en la combinación glicerol y carvacrol, debido a la presencia de grupos funcionales –OH libres que dan como resultado la formación de puentes de hidrógeno. El caseinato de calcio presenta en su estructura muchos sitios disponibles para el enlace de glicerol; por lo tanto, muestra menos volumen disponible para la difusión de oxígeno, es por ello que presenta un menor flujo de oxígeno.

López, et al 2012 expone una comparación de algunos biomateriales contra materiales convencionales como el etilen vinil alcohol (EVOH) y el polietilen tereftalato (PET). La tabla 6 presenta dicha información.

Tabla 7. Comparación de ITO de biomateriales y materiales sintéticos López, et al 2012.

Material	ITO (cc/m*día*bar)
Ácido polivinílico	1.85
Polihidroxicanoatos	110
Policaprolactona	1192
Ácido poliláctico	300
EVOH	0.3
PET	50

Comparando los datos anteriores con los obtenidos para el material del presente estudio es posible apreciar que presenta una eficiencia superior al de biomateriales como el ácido poliláctico (PLA), la policaprolactóna (PCL) y polihidroxicanoatos (PHA), así como del PET que es un material convencional, para empackado alimentario, por lo que el compósito PSI-almidón es una barrera adecuada contra las moléculas de oxígeno, propiedad que favorece la conservación de alimentos objetivo de esta investigación.

Los bajos valores de ITO y de PO del biomaterial estudiado, se atribuyen a la presencia de los enlaces de puente de hidrógeno reportados por Hernández 2017, para la PSI funcionalizada con AEO, trabajo que antecedió a esta investigación.

7.2. Actividad antioxidante (AAO)

La capacidad antioxidante del bioempaquetado activo se realizó por triplicado, la media de los resultados obtenidos se presenta en la tabla 9 y en la figura 5. De donde es posible apreciar que la muestra M4 presentó la mayor actividad antioxidante con un 62.70% de actividad, seguida de la muestra M6, con un 47.06% y finalmente la M2 con un 44.50%, el análisis de medias, presentó diferencias estadísticamente significativas para las tres muestras. La eficiencia de la AAO del biomaterial se debe a la inclusión del AEO, rico en compuestos fenólicos en este caso timol y carvacrol. La AAO de los compuestos fenólicos es atribuida a la capacidad de ion H⁺ (del donante del grupo hidroxilo) y la deslocalización de electrones libres (Rambabu, et al 2018).

Tabla 8. Muestra la media en % de la AAO de las muestras.

Muestra	% AAO
M2	44.50
M4	62.70
M6	47.06

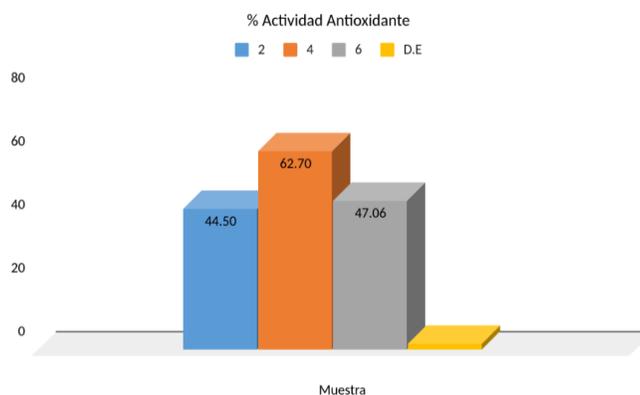


Figura 6. Gráfico de medias y desviación estándar de la AAO reportado en %.

Rambabu, *et al* en el 2018 evaluaron la actividad antioxidante de películas a base de quitosano y extracto de hojas de mango como compuesto activo cuyo principal componente es el ácido gálico, el cual es un compuesto fenólico. Realizaron varios ensayos basados en la cantidad de radicales reducidos (específicos por reactivo) por los componentes activos del extracto, entre ellos el de DPHH caracterizado por el cambio de color que va de púrpura a amarillo, tal y como se realizó en la presente investigación. Rambabu observó que a mayor cantidad de extracto en este caso 5% se obtiene la máxima eliminación de radicales DPHH con un valor de 87.16%, 11.5 mayor que el control, registrando en el gráfico un valor aproximado de 23% de AAO.

