

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial



Bioplástico de almidón de maíz (*Zea mays*), Colágeno hidrolizado y aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*)

Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial

Autores:

Bach. Grados Lopez, Angie Cristal
Bach. Mendoza Gonzales, Lizbeth Andrea

Asesora:

Dra. Aguirre Vargas. Elza Berta
DNI. N° 19096335
Código ORCID. 0000-0003-1659-9874

Co-asesora:

Ing. Arévalo Oliva, María de Fátima
DNI.N° 70917248
Código ORCID: 0000-0003-3432-9843

Nuevo Chimbote - Perú
2025

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO

Yo, Aguirre Vargas, Elza Berta, mediante la presente doy conformidad de mi asesoramiento de la tesis titulada: **“Bioplástico de almidón de maíz (*Zea mays*), colágeno hidrolizado y aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*)”** que tiene como autores a las bachilleres: **Grados Lopez, Angie Cristal y Mendoza Gonzales, Lizbeth Andrea**, que ha sido elaborado de acuerdo con el reglamento general, para obtener el Título Profesional en la Universidad Nacional del Santa de acuerdo a la denominación siguiente:

Tesis para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial

Nuevo Chimbote, diciembre de 2025



Dra. Aguirre Vargas, Elza Berta
Asesora

Código ORCID: 0000-0003-1659-9874
DNI N°.19096335

AVAL DE CONFORMIDAD DEL JURADO

Tesis titulada: **“Bioplástico de almidón de maíz (*Zea mays*), colágeno hidrolizado y aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*)”** que tiene como autores a las bachilleres: **Angie Cristal Grados Lopez y Lizbeth Andrea Mendoza Gonzales**

Revisado y Aprobado por el Jurado Evaluador:

Dr. Símpalo López, Wilson Daniel
Presidente
DNI: 40186130
Código ORCID: 0000-0002-8397-7145

Ms. Córdova Chang, Any Berenice
Secretaria
DNI: 43775869
Código ORCID 0000-0002-2179-0641

Dra. Aguirre Vargas, Elza Berta
Vocal
Código ORCID: 0000-0003-1659-9874
DNI N°. 19096335

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 09:00 horas del dia treinta de octubre del año dos mil veinticinco, se instalaron en el aula multimedia de la EPIA – 1er piso, el Jurado Evaluador, designado mediante T/Resolución N°766-2025-UNS-CFI integrado por los docentes:

- Dr. Wilson Daniel Simpalo López (Presidente)
- Ms. Any Berenice Córdova Chang (Secretario)
- Dra. Elza Berta Aguirre Vargas (Integrante)

Para dar inicio a la Sustentación del Informe Final de Tesis titulado: **BIOPLÁSTICO DE ALMIDÓN DE MAÍZ (*Zea Mays*), COLÁGENO HIDROLIZADO Y ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis*),** elaborado por los Bachilleres en Ingeniería Agroindustrial:

- GRADOS LOPEZ ANGIE CRISTAL
- MENDOZA GONZALES LIZBETH ANDREA

Asimismo, tienen como Asesora a la docente: **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas** y como coasesora a la **Ing. María de Fátima Arévalo Oliva**

Finalizada la sustentación, el Tesista respondió las preguntas formuladas por los miembros del Jurado Evaluador. El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes en concordancia con el Artículo 107º del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

NOMBRES Y APELLIDOS	NOTA VIGESIMAL	CONDICIÓN
GRADOS LOPEZ ANGIE CRISTAL	18	Bueno

Siendo las 10:30 horas del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el Jurado Evaluador.

Nuevo Chimbote, 30 de diciembre del 2025

Dr. Wilson Daniel Simpalo López
Presidente


Ms. Any Berenice Córdova Chang
Secretario


Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Integrante

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 09:00 horas del día treinta de octubre del año dos mil veinticinco, se instalaron en el aula multimedia de la EPIA – 1er piso, el Jurado Evaluador, designado mediante T/Resolución N°766-2025-UNS-CFI integrado por los docentes:

- Dr. Wilson Daniel Símpalo López (Presidente)
- Ms. Any Berenice Córdova Chang (Secretario)
- Dra. Elza Berta Aguirre Vargas (Integrante)

Para dar inicio a la Sustentación del Informe Final de Tesis titulado: **BIOPLÁSTICO DE ALMIDÓN DE MAÍZ (*Zea Mays*), COLÁGENO HIDROLIZADO Y ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE NARANJA (*Citrus sinensis*),** elaborado por los Bachilleres en Ingeniería Agroindustrial:

- GRADOS LOPEZ ANGIE CRISTAL
- MENDOZA GONZALES LIZBETH ANDREA

Asimismo, tienen como Asesora a la docente: **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas** y como coasesora a la **Ing. María de Fátima Arévalo Oliva**

Finalizada la sustentación, el Tesista respondió las preguntas formuladas por los miembros del Jurado Evaluador. El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes en concordancia con el Artículo 107º del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

NOMBRES Y APELLIDOS			NOTA VIGESIMAL	CONDICIÓN
MENDOZA	GONZALES	LIZBETH	18	Bueno

Siendo las 10:30 horas del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el Jurado Evaluador.

Nuevo Chimbote, 30 de diciembre del 2025

Dr. Wilson Daniel Símpalo López
Presidente


Ms. Any Berenice Córdova Chang
Secretario


Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Integrante



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: **Elza Aguirre**

Título del ejercicio: **BIOPLÁSTICO DE ALMIDÓN DE MAÍZ (*Zea mays*), COLÁGENO H...**

Título de la entrega: **TESIS.docx**

Nombre del archivo: **TESIS.docx**

Tamaño del archivo: **57.15M**

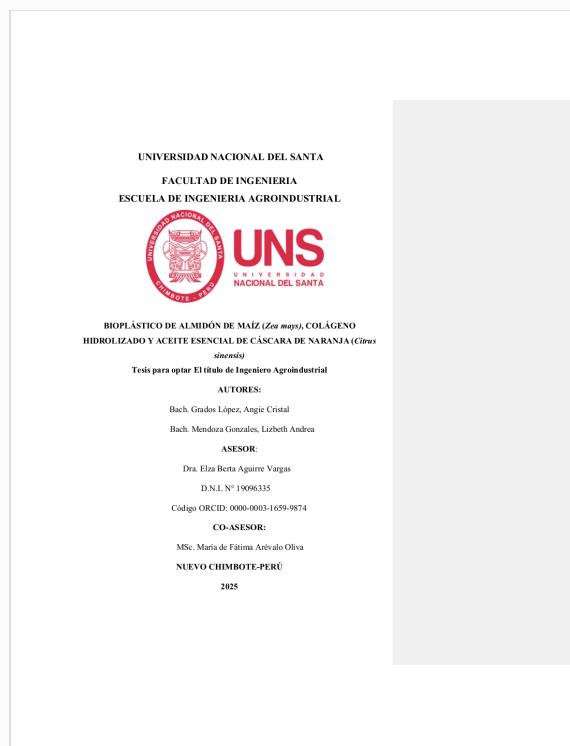
Total páginas: **199**

Total de palabras: **28,347**

Total de caracteres: **156,124**

Fecha de entrega: **17-nov-2025 04:19p. m. (UTC-0500)**

Identificador de la entrega: **2818678009**





FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net	2%
2	cybertesis.unmsm.edu.pe	1%
3	repositorio.uach.mx	1%
4	repositorio.espam.edu.ec	1%
5	repositorio.uns.edu.pe	1%
6	repositorio.unsch.edu.pe	<1%
7	repositorio.utea.edu.pe	<1%
8	revistabiociencias.uan.edu.mx	<1%
9	www.coursehero.com	<1%

DEDICATORIA

A Dios, por brindarme la vida y salud de poder realizar mis metas. A mis padres; Humberto Grados Huanca y Isabel Lopez Valderrama, mi mayor soporte en la vida y mi principal motivación en cada logro alcanzado. A mis hermanos: Andrés Grados, Daniel Grados y Carlos Grados, de los que represento su mayor ejemplo a seguir en la vida. A mi asesora Dra. Elza Aguirre que fue pieza clave en el desarrollo del informe presente y a mi coasesora la MSc. María de Fátima Oliva por sus constantes tutorías y enseñanzas.