La presente investigación presentó un comportamiento similar obteniendo la mayor AAO con la muestra M4 con un 62.70%, la cual contenía una mayor cantidad de AEO (3.44%). Acevedo, *et al* en 2007 evaluó la AAO de extractos de distintas especies de orégano y algunos antioxidantes sintéticos, confirmando una potente actividad anti radicalaria, superando al BHT (antioxidante sintético) reafirmando el uso de AEO como compuesto activo en biomateriales activos.

Por su parte Vargas Negrete, 2009 realizó un estudio sobre este mismo atributo pero, utilizando el AEO en su estado libre, es decir no inclusionado en ningún tipo de matriz o vehículo, donde reporta un máximo de 53.17% de AAO, para la fracción alta timol, misma que fue evaluada en este trabajo, donde se puede apreciar que los valores obtenidos para las muestras M2 y M6 son inferiores, pero la M4 supera dicho reporte, lo anterior puede deberse al efecto de liberación prolongada reportado por Hernández, 2009; que le confiere la mayor eficiencia y estabilidad al aditivo inclusionado. Este resultado es prometedor para el desarrollo de envases a ser destinados a la conservación de productos ricos en agentes que puedan sufrir algún tipo de deterioro por daño oxidativo, como lo pueden ser productos ricos en lípidos.

7.3. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana, técnica de difusión en placa.

Las muestras obtenidas del proceso de extrusión identificadas como M2, M4 y M6 fueron evaluadas en función a su capacidad para inhibir el desarrollo de flora patógena, para dicho efecto se emplearon dos microorganismos gram negativos, *Escherichia coli*

y *Salmonella ssp.* Las medias de los halos de inhibición presentadas para los microorganismos estudiados se presentan en la tabla 10. De donde es posible apreciar que todos los microorganismos objeto estudio presentaron sensibilidad a las muestras con las cuales fueron puestos en contacto. Destacándose la muestra M4, que es la que logró el mayor efecto antimicrobiano, presentando diferencias estadísticamente significativas, en todos los tratamientos efectuados. Como se puede apreciar para *E. coli* se presentaron halos de inhibición de 6.46 mm y para *Salmonella* 4.27 mm. La figura 5 presenta el halo de inhibición para *E. coli* (A) y *Salmonella ssp* (B).

Tabla 9. Medias de los halos de inhibición de *E. coli* y *salmonella ssp.* reportados en mm.

Muestra	<i>Salmonella ssp.</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
M2	0.97	2.60
M4	6.46	4.27
M6	1.5	2.56

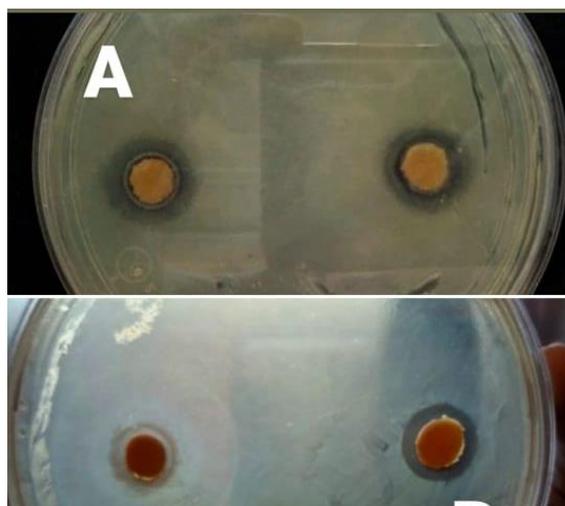


Figura 7. Halos de inhibición presentados por *E. coli* (A) y *Salmonella ssp* (B), ante el material PSI-MC-AEO en agar infusión cerebro corazón.

La actividad antimicrobiana observada en esta evaluación se debe a la presencia de la fracción de los terpenoides que conforman al AEO, que consiste en p-cimeno, carvacrol y principalmente timol, cuya concentración en el presente trabajo está orientada a mejorar las propiedades mecánicas del material de empaque. Estos componentes son hidrofóbicos lo cual les permite penetrar tanto la membrana celular, como a la mitocondria bacteriana, teniendo como resultado que el contenido citoplasmático sea expelido al medio circundante, con la consecuente muerte celular (Debiagi, *et al* 2014).

El AEO se ha sido inclusionado en una gran cantidad de matrices tanto sintéticas como de origen natural, con la finalidad de obtener materiales de empaque activos antimicrobianos. En este tenor, Surachade, *et al*, en 2018, incorporó concentraciones de 2, 4, 6 y 8% w/w de AEO en un compósito de almidón de yuca y bagazo de caña de azúcar para el desarrollo de un bio-empaque activo, y probaron su eficiencia antimicrobiana contra *E. coli* y *S. aureus*, donde a concentraciones por abajo del 6%, no fue posible evidenciar actividad antimicrobiana, sin embargo, al 8% se hacen presentes halos de inhibición de 16 y 30 mm respectivamente para los microorganismos evaluados. Es evidente que las zonas de inhibición son superiores a las reportadas en esta investigación, sin embargo, las concentraciones aquí evaluadas son inferiores, 3.00% contra 8.00%; cabe hacer mención que en este mismo trabajo, concentraciones por abajo del 6.00%, no mostraron actividad antimicrobiana contrario a lo aquí encontrado, por lo que es posible concluir que al incrementar la concentración de AEO en la matriz de compósito objeto de estudio, se podrán obtener niveles de actividad antimicrobiana equiparables a las del estudio referencia y que el material aquí estudiado es un buen vehículo para dicho proceso, ya que a diferencia del compósito almidón-bagazo de caña, el compuesto PSI-microcelulosa logra inhibiciones a concentraciones del 3.00% de AEO.

En otro ámbito de la inclusión del AEO, en biomatrices, Flávia, *et al*, 2014 lo incluyó en una a base de bagazo de yuca y alcohol poli-vinílico bajo dos metodologías, la primera incorporando directamente de 6.50 a 10.00% w/w de AEO con respecto a la matriz, de manera similar a como se incorporó en este estudio y la otra, una vez que la matriz fue

elaborada se incorpora por absorción del antimicrobiano al entrar en contacto con la superficie del material en concentraciones del 2.50 al 7.50%. En este estudio se evaluaron diversos microorganismos entre ellos hongos microscópicos y bacterias de donde fue posible apreciar que a ninguna de las proporciones probadas de las muestras elaboradas con la inclusión directa del AEO en la matriz, se presentó sensibilidad para *E. coli* y *Salmonella typhimurium*. Contario a lo presentado en esta investigación, donde la actividad antimicrobiana contra estas bacterias es evidente. En cuanto a las muestras de bagazo de caña y alcohol polivinílico funcionalizadas después de la síntesis, a partir de concentraciones de 2.50% *E. coli* presentó halos de 25 mm para la misma concentración y *Salmonella typhimurium*, evidenció halos de 16 mm a esta misma concentración. Con tales reportes se puede corroborar lo citado anteriormente de que incrementando la concentración de AEO una vez que ha sido obtenida la formulación final, será posible incrementar la actividad antimicrobiana y que el complejo PSI-microcelulosa es un material prometedor para el desarrollo de un biomaterial de empaque activo antimicrobiano.

VIII. CONCLUSIÓN

El biocompósito PSI-almidón-AEO reforzado con MC, presenta propiedades de barrera adecuadas para ser utilizado como material de empaque en la industria alimentaria ya que su capacidad de permeabilidad al vapor del agua resultó por debajo de los datos reportados para las películas biodegradables más ampliamente empleadas para este fin, con lo cual se podrá salvaguardar de mejor manera la integridad del alimento contenido y la muestra M4 presentó valores en este rubro que son competitivos con el celofán y el poliéster, que son materiales ampliamente comercializados en esta industria.

Así mismo tanto la permeabilidad, como el índice de transmisión del oxígeno para las muestras resultó sobresaliente ya que presenta un IT por debajo del PET, material ampliamente demandado en la industria en cuestión debido a este atributo.

La eficacia del material en estudio en cuanto a las propiedades de barrera se soporta principalmente a la gran cantidad de enlaces de puente de hidrógeno formados entre el material base PSI y el AEO.

El biomaterial PSI-almidón- AEO reforzado con MC, presenta una actividad antioxidante superior que el AEO en estado libre (62.70), esto debido a la estabilidad que le brinda estar inmerso en una matriz que le permite una liberación prolongada al medio.

La actividad antimicrobiana presentada ante *E. coli* y *Salmonella ssp*, resultó baja, si se compara con los resultados presentados en trabajos similares, debido a la baja concentración de AEO inclusionado.