Angie Cristal Grados Lopez

A Dios, nuestro Padre y creador del universo, por otorgarme vida, salud, amor y protección en cada momento. Gracias por acompañarme y cuidarme siempre; me esforzaré cada día en seguir tu palabra y ayudar a quien más lo necesite.

A mis padres, Antonia Jesusa Gonzales Morales y Modesto Damian Mendoza Morales por su confianza y apoyo incondicional en todo momento. También a mis hermanos Arturo Milla Gonzales y Roxana Mendoza Gonzales por sus grandes consejos.

A Mercury y Chester, mi gatito y perrito respectivamente, quienes me acompañaron en cada desvelada desde mis primeros años de formación profesional. También a los que ya no están y se fueron llevándose un pedazo de mi corazón (Nala y Panchita).

A los amigos que conocí en la EPIA, que me acompañaron en todo momento durante mi vida universitaria. También a los que por cosas del destino ya no somos amigos. Gracias por sus aprendizajes; quedarán siempre en mi memoria y corazón.

Lizbeth Andrea Mendoza Gonzales

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradecemos a Dios por brindarnos vida, salud y fuerza para concluir la etapa universitaria con éxito, la cual será de mucha importancia para nuestro futuro.

A nuestros padres por su apoyo, comprensión y motivación durante todo el periodo universitario.

A nuestra asesora, la Dra. Elza Berta Aguirre Vargas, por sus valiosas enseñanzas durante el desarrollo de nuestra tesis, brindándonos soporte y guía en todo el proceso; y a nuestra coasesora, la MSc. María de Fátima Arévalo Oliva, por su dedicación, acompañamiento y aportes fundamentales para la culminación de este trabajo.

A los docentes de la universidad, por cada una de sus enseñanzas, por su guía constante y por los aprendizajes que nos acompañaron a lo largo de estos años de formación. Asimismo, expresamos nuestro sincero agradecimiento a los técnicos de los laboratorios, cuya disposición y apoyo hicieron posible el desarrollo de nuestro trabajo.

INDICE

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO.....	ii
AVAL DE CONFORMIDAD.....	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEORICO.....	4
2.1.1. Bioplástico.....	4
2.1.1.1. Clasificación	4
2.1.1.2. Métodos para la elaboración del bioplástico	6
2.1.1.2. Biodegradabilidad	7
2.1.2. Maíz.....	9
2.1.2.1. Composición del maíz	10
2.1.2.2. Clasificación	11
2.1.3. Almidón.....	12
2.1.3.1. Composición del almidón	12
2.1.3.2. Almidón de maíz.....	15
2.1.4. Colágeno.....	15
2.1.5. Colágeno hidrolizado	17
2.1.5.1. Métodos de extracción	17
2.1.5.2. Propiedades	19
2.1.5.3. Aplicaciones.....	20
2.1.6. Naranja	20
2.1.7. Cáscara de naranja.....	21
2.1.8. Aceite esencial.....	24
2.1.9. Aceite esencial de cáscara de naranja	25
III. METODOLOGIA.....	26
3.1.1. Lugar de ejecución	26
3.1.2. Materia prima y equipos.....	26
3.1.2.1. Materia prima.....	26
3.1.2.2. Insumos	27
3.1.3. Equipos, Materiales y Reactivos	27

3.1.4. Metodología	32
3.1.4.1 Obtención del almidón de maíz	32
3.1.4.2. Obtención de aceite esencial	35
3.1.4.3. Obtención del bioplástico	38
3.1.5. Métodos de análisis	40
3.1.5.1. Caracterización fisicoquímica y funcional del almidón de maíz	40
3.1.5.2. Caracterización del aceite esencial de cáscara de naranja	42
3.1.5.3. Caracterización del bioplástico	43
3.1.5.4. Caracterización de la fresa conservada con el bioplástico	47
3.1.6. Diseño de la investigación.....	49
3.1.7. Diseño estadístico.....	51
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	52
4.1.1. Composición proximal de las materias primas	52
4.1.1.1. Almidón de maíz.....	52
4.1.1.2. Caracterización del aceite esencial de cáscara de naranja	57
4.1.2. Obtención del bioplástico.....	61
4.1.3. Bioplástico.....	63
4.1.3.1. Espesor.....	63
4.1.3.2. Solubilidad.....	67
4.1.3.3. Opacidad	72
4.1.3.4. Biodegradabilidad	76
4.1.3.5. Propiedades Mecánicas	78
4.1.3.6. Análisis de permeabilidad.....	86
4.1.3.7. Análisis antimicrobiano	90
4.1.4. Caracterización de la fresa	91
4.1.4.1. Fisicoquímicos	91
4.1.4.2. Peso	99
4.1.4.3. Análisis Microbiológico	104
V. CONCLUSIONES	110
VI. RECOMENDACIONES	112
VII. BIBLIOGRAFIA	113

VIII. ANEXOS	140
--------------------	-----

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición nutricional del grano de maíz blanco	11
Tabla 2 Porcentaje de Amilosa y Amilopectina de almidón de diferente origen	14
Tabla 3 Composición de cáscara de naranja Valencia en base seca (<i>Citrus sinensis</i>) %	23
Tabla 4 Rango de concentración de las tres variables independientes usadas en el Factorial Multinivel	49
Tabla 5 Matriz experimental para la formulación de bioplástico a base de almidón de maíz, colágeno de hidrolizado y aceite esencial de cascara de naranja.	50
Tabla 6 Composición proximal del almidón de maíz	52
Tabla 7 ANOVA de los tratamientos.....	53
Tabla 8 Poder de Hinchamiento del almidón	55
Tabla 9 Porcentaje de amilosa y amilopectina del almidón de maíz blanco	56
Tabla 10 Análisis fisicoquímico del aceite esencial de cáscara de naranja	57
Tabla 11 Componentes del aceite esencial de cáscara de naranja	59
Tabla 12 Obtención del bioplástico	61
Tabla 13 Promedio del espesor de los tratamientos	63
Tabla 14 Prueba de normalidad	64
Tabla 15 Prueba de homogeneidad de varianzas	64
Tabla 16 Prueba de Kruskal-Wallis	65
Tabla 17 Promedios de la solubilidad de los tratamientos	68
Tabla 18 Prueba de normalidad	69
Tabla 19 Prueba de homogeneidad de varianzas	69
Tabla 20 Prueba de Kruskal-Wallis	70
Tabla 21 Promedios de la opacidad del bioplástico.....	72
Tabla 22 Prueba de normalidad	73
Tabla 23 Prueba de homogeneidad de varianzas	73
Tabla 24 ANOVA de los tratamientos.....	74
Tabla 25 Prueba de Tukey	74

Tabla 26 Resultados de las propiedades mecánicas evaluadas.....	79
Tabla 27 Prueba de normalidad	79
Tabla 28 Prueba de homogeneidad de varianzas	80
Tabla 29 ANOVA de los tratamientos.....	80
Tabla 30 Prueba de Dunnet.....	81
Tabla 31 Prueba de normalidad	82
Tabla 32 ANOVA de los tratamientos.....	83
Tabla 33 Prueba de Dunnet.....	83
Tabla 34 Prueba del análisis de normalidad de residuos del análisis de permeabilidad	86
Tabla 35 Prueba de homogeneidad.....	87
Tabla 36 Prueba de T student del análisis de permeabilidad.....	87
Tabla 37 Resultados del análisis fisicoquímico de la fresa	92
Tabla 38 Prueba de normalidad	93
Tabla 39 Prueba de homogeneidad de varianzas	94
Tabla 40 ANOVA del pH según día y tratamiento.....	94
Tabla 41 ANOVA del Brix según día y tratamiento	95
Tabla 42 ANOVA de la Acidez según día y tratamiento	96
Tabla 43 Evaluación de la pérdida de peso (%) con el paso de los días.....	100
Tabla 44 Prueba de normalidad	100
Tabla 45 Prueba de homogeneidad de varianzas	101
Tabla 46 ANOVA del % de pérdida de peso según día y tratamiento	101
Tabla 47 Análisis de normalidad de residuos del análisis microbiológico.....	104
Tabla 48 Prueba de homogeneidad del análisis microbiológico	104
Tabla 49 Análisis de varianza de dos factores (Días y Tratamientos) del análisis microbiológico.....	105

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Clasificación de bioplástico según su origen	5
Figura 2 Estructura de la Amilosa	13
Figura 3 <i>Estructura de amilopectina</i>	13
Figura 4 Estructura primaria del colágeno de tipo I	16
Figura 5 Composición estructural de los cítricos	24
Figura 6. Obtención del almidón de maíz	32
Figura 7. Obtención del almidón de maíz	35
Figura 8. Elaboración de bioplástico	38
Figura 9 Esquema del cuerpo de prueba para el ensayo de tracción	45
Figura 10 Diseño experimental	51
Figura 11 Espesor Vs Tratamientos	66
Figura 12 Solubilidad VS Tratamientos	70
Figura 13 Opacidad VS Tratamientos	75
Figura 14 <i>Biodegradabilidad de los tratamientos</i>	77
Figura 15 Grafico de cajas de los tratamientos	82
Figura 16 Grafico de cajas de los tratamientos	84
Figura 17 Análisis antimicrobiano	90
Figura 18 °Brix Vs Días	97
Figura 19 pH Vs Días	98
Figura 20 %Acidez Vs Días	98
Figura 21 %Pérdida de peso con el paso de los días	103
Figura 22. Comportamiento de los aerobios mesófilos (log UFC/g) en fresas tratadas con el control y bioplástico durante 15 días de almacenamiento a 5 °C	106

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Composición del colágeno hidrolizado	140
ANEXO 2. Obtención de almidón de yuca	141
ANEXO 3. Extracción del aceite esencial de cáscara de naranja.....	144
ANEXO 4. Determinación de humedad en el almidón	147
ANEXO 5. Determinación de ceniza en el almidón	148
ANEXO 6. Determinación de fibra en almidón	149
ANEXO 7. Determinación de proteína en almidón	150
ANEXO 8. Determinación de lípidos en el almidón.....	151
ANEXO 9. Determinación de la densidad relativa del aceite esencial	152
ANEXO 10. Determinación del índice de refracción.....	154
ANEXO 11. Determinación del índice de acidez.....	156
ANEXO 12. Determinación del porcentaje de rendimiento.....	159
ANEXO 13. Determinación del perfil cromatográfico del aceite esencial	160
ANEXO 14. Caracterización del almidón de maíz	162
ANEXO 15. Análisis de amilosa en el almidón de maíz	165
ANEXO 16. Caracterización del aceite esencial de cascara de naranja.....	166
ANEXO 17. Obtención del bioplástico.....	169
ANEXO 18. Análisis de Espesor	171
ANEXO 19. Análisis de Solubilidad.....	172
ANEXO 20. Análisis de Opacidad.....	176
ANEXO 21. Análisis de las propiedades mecánicas.....	177
ANEXO 22. Análisis de la biodegradabilidad del bioplástico	179
ANEXO 23. Análisis de permeabilidad de vapor de agua	180
ANEXO 24. Análisis Antimicrobiano	181
ANEXO 25. Acondicionamiento de las fresas	180
ANEXO 26. Caracterización de las fresas	183
ANEXO 27. Análisis microbiológicos de la fresa	184
ANEXO 28. Películas obtenidas	185
ANEXO 29. Resultados fisicoquímicos de la fresa	187
ANEXO 30. Registro fotográfico del análisis microbiológico.....	188

RESUMEN

El objetivo del estudio fue formular un bioplástico por el método Casting a partir de almidón de maíz blanco, colágeno hidrolizado y aceite esencial de cáscara de naranja como agente antimicrobiano para el envasado de fresa. El almidón y el aceite se obtuvieron por vía humedad y arrastre de vapor respectivamente. Los tratamientos se formularon mediante el método Casting con secado a 38 °C por 24 h, variando almidón (5–6%), colágeno (6.5–10%) y aceite esencial (0.5–1%). Se evaluaron propiedades físicas, mecánicas, biodegradabilidad y características biológicas. Las biopelículas mostraron que un mayor contenido de almidón y colágeno incrementó el espesor (0.146 ± 0.04 – 0.152 ± 0.02 mm), la permeabilidad fue similar entre tratamientos ($\approx 9.2 \times 10^{-12} \text{ g} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$), la opacidad disminuyó con más aceite esencial (4.0 ± 0.06 – 5.3 ± 0.05) y la solubilidad fue alta (22.59–50.16%). Todos los bioplásticos se biodegradaron en 7 días. Mecánicamente, los mayores contenidos de almidón, colágeno y aceite aumentaron la fuerza (0.820–1.897 N) y la elongación (9.066–18.053%). El T2 (6% almidón, 10% colágeno y 1.5% aceite esencial) fue el mejor tratamiento. Al aplicarlo en el envasado de fresa, el tratamiento adecuado presentó mayores valores de pH y °Brix, menor acidez y una mayor pérdida de peso (46.32%) frente al control (29.11%). Microbiológicamente, mostró menor carga microbiana (7.389 Log UFC/g) al día 15. No presentó halo de inhibición frente a *E. coli*, pero sí inhibió su crecimiento en contacto con la película, confirmando su efectividad en la conservación de fresas y prolongación de su vida útil.

Palabras Clave: Bioplástico, almidón de maíz, aceite esencial, colágeno hidrolizado

ABSTRACT

The objective of this study was to formulate a bioplastic using the casting method from white corn starch, hydrolyzed collagen, and orange peel essential oil as an antimicrobial agent for strawberry packaging. The starch and essential oil were obtained by steam distillation, and a proximal analysis was performed. The treatments were formulated using the casting method with drying at 38 °C for 24 h, varying starch (5–6%), collagen (6.5–10%), and essential oil (0.5–1%). Physical, mechanical, biodegradability, and biological characteristics were evaluated. The bioplastics showed that higher starch and collagen content increased thickness (0.146 ± 0.04 to 0.152 ± 0.02 mm), permeability was similar among treatments ($\approx 9.2 \times 10^{-12}$ $\text{g} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$), opacity decreased with higher essential oil content (4.0 ± 0.06 to 5.3 ± 0.05), and solubility was high (22.59–50.16%). All bioplastics biodegraded within 7 days. Mechanically, higher starch, collagen, and essential oil content increased tensile strength (0.820–1.897 N) and elongation (9.066–18.053%). Treatment T2 (6% starch, 10% collagen, and 1.5% essential oil) was identified as the best formulation. When applied to strawberry packaging, the adequate treatment presented higher pH and °Brix values, lower acidity, and a higher weight loss (46.32%) compared to the control (29.11%). Microbiologically, it showed a lower microbial load (7.389 Log CFU/g). No inhibition halo was observed against *E. coli*; however, it inhibited its growth on and beneath the film, confirming its effectiveness in preserving strawberries and extending their shelf life.

Keywords: Bioplastic, corn starch, essential oil, hydrolyzed collagen

I. INTRODUCCIÓN

Los plásticos generan una gran problemática en el medio ambiente a nivel global, pues al tener un gran nivel de producción, sus desechos afectan a la salud humana, además a los ecosistemas marinos debido que representan el 80% de la basura presente en el océano (Ortiz-Álvarez et. al., 2022), asimismo, generan doble contaminación, el primero sucede durante el proceso de elaboración y lo otro es porque una gran cantidad de plásticos han sido quemados, enterrados y eliminados inapropiadamente (Espino & Koot, 2020). La vida útil de este material es de alrededor de 180 años, siendo utilizados en la industria alimentaria como envases y empaques de plástico por su practicidad y bajo costo, que, al ser de un solo uso, son desechados al finalizar su función generando una mala cultura de desperdicio (López-Aguirre et al., 2020). En cuanto a su producción, ha aumentado de forma exponencial hasta 200 veces desde 1950, al punto de tener una producción de 360 millones de toneladas métricas anualmente y se pronostica que esta cantidad se duplicará dentro de 20 años. (Schwarz et. al, 2022). Dentro del uso del bioplástico el 40% es destinado para el empaque de los alimentos, esto debido al aumento de la población, lo que ocasiona un incremento en el porcentaje de abastecimiento de alimentos y por ende una mayor demanda en el material para embalarlos, lo cual es importante para conservar el producto de factores físicos, químicos y biológicos, asegurando su inocuidad (Jacob et al., 2020).

A nivel mundial, la producción de cítricos alcanza hasta 120 millones de toneladas por año, siendo el 40% de estos utilizado para la producción de zumos desechándose la cáscara. En el Perú más del 77.6% de alrededor de los ocho millones de toneladas de residuos, entre ellas orgánicas (55.7%) e inorgánicas (20.7%) pueden ser reutilizables, entre ellas solo se llegó a

valorar 59,021 toneladas, siendo un problema por la generación de malos olores y contaminación, al no tener una adecuada gestión de los residuos (El Peruano, 2022).