El compósito PSI-almidón-AEO, reforzado con MC es altamente a fin y genera interacciones que no limitan su posterior liberación prolongada al medio, como lo hacen la mayor parte de los biomateriales reportados actualmente, lo que hace que sea un buen candidato para su uso comercial, en diversas áreas.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, A. M., Castañeda, M. L., Blanco, K. M., Cardenas, C. Y., Reyes, J. A., Kouznetsov, V. V., & Stashenko, E. E. (2007). Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacrol. *Scientia et Technica*, 13(33), 125-128.
- ARBOLEDA-MUÑOZ, G. A., & MONTILLA-BUITRAGO, C. E. (2017). Efecto de la inclusión de policaprolactona en películas elaboradas a partir de almidón y ácido poliláctico. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11-19.
- Aung, S. P. S., Shein, H. H. H., Aye, K. N., & Nwe, N. (2018). Environment-Friendly Biopolymers for Food Packaging: Starch, Protein, and Poly-lactic Acid (PLA). In *Bio-based Materials for Food Packaging*, 173-195.
- Bertuzzi, M. A., Armada, M., Gottifredi, J. C., Aparicio, A. R., & Jiménez, P. (2002). Estudio de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos. In *Congreso Regional de Ciencia y Tecnología. Secretaría de Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de Catamarca. Buenos Aires*, 440.
- Brandelli, A., Brum, L. F. W., & dos Santos, J. H. Z. (2016). Nanobiotechnology methods to incorporate bioactive compounds in food packaging. In *Nanoscience in Food and Agriculture 2*, 27-58.
- Castillo Quiroz, D., Sáenz Reyes, J., Narcia Velasco, M., & Vázquez Ramos, J. A. (2013). Propiedades físico-mecánicas de la fibra de Agave lechuguilla Torr. de cinco procedencias bajo plantaciones. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 4(19), 78-91.
- Catarino, M. D., Alves-Silva, J. M., Fernandes, R. P., Gonçalves, M. J., Salgueiro, L. R., Henriques, M. F., & Cardoso, S. M. (2017). Development and performance of whey protein active coatings with *Origanum virens* essential oils in the quality

and shelf life improvement of processed meat products. *Food control*, 80, 273-280.

Debiagi, F., Kobayashi, R. K., Nakazato, G., Panagio, L. A., & Mali, S. (2014). Biodegradable active packaging based on cassava bagasse, polyvinyl alcohol and essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 664-670.

Dias, A. B., Müller, C. M., Larotonda, F. D., & Laurindo, J. B. (2011). Mechanical and barrier properties of composite films based on rice flour and cellulose fibers. *LWT-Food Science and Technology*, 44(2), 535-542.

Dilkes-Hoffman, L. S., Lane, J. L., Grant, T., Pratt, S., Lant, P. A., & Laycock, B. (2018). Environmental impact of biodegradable food packaging when considering food waste. *Journal of cleaner production*, 180, 325-334.

Duncan, T. V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of colloid and interface science*, 363(1), 1-24.

Eguiarte, L. E., Aguirre-Planter, E., Aguirre, X., Colín, R., González, A., Rocha, M. & Souza, V. (2013). From isozymes to genomics: population genetics and conservation of Agave in México. *The Botanical Review*, 79(4), 483-506.

Escamilla-Treviño, L. L. (2012). Potential of plants from the genus Agave as bioenergy crops. *BioEnergy Research*, 5(1), 1-9.

González Bautista, R. (2017). Envases activos para productos alimentarios: estudio de los sistemas autocalentables.

Guo, M., & Wang, G. (2016). Milk protein polymer and its application in environmentally safe adhesives. *Polymers*, 8(9), 324.

Gupta, A. P., & Sharma, M. (2010). Characterization of biodegradable packaging films derived from potato starch and LDPE grafted with maleic anhydride–LDPE composition. Part-II. *Journal of Polymers and the Environment*, 18(4), 492-499.

- Herbes, C., Beuthner, C., & Ramme, I. (2018). Consumer attitudes towards biobased packaging—A cross-cultural comparative study. *Journal of cleaner production*, 194, 203-218.
- Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Farahmandghavi, F. (2015). Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Industrial Crops and Products*, 67, 403-413.
- Joaqui, D. F., & Castillo, H. S. V. (2013). propiedades ópticas y permeabilidad de vapor de agua en películas producidas a partir de almidón. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 59-68.
- Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., & Sharma, A. (2012). Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290-297.
- Ketkaew, S., Kasemsiri, P., Hiziroglu, S., Mongkolthanaruk, W., Wannasutta, R., Pongsa, U., & Chindaprasirt, P. (2018). Effect of Oregano Essential Oil Content on Properties of Green Biocomposites Based on Cassava Starch and Sugarcane Bagasse for Bioactive Packaging. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(1), 311-318.
- Li, S., Ball, B., Donner, E., Thompson, M. R., Rempel, C., & Liu, Q. Mechanical properties of green canola meal composites and reinforcement with cellulose fibers. *Polymer Bulletin*, 1-19.
- Mali, S., Sakanaka, L. S., Yamashita, F., & Grossmann, M. V. E. (2005). Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydrate Polymers*, 60(3), 283-289.
- Mallardo, S., De Vito, V., Malinconico, M., Volpe, M. G., Santagata, G., & Di Lorenzo, M. L. (2018). Biodegradable Poly (Butylene Succinate)-Based Composites for Food Packaging. In *Proceedings of the international conference on microplastic pollution in the mediterranean sea*, 199-204.