Dentro de ello, la industria naranjera (*Citrus sinensis*) cuyo procesamiento está enfocada netamente a la producción de zumo y néctar, tiene alrededor del 23 a 40% en peso de la fruta separada a las cáscaras, semillas y gajos secos, produciendo de esta manera un problema ambiental de residuos orgánicos; resaltando que los residuos de la naranja; principalmente su cáscara; representa un total del 65.5% del cítrico, abarcando una mayor cantidad de desperdicio del fruto (Cerna y Torres, 2020).

Ante ello, se puede optar por alternativas para reemplazar el uso de plástico para embalaje de los alimentos, pues un bioplástico a partir de materias primas biodegradables como el almidón de maíz, que presenta propiedades fisicoquímicas y termoplásticas similares a los polímeros sintéticos, es capaz de degradarse en menos de un año al utilizarse resina vegetal y siendo respaldado por la factibilidad de estudios precedentes en obtención de películas biodegradables (Riera, 2020). Así mismo el uso del colágeno hidrolizado le confiere una alta biodegradabilidad y alta permeabilidad al agua (Ashraf et al., 2020). Por su actividad microbiológica, los aceites esenciales son ampliamente utilizados en plásticos biodegradables , siendo los cítricos altamente eficientes, pues inhibe el crecimiento de bacterias, alargando la vida en anaquel y previniendo la diseminación fúngica microbiana, generando empaques activos con mayor funcionalidad (Solano et al., 2020), donde el autor Singh et al., (2022) indica que el aceite esencial de cascara de naranja por su composición basada en limoneno (90-96%), monoterpenos como linalol (1%-2%) y cineol (1%), presenta actividad inhibitoria de crecimiento en diferentes hongos como por ejemplo el *Aspergillus Níger* y de bacterias. La importancia de la investigación radica en la contribución a la

sostenibilidad ambiental y economía circular por medio del uso a residuos como la cascara de naranja para obtener aceite esencial y reforzarlo con colágeno hidrolizado y almidón de maíz; lo que significa adicionar un valor agregado al producto, lo que puede ser utilizado para envasar fresas alargando su vida útil, reemplazando el plástico tradicional.

La presente investigación tiene como objetivo general formular un bioplástico por el método Casting a partir de almidón de maíz blanco, colágeno hidrolizado y aceite esencial de cáscara de naranja como agente antimicrobiano para su aplicación en el envasado de fresa; de lo que derivan los objetivos específicos extraer el almidón de maíz blanco vía húmeda para su aplicación en el bioplástico, extraer aceite de cáscara de naranja por arrastre de vapor para su aplicación en el bioplástico y determinar su rendimiento, determinar la composición química proximal del almidón de maíz blanco mediante métodos analíticos, caracterizar fisicoquímicamente el aceite esencial de cáscara de naranja; índice de refracción, densidad y acidez, determinar la composición química del aceite esencial de cáscara de naranja mediante un cromatógrafo de gases, formular el bioplástico a partir de almidón de maíz, colágeno hidrolizado y aceite esencial de cáscara de naranja según el diseño experimental, evaluar las propiedades físico-mecánicas, antimicrobiano y biodegradabilidad del bioplástico mediante la NTP 900.080:2015 y su aplicación en la conservación de fresa, por medio de su evaluación fisicoquímica, pesos y del punto de vista microbiológico.

Por lo que se planteó la siguiente formulación de problema: ¿Cuál será la formulación que permita obtener un bioplástico a partir almidón de maíz (*Zeas mays*), colágeno hidrolizado y aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) para su aplicación en el envasado y conservación de fresa?, de lo que deriva la siguiente hipótesis: La formulación del biopolímero a partir de colágeno (6.5% a 10%), almidón de maíz de (5% a 6%), y aceite

esencial de cáscara de naranja de (0.5 a 1.5%), generarán una base plástica que presentará propiedades mecánicas y térmicas, para su uso como bioplástico en la conservación de fresa.

II. MARCO TEORICO

2.1.1. Bioplástico

La organización europea de bioplásticos los define como plásticos que pueden ser biodegradables, biobasados o que tengan ambas características, donde Villaroel et al. (2020) menciona que para obtenerlo se requiere que este sea elaborado de materia primas renovables y biodegradable, caso contrario que se mantengan las materias renovables, incluso obtenido de origen petroquímico y materias biodegradables.

Al ser compuestos poliméricos desde el punto de vista de los plásticos sintéticos posee funciones similares a los plásticos, ya que son sostenibles ambientalmente, los que se pueden obtener por medio de un material biológico como el almidón, aceites vegetales, grasas vegetales o celulosa (Atiresh et al., 2021).

Así mismo Avellán et al., (2020) lo define como un compuesto que posee un alto peso molecular obtenido de diversas fuentes naturales, siendo el almidón la principal materia prima para la formación de bioplásticos, debido a su bajo costo, biodegradabilidad y alta biodisponibilidad compitiendo económicoamente en cuanto al petróleo.

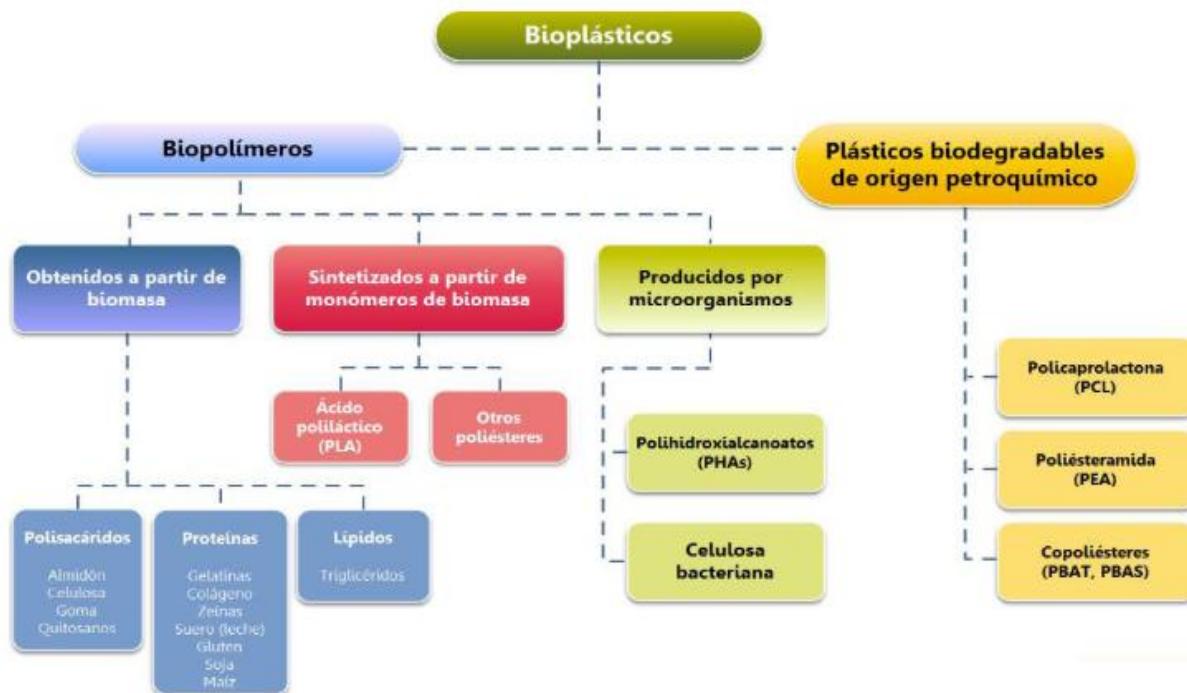
2.1.1.1. Clasificación

Según Arif et al., (2022) los plásticos se clasifican en:

- Plásticos Biodegradables: Tras su descomposición por acción de microorganismos como hongos, bacterias; se transforman en biomasa. Por ello uno de los mecanismos se da de manera anaeróbica, donde procede a convertirse en fibra de celulosa, lignina teniendo como fin los vertederos. La otra forma de darse es aeróbica donde la degradación sirva de compostaje, transformándose en CO₂; ambos mecanismos están relacionados con el oxígeno.
- Biopolímeros: Se llevan a cabo reacciones en CO₂, sales y H₂O de descomposición por medio de acción microbiana, pudiendo ser obtenido de materias primas como el almidón.

Figura 1

Clasificación de bioplástico según su origen



Fuente: Arif et al., (2022)

2.1.1.2. Métodos para la elaboración del bioplástico

De acuerdo a Cazón-Díaz et al., (2017) la materia prima debe ser disuelta usando un solvente, siendo factible agregarle plastificantes o antimicrobianos para obtener un mejor resultado; a diferencias de las películas de polímeros sintéticos que se obtienen por el método de extrusión, se debe tener cuidado en cuanto a la aplicación del calor en los biopolímeros. Para su obtención se puede llevar un proceso seco, el cual consiste en la extrusión por sus propiedades termoplásticas y calentado; mientras que en el proceso húmedo el almidón debe ser solubilizado y se procede a un secado. Ante ello el proceso mas utilizado para a aplicación en alimentos por inmersión es el proceso húmedo, sin embargo en la industria el proceso más empleado es el seco . Dentro de este procesos el método más utilizado para producir bioplásticos es el Casting, cuya técnica consiste en colocar la solución en una superficie plana, para proceder a secarlo y obtener la película (Monetta et al., 2019)

- **Método Casting**

Es uno de los métodos más utilizados para producir bioplásticos, cuya técnica consiste en la preparación de una solución o dispersión polimérica, la cual es depositada sobre una superficie plana y posteriormente sometida a un proceso de secado controlado. Durante la evaporación del solvente, las cadenas poliméricas y los aditivos presentes se reorganizan formando una matriz continua y homogénea, lo que da como resultado una película delgada y flexible. Dicho método permite un control preciso de la formulación y la

incorporación de aditivos, plastificantes o agentes funcionales, facilitando la mejora de propiedades mecánicas y de barrera. (Monetta et al., 2019)

- **Método de extrusión**

En este método, los polímeros en forma de gránulos, polvo o mezclas se introducen en un extrusor de tornillo, donde son transportados y fundidos hasta adquirir una masa plástica homogénea. Dicha masa es luego forzada a través de una boquilla o matriz que le otorga la forma final, posibilitando la elaboración de láminas, películas o filamentos continuos. Este proceso presenta como ventajas su escalabilidad, la uniformidad en el producto final y la capacidad de incorporar aditivos o refuerzos durante la operación, mejorando así las propiedades del material. Sin embargo, su implementación requiere de equipos especializados, altos costos y un control riguroso de las condiciones de operación, lo que restringe su aplicación principalmente al ámbito industrial (Rhim & Ng, 2019).

2.1.1.2. Biodegradabilidad

Se refiere a la capacidad de que un material pueda ser biodegradado, la cual se puede realizar por medio de acción en microorganismos, pueden ser descompuestos en moléculas de CH₄, CO₂ y H₂O, lo que se puede realizar por medio de condiciones aeróbicas y anaeróbicas, incluso reacciones químicas abioticas que puede ser oxidación, fotodegradación e hidrólisis (Springler, 2018).

- **Etapas de la biodegradabilidad**

De acuerdo a Riera y Palma (2018) las etapas de la biodegradabilidad de un polímero empiezan con el biodeterioro, que consiste en que sus propiedades físicas,

químicas y mecánicas del polímero sean modificadas por acción microbiana en el biopolímero o dentro de él, esto conlleva a la segunda etapa que consiste en la biofragmentación, donde los polímeros son convertidos a oligómeros y monómeros. La última etapa es la asimilación donde a partir de fragmentos poliméricos se de la integración de los átomos, todo ello ocurre dentro de la célula microbiana; lo que se realiza con la finalidad que se pueda brindar energía, carbono y los nutrientes necesarios para llevar a cabo para realizar la conversión del carbono del plástico en agua, biomasa y CO₂.

- **Mecanismo de biodegradabilidad en el bioplástico**

Atiresh et al., (2021) indica que los mecanismos para que se lleva a cabo la biodegradación de los bioplásticos se subdividen en dos categorías de oxobiodegradables, donde los polímeros están hechos a base de petróleo con un aditivo prodegradante, capaz de catalizar y degradar el plástico, que generalmente es un metal, lo que favorece una degradación abiotíca del plástico, lo cual puede tardar meses o años. Por otro lado, los hidro biodegradables se descomponen más rápido que lo oxobiodegradables, hidrolíticamente, lo que puede servir como un fertilizante sintético, estos son producidos a partir de fuentes vegetales como el almidón y ácido poliláctico.

Normativa de biodegradabilidad

a. Nacional

De acuerdo a la NTP 900.080:2015. (2015) tanto para envases y embalajes, define a la biodegradabilidad como la descomposición de un compuesto químico causada por el accionar de microorganismos al estar en contacto con

el oxígeno o en ausencia de ello, obtener CO₂, agua, sales minerales para tener una biomasa. Esta norma establece la presencia no mayor del 50% de sólidos volátiles, donde por cada constituyente orgánico significativo en el material del envase debe estar presente en más de 1% del peso seco de material.

Así mismo indica que en el caso de una biodegradación aerobia el período de ensayo máximo debe ser 6 meses, donde para el material objeto de ensayo, se debe tener un % de biodegradación de 90% total o un 90% de degradación máxima de una sustancia de referencia. En cuanto a la biodegradación anaerobia se tiene como período máximo dos meses.

b. Internacional

En el aspecto internacional según la Asociación Española de Certificación y especialización la normativa Europea UNE-EN 13432:2001 tiene carácter internacional, la cual establece que los envases deben ser compostables y que el material sea biodegradado en un 90% en un plazo máximo no mayor de 180 días, evaluando luego de su descomposición que no deje residuos tóxicos y que pueda ser utilizado como compost en el suelo para que tenga algún beneficio, además de pasar las pruebas de biodegradabilidad.

2.1.2. Maíz

El maíz cuyo nombre científico es Zea mays L. es un cereal de la familia de las gramíneas, posee tallos largos, cuyos granos son denominados cariópside, el cual conforme madura tiende a tener un color blanco o amarillo que también puede

ser desde violáceo a rojo, esto depende de la especie. Presenta una gran producción internacional con 1,134 millones de toneladas por año (FAO, 2017).

Taxonómicamente el maíz forma parte del reino vegetal del subreino Embriobionta, de división Angiospermae clase Monocotyledoneae, su género es Zea y la especie mays de la que procede el nombre científico (Caballero et al., 2019).

2.1.2.1.Composición del maíz

Los granos de maíz poseen dureza; cuya propiedad en el gránulo depende del arreglo microestructural y la matriz proteica de los gránulos de almidón; el cual se encuentra localizado en su endospermo (Arriaga et al., 2019).

Valverde (2018) indica que en el grano del maíz debajo de la capa del pericarpio se encuentra la capa de aleurona responsable de darle el color al grano ya sea blanco, amarillo o morado, cuyo endospermo constituye del 85-90% del grano. Este cereal cuenta con una cantidad elevada de almidón de 87.6% teniendo un bajo costo en el mercado (Calabro y Grosso, 2018).

Tabla 1

Composición nutricional del grano de maíz blanco

Componentes	Porcentaje por 100 g de Maíz
Energía	365 kcal
Grasa total	4.74 g
Carbohidratos	74.30 g
Sodio	35.00 mg
Proteínas	9.42 g
Vitaminas	214.00 mg
Calcio	7.00 mg
Potasio	287.00 mg

Fuente: Ledesma et al., (2021)

2.1.2.2. Clasificación

Según Valverde (2018) el maíz se clasifica en *Zeas mays* dentado que posee endospermo duro y blando, utilizado en alimentación y las hojas para alimentación animal; *Zeas mays* indurada llamado maíz duro tiene una capa gruesa de endospermo cristalino, que cubre un pequeño centro pulvurento cuyas partículas son redondas, cristalinas y lisas; *Zeas mays* amiláceo , el cual tiene un endospermo harinoso no cristalino; *Zeas mays saccharata* es conocido como el maíz dulce; *Zeas mays everta*, conocidas como palomita de maíz y *Zeas mays tunicata*, conocido como maíz rebozado cuyos granos están encapsulados en vainas o cobertores.