- Mir, S. A., Dar, B. N., Wani, A. A., & Shah, M. A. (2018). Effect of plant extracts on the techno-functional properties of biodegradable packaging films. *Trends in Food Science & Technology*.
- Moezzi-pour, B., Ahmadi, M., & Moezzi-pour, A. (2017). Physical and mechanical properties of reinforced ply wood with natural fibers. *Journal of the Indian Academy of Wood Science*, 14(1), 70-73.
- Orue, A., Eceiza, A., & Arbelaiz, A. (2018). Pretreatments of Natural Fibers for Polymer Composite Materials. In *Lignocellulosic Composite Materials*, 137-175.
- Pando-Moreno, M., Pulido, R., Castillo, D., Jurado, E., & Jiménez, J. (2008). Estimating fiber for lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr., Agavaceae), a traditional non-timber forest product in Mexico. *Forest ecology and management*, 255(11), 3686-3690.
- Rambabu, K., Bharath, G., Banat, F., Show, P. L., & Cocolletzi, H. H. (2019). Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. *International journal of biological macromolecules*, 126, 1234-1243.
- Ren, P., Shen, T., Wang, F., Wang, X., & Zhang, Z. (2009). Study on biodegradable starch/OMMT nanocomposites for packaging applications. *Journal of Polymers and the Environment*, 17(3), 203.
- Rosli, N. A., Ahmad, I., Anuar, F. H., & Abdullah, I. (2019). Effectiveness of cellulosic *Agave angustifolia* fibres on the performance of compatibilised poly (lactic acid)-natural rubber blends. *Cellulose*, 1-14.
- Samanta, K. K., Basak, S., & Chattopadhyay, S. K. (2015). Potentials of Fibrous and Nonfibrous Materials in Biodegradable Packaging. *Environmental Footprints and Eco-Design of Products and Processes*, 75–113.
- Sanal, I., & Verma, D. (2017). Construction Materials Reinforced with Natural Products. *Handbook of Ecomaterials*, 1-24.

- Saxena, M., Pappu, A., Haque, R., & Sharma, A. (2011). Sisal fiber based polymer composites and their applications. In *Cellulose fibers: Bio-and nano-polymer composites*, 589-659.
- Sharma, A., & Nautiyal, H. (2016). Environmental Impacts of Packaging Materials. In *Environmental Footprints of Packaging*, 115-137
- Sood, M., & Dwivedi, G. (2017). Effect of fiber treatment on flexural properties of natural fiber reinforced composites: A review. *Egyptian journal of petroleum*.
- Srivastava, P., Bano, K., Zaheer, M. R., & Kuddus, M. (2018). Biodegradable Smart Biopolymers for Food Packaging: Sustainable Approach Toward Green Environment. In *Bio-based Materials for Food Packaging*, 197-216.
- Valdés, A., Mellinas, A. C., Ramos, M., Garrigós, M. C., & Jiménez, A. (2014). Natural additives and agricultural wastes in biopolymer formulations for food packaging. *Frontiers in chemistry*, 2, 6.
- Valencia, G. A., & do Amaral Sobral, P. J. (2018). Recent Trends on Nanobiocomposite Polymers for Food Packaging. In *Polymers for Food Applications*, 101-130.
- Vieira, M. C., Heinze, T., Antonio-Cruz, R., & Mendoza-Martinez, A. M. (2002). Cellulose derivatives from cellulosic material isolated from *Agave lechuguilla* and fourcroydes. *Cellulose*, 9(2), 203-212.
- Wretfors, C., Cho, S. W., Hedenqvist, M. S., Marttila, S., Nimmermark, S., & Johansson, E. (2009). Use of industrial hemp fibers to reinforce wheat gluten plastics. *Journal of Polymers and the Environment*, 17(4), 259.