2.1.3. Almidón

Según Villaroel (2018) el almidón es un polisacárido de almacenamiento en las plantas, el cual a nivel molecular está conformado por amilosa entre 15-20 % de almidón, que es un polímero lineal y amilopectina entre valores de 80-85%, siendo ramificada y el componente principal del almidón. Teniendo los almidones de tubérculos gránulos de almidón grandes con mayor superficie.

Dentro de sus características el almidón al ser de origen vegetal brinda hidratos de carbono, que se puede ser obtenido de diversas materias primas, cuya apariencia es de un polvo fino sólido. Cuya fórmula química es $(C_6H_{10}O_5)_n$, además de ser la fuente principal de reserva energética en los vegetales.

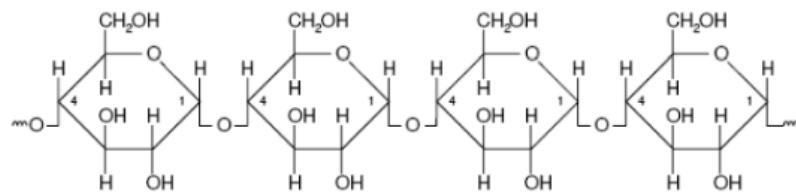
Debido a sus propiedades puede ser utilizado como material polimérico, teniendo dos tipos de usos, uno de ellos es en forma de almidón termoplástico como matriz polimérica y como nanocarga. (Sessini & Peponi, 2017).

2.1.3.1. Composición del almidón

La amilosa que forma parte del almidón es un polisacárido lineal cuya composición se conforma por los monómeros de α -D-glucosa cuyos enlaces son α -1-4-glucosídicos, donde se encuentra principalmente en el núcleo amorfo de los gránulos de almidón, especialmente en almidones no cerosos. Al ser soluble le brinda características reológicas cuya propiedad hidrofílica se debe a los grupos hidroxilo (Molina y Montedeosca, 2014).

Figura 2

Estructura de la Amilosa

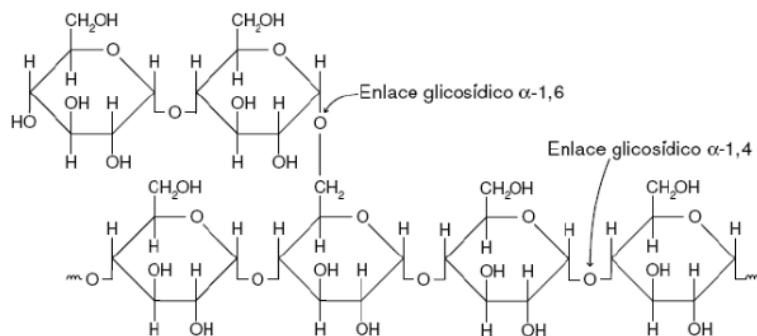


Fuente: Pratt et al., (2019)

La amilopectina posee ramificaciones a través de enlaces α -1,6-glucosídico, el cual le da a los gránulos una estructura en forma de anillos, además de presentar una propiedad semicristalina; en solución presenta poca movilidad debido a su tamaño y estructura, por la cual no forma películas fuertes pero si geles estables (Meza, 2016).

Figura 3

Estructura de amilopectina



Fuente: Pratt et al., (2019)

Debido a la composición el almidón se considera disponible para obtener un material termoplástico fácilmente procesado, cuyo proceso térmico del

almidón puede ocasionar cambios en la microestructura, reología e incluso las transiciones de fase. Este puede ser modificado de manera química, ya que al buscar reducir la fragilidad debemos mezclar con otros biopolímeros, por lo que debido a sus propiedades puede ser utilizado en embalaje (Pratt et al., 2019). El contenido de amilosa y amilopectina va depender de la fuente de origen, es decir del tipo de cereal y la variedad correspondiente (Meza, 2016).

Se muestra la tabla de composición de almidón en diferentes cereales.

Tabla 2

Porcentaje de Amilosa y Amilopectina de almidón de diferente origen

Fuente	% Amilosa	% Amilopectina
Trigo	26	74
Cebada	22	78
Maíz	28	72
Amilomaíz	51-65	35-49
Maíz céreo	1	99
Avena	27	73
Arroz	18	82
Arroz céreo	1	99
Mijo	25	75
Mijo Céreo	1	99
Patata	23	77

Fuente: Meza (2016)

2.1.3.2. Almidón de maíz

El maíz es uno de los cereales más consumido en el mundo que debido a sus características posee almidón, cuya extracción se puede dar por molienda seca y por molienda húmeda, que es aplicada para mejorar el almidón obtenido de la planta. Su grano está conformado de 70-75%, siendo posible aplicarlo en plásticos, como una alternativa al uso de petróleo y derivados (Avellan et al., 2020).

Es considerado modificable químicamente, con buenas propiedades mecánicas, donde dependiendo del tipo de maíz puede variar su contenido en amilosa, teniendo que representa el 20- 30%, los cerosos menor al 1% y los ricos en amilosa pueden llegar a sobrepasar el 50%. El tamaño promedio de los gránulos de almidón de maíz oscila entre 15 a 20 um, estos tienen la capacidad de formar geles opacos y fuertes, teniendo futuro en la aplicación de películas biodegradables (Merari, 2018).

2.1.4. Colágeno

Según Anzueta (2020), el colágeno es definido como una biomolécula o biopolímero indispensable en los animales, encontrándose en mayor cantidad en huesos y piel, siendo un total de 25- 30% de proteínas total del animal. Los tipos de colágenos más comunes son del tipo I, tipo II y tipo III, encontrándose el primero en tejidos como, piel, dermis, tendones, etc, (Xu et al., 2021); también están los del segundo tipo, pero estos ya se encuentran en un lugar estructuralmente importante del cartílago hialino que envuelve las superficies articulares del adulto, además se ubican en otros tejidos como la retina; finalmente se podría mencionar a los del tipo III, ubicándose principalmente en los pulmones, vasos sanguíneos y paredes intestinales (Rajabimashhadi et al., 2023). Sin embargo estudios han demostrado

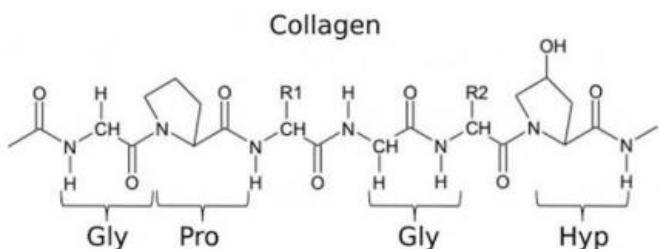
que la cantidad de colágenos existentes son entre 27 y 29 tipos, siendo el tipo I el más abundante, cuya estructura es de triple hélice ($\alpha 1 - \alpha 1 - \alpha 1$) de alrededor de mil aminoácidos con un peso molecular de alrededor de 100 kDa (Bhagwat et al., 2019). El colágeno confiere resistencia mecánica al cuerpo del animal en los tejidos y células, al último estimula su adhesión. (Genchi y Ciofani, 2019).

El colágeno está formada principalmente por el aminoácido glicina (33%), prolina (12-20%) e hidroxiprolina (10%) (estructura primaria) (León-López, et al., 2019). Según Meisenberg y Simmons (2018), los aminoácidos hidroxilados sintetizados mediante la modificación postraduccional a base de residuos de prolilo y lisilo en el polipéptido contienen una cantidad de 0.5% de 3-hidroxiprolina, 10% de 4-hidroxiprolina y un 1% de 5- hidrolisina.

Por ello, en la presente figura se muestra la estructura de tipo primaria del colágeno del tipo I.

Figura 4

Estructura primaria del colágeno de tipo I



Fuente: Genchi & Ciofani, 2021

2.1.5. Colágeno hidrolizado

Las fuentes, tipos, condiciones y métodos de extracción son factores que influyen en las propiedades del colágeno obtenido, tanto como la estructura molecular de la cadena peptídica, composición de aminoácidos, solubilidad, entre otros (Rajabimashhadi et al., 2023). Debido a su disponibilidad y biocompatibilidad se ha visto como una alternativa más cercana la extracción de fuentes bovinas (Salvatore et al., 2020).

Los colágenos hidrolizados de bajo peso molecular tienen una alta digestibilidad y biodisponibilidad (Hong et al., 2019) lo que provoca una alta demanda de subproductos animales. Cabe resaltar que este tipo de colágeno generalmente se obtiene mediante un tratamiento de hidrólisis ácida, alcalina o enzimática de colágeno/gelatina (Tang et al., 2022).

2.1.5.1. Métodos de extracción

Por su parte, durante el proceso de extracción pueden romperse los enlaces covalentes intramoleculares y extramoleculares que estabilizan las fibrillas de colágeno y los enlaces de hidrógeno que intervienen en la estabilización de la triple hélice del colágeno lo que puede resultar una mezcla polipeptídica de colágeno parcialmente degradado, es decir gelatina (Duconseille et al., 2015 citado en Tang et al., 2022)

A continuación, tenemos los métodos de extracción:

a. Hidrólisis ácida

En este tipo de hidrólisis se usa ácidos como el HCl y el AcOH que cumplen con hidrolizar las tres cadenas hélice que componen al colágeno, y solubilizan sus cadenas simples, para luego ser despolimerizados, es decir, volver a las proteínas más pesadas en péptidos cortos (Cobeña-Dueñas et al., 2022). La solución ácida actúa provocar la repulsión entre las moléculas de tropocoláeno, ocasionando una disolución de colágeno a nivel molecular (Torres, 2022). Según Tan y Chang (2017), el AcOH (0,1 o 0,5 M) suele ser muy utilizado para extraer colágeno de especies marinas. Es importante tener en cuenta que la acidez, tiempo y temperatura excesivo son factores fundamentales para evitar la degradación de las cadenas de colágeno soluble (Cobeña-Dueñas et al., 2022).

b. Hidrólisis básica

Según (Liuet al., (2015), se realiza con NaOH, el cual es una base fuerte que al entrar en contacto con proteínas de los tejidos vivos ocasiona su ruptura como consecuencia del hidrólisis. No se recomienda usar alta concentraciones de NaOH, ya que al ser una base fuerte podría hidrolizar e incluso a las moléculas de colágeno pese a que estos son de origen fibroso y resistente a nivel molecular (Pal et al, 2015, citado en (Quintero y Zapata, 2017)

c. Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática es un método de extracción que consta cuando una molécula se divide producto de la adición de una molécula de agua, reacción cuya catálisis es controlada por una enzima de tipo hidrolasa; para la extracción de

colágeno se suele utilizar la enzima pepsina, lo cual actúa diviendo las zonas telopéptidas de la triple hélice (Cobeña-Dueñas et al., 2022).

Según Velárde-Rodríguez et al., (2015), la hidrólisis enzimática cumple con la función de eliminar otro tipo de proteínas diferentes al colágeno presentes en los residuos de pescado, se utiliza además el reactivo comercial de SIGMA P3111-50mL al 3% utilizando buffer Tris-HCl en pH 8.6 con la finalidad de proporcionar estabilidad a la enzima durante todo la hidrólisis.

2.1.5.2. Propiedades

En cuanto a sus propiedades tanto el colágeno como sus derivados están fuertemente relacionadas con su estructura, tales como el autoensamblaje, propiedades funcionales gelificación y las actividades biológicas (Tang et al., 2022). Ahora, es importante mencionar que el colágeno hidrolizado es altamente soluble con el agua; pero no capaz de formar películas por sí solas, por lo que es obligatorio mezclarlo con otros biopolímeros (León-López, et al., 2019)

De manera general, el colágeno posee una menor viscosidad en solución acuosa, olor neutro, no presenta color, es transparente, emulsificante, estabilizante, además es formador de espuma y película, también presenta humectabilidad, solubilidad, dispersabilidad y baja alergenicidad en contacto (León-López, et al., 2019)

Las propiedades funcionales de los colágenos hidrolizados se encuentran estrechamente relacionados con el peso molecular de estos; es decir, los hidrolizados con bajo peso molecular poseen menor viscosidad, mejor dispersión, mayor hidrofocidad (Zhang et al., 2017) y menor tamaño de partícula (Zhang et al., 2017).

Según León-López, et al., (2019), menciona que los péptidos de colágeno presentan actividad antioxidante y antimicrobiana cuya calidad depende del método de extracción. Asimismo, existen investigaciones donde mencionan que el aumento del grado de hidrólisis está relacionado a una fuerte capacidad antioxidante del producto (Zhang et al., 2017)

2.1.5.3. Aplicaciones

Debido a sus propiedades de retención de agua, acción biomédica, etc. el colágeno es ideal para ser aplicado en la industria alimentaria (Zhang et al., 2017). Este puede actuar como un ingrediente funcional en diversos sistemas alimentarios (Tang et al., 2022), o como materia prima para el desarrollo de materiales de envasados comestibles (Cao et al., 2020). Asimismo, debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianos, estos pueden ser aplicados como suplementos alimenticios funcionales (León-López, et al. 2019)

Tambien alimentaria suele utilizarse como estabilizante, gelificante, emulsionante, espumante y sustitutor parcial de grasa teniendo un importante papel ya que este puede actuar como un ingrediente funcional en diversos sistemas alimentarios (Tang et al., 2022), en la industria farmacéutica y biomédica se utiliza como un suplemento alimenticio, protector de medicinas y en la cosmética para mejorar la piel y uñas, tambien se usa en la industria del cuero. (Arumugam et al., 2018; Anzueta, 2020).

2.1.6. Naranja

La naranja es un fruto perteneciente a la familia Rutáceas, suelen crecer en zonas de clima cálido y templado (13- 30°C) con una óptima temperatura de 23°C a 900 msnm, encontrándose principalmente en países del continente africano. Además

estos frutos se desarrollan en arbustos o árboles, con hojas simples y flores de color blancas; en cuanto a su tamaño crece hasta los 12 m alto y 25 m de diámetro cuya producción tarda entre 3 a 5 años dependiendo su especie (Ocas, 2020).

La forma de la naranja es esférica con un diámetro entre 6-10 cm, constituido de gajos de las cuales suelen ser de color amarillo o anaranjado, todo esto se encuentra cubierto por un exocarpio de color anaranjado el cual se compone por varias glándulas llenas de aceites esenciales (Ocas, 2020). En cuanto a su variedad se pueden distinguir tres como los principales:

- Navel: Se caracterizan por tener buena presencia, son grandes, precoces; entre ellas destacan las variedades: Frost Washington, Center Navel, Washington Sangre, Cambell Valencia y Valle Washington (Miranda, 2020).
- Blancas: Se caracterizan por tener una gran cantidad de zumo y semillas por ello son utilizadas para procesar e industrializar jugo; entre ellos destacan las variedades: Valencia, Late, Salustiana, Ambersweet, etc.. (Molina & Montesdeoca, 2014).
- Criollas: Los frutos de este tipo presentan hendiduras en la parte externa producto de las cavidades que contienen el aceite esencial (Gutierrez, 2019). En sus variedades destacan: Hamlin, , Salerna, Galicia (Sweety Orange), Salustiana, Lima Naranja, etc. (Miranda, 2020)

2.1.7. Cáscara de naranja

De acuerdo a Alata et al., (2019), la cáscara de naranja es un residuo que se puede involucrar para la formación de películas o biopelículas debido a su contenido en fibra celulosa, pectina y aceites esenciales. La composición de la naranja contiene

alrededor de 14.27% de cáscara y en consiguiente la cáscara contiene 53.27% másico de Hidratos de carbono (Alata et al., 2019).

Según Pandiarajan et al., (2018), la cáscara de naranja es un residuo que contiene fibras insolubles (celulosa, hemicelulosa y lignina) y fibras solubles (pectina). Además, en estas cáscaras abundan compuestos fenólicos bioactivos, como ácidos fenólicos, flavonoides y flavonas polimetoxiladas, las cuales se encuentran en cantidades significativas lo que les confiere propiedades antioxidantes, antinflamatorias, antimicrobianas, anticancerígenas, etc. (Durmus et al., 2024). En general, según Kaur et al., (2023), los residuos de cítricos tienen un alto potencial para el desarrollo de nuevos productos funcionales ya que contienen diversos componentes bioactivos, tales como: aceites esenciales, ácidos orgánicos, pectina, fibra dietética y polifenoles. Asimismo, por su alto contenido de pectina se podría aplicar para desarrollar nuevos envases de alimentos, lo cual conjugado con los productos bioactivos extraídos (como el aceite esencial) pueden prolongar la vida útil del alimento (Andrade et al., 2022)

A continuación, se muestra la composición química de la cáscara de naranja en base seca:

Tabla 3

Composición de cáscara de naranja Valencia en base seca (*Citrus sinensis*) %

Composición	Cáscara de naranja Valencia (<i>Citrus sinensis</i>) (%)
Azúcar soluble	16.90
Almidón	3.75
Celulosa	9.21
Hemicelulosa	10.50
Lignina	0.84
Pectina	42.50
Ceniza	3.50
Grasa	1.95
Proteína	6.50
Otros	4.35

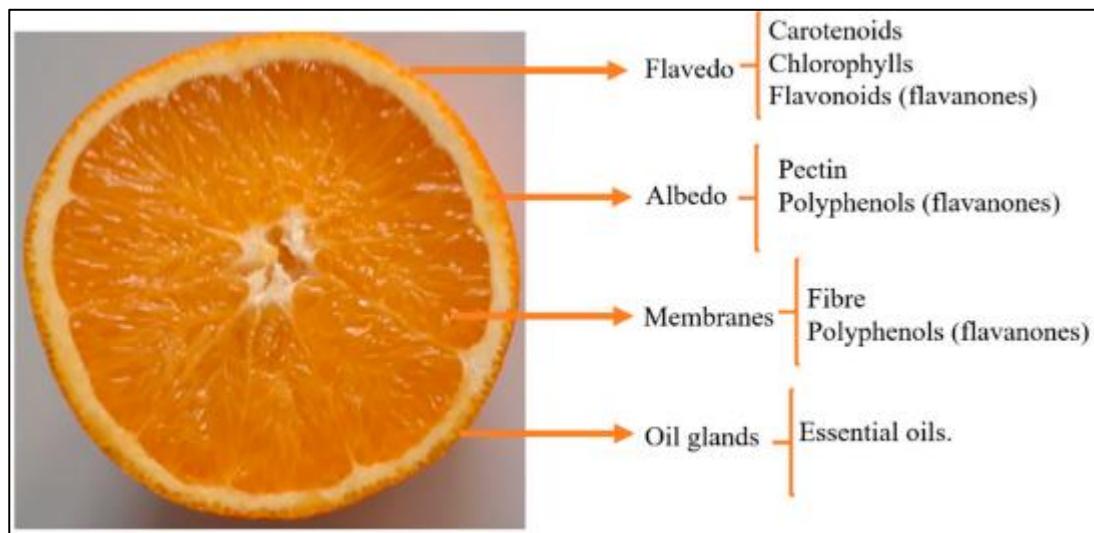
Fuente: (Grohmann et al., 1995)

Según Multari et al., (2020), la cáscara de cítrico se compone de dos partes: el flavedo y albedo. El primero es la capa externa de la fruta compuesto en su mayoría por celulosa, pero también por aceites esenciales (monoterpenos, alcoholes, aldehídos), pigmentos (carotenoides, clorofilas, flavonoides), esteroides y triterpenoides, y ceras de parafina.

A continuación, se muestra la composición estructural de la naranja:

Figura 5

Composición estructural de los cítricos



Fuente: (Nieto et al., 2021)

2.1.8. Aceite esencial

En general, los aceites esenciales son muy utilizado por su actividad antimicrobiana (Raveau et al., 2020). Por lo cual los métodos para obtener estos aceites son: hidrodestilación (HD), extracción con solventes (SE) y destilación al vapor (SD) (Anwar et al., 2023)

Los aceites esenciales de origen cítrico poseen características aromatizantes y antioxidantes debido a su capacidad de proteger organismos y tejido dañado ocasionado por especies reactivas de oxígeno (Manzur et al., 2023). Este producto esta constituido por componentes volátiles entre entre 85% a 99%, las cuales se encuentran una mezcla de monoterpenos $C_{10}H_{16}$, sesquiterpenos $C_{15}H_{24}$ y otros derivados oxigenados como: aldehídos (R-CHO), cetonas (R-CO-R'), ácidos, alcoholes (R-OH) y ésteres (Agarwal et al., 2022). Asimismo, según estudios revelan

que estan tienen efectos antimicrobianos antivirales, fungicidas y antioxidantes; por lo que se recomienda aplicar en películas (Mitropolou 2017 citado en Manzur et al., 2023). Otras de sus características son: alta volatividad, olor atractivo, inflamabilidad y cero toxicidad (Arias, 2019)

La aplicación de aceites esenciales es una buena alternativa para mejorar las propiedades de las películas, recubrimiento o envases biodegradables, ya que brinda una especie de protección ante la proliferación microbiana (Pazmiño et al., 2022).

2.1.9. Aceite esencial de cáscara de naranja

Tanto el aceite esencial de limón como de naranja contienen más del 90% de d-limoneno y en menor proporción una gran cantidad de terpenos (Rueda et. al., 2007). En cuanto a su composición se encuentra entre 97.7- 98.33% de Monoterpenos hidrocarbonados (teniendo como componente principal al limoneno $C_{10}H_{16}$ con un 94.64 a 95.20%; 1.64- 1.85% de β -Mirceno y un valor entre 0.43-0.46% de α -Pineno), además se tiene 0.67- 0.99% de Monoterpenos oxigenados $C_{10}H_{14}O_2$ (resaltando: 0.41- 0.88% de Linalool; 0.06-0.09% de α - Terpineol), también se evidencia presencia de Sesquiterpenos entre 0.11- 0.19%, Sesquiterpenos oxigenados (0-0.08%) y otros componentes oxigenados en un porcentaje menor de 0.23- 0.43% (Córdova et. al., 2020)

Según Neng-guo et. al., (2009), mediante el método de difusión en disco y método determinación de concentración mínima inhibitoria (CIM) demostraron que el aceite esencial tenía actividades antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus*, *Penicillium chrysogenum*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Saccharomyces*

cerevisiae, con áreas de inhibición que oscilan entre 14.57 mm. a 23.37 mm y la CIM oscila entre $4.66 \mu\text{LmL}^{-1}$ y $18.75 \mu\text{LmL}^{-1}$.

III. METODOLOGIA

3.1.1. Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se ejecutó en los siguientes laboratorios de la Universidad Nacional del Santa

- Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial IITA
- Laboratorio de Microbiología y Toxicología de Alimentos
- Laboratorio de Análisis y Composición de Productos Agroindustriales

3.1.2. Materia prima y equipos

3.1.2.1. Materia prima

- Almidón de maíz

Para la extracción del almidón se adquirió 10 kg de maíz blanco (*Zea mays*) del mercado mayorista “La Perla”, ubicado en la ciudad de Chimbote.

- Colágeno hidrolizado

Se compró 1 kg de colágeno hidrolizado Suizo extraído por el método enzimático, procedente de pieles bovinas de la marca “Vitagel”

- Aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*)

Para la obtención del aceite esencial se adquirió 36 kg de cáscara de naranja fresca Valencia procedente del puesto “Jugueria Sol” del centro de la ciudad de Chimbote.

3.1.2.2.Insumos

- Glicerina 99.5%
Se adquirió 1 kg de glicerina vegetal al 99.5%
- Agua
-Se adquirió 1 litro de agua destilada

3.1.3. Equipos, Materiales y Reactivos

✓ Equipos

Para el siguiente proyecto se emplearán los siguientes Equipos.

- Autoclave De Lama. Modelo AVS/EV. Serie 150102170. Italia
- Agitador magnético con calefacción IKA. Modelo C-MAG HS7. Serie 12321. Alemania.
- Agitador magnético sin calefacción DLAB. Modelo ECOSTIR. Serie 023321. China.
- Balanza Analítica Denver. Modelo AA-200. Serie 6022063. China.
- Campana de flujo laminar JSR. Modelo JSCB-1200SB. Serie 080130-1. Korea
- Molino Ultracentrifugo Retsch. Modelo ZM 200. Serie 0026736. Alemania.
- Destilador de agua Fistreem. Modelo A74410. Serie FI-F08080. U.K.
- Refrigeradora SAMSUNG. Modelo RT46K6631BS. Serie 021344. China.
- Estufa Pol-Eko. Modelo SLW 115TOP. Serie SW1TF121017. Alemania
- Equipo de extracción de arrastre a vapor Reagent. Modelo EXV-10L, Serie EXV-45678. Alemania.

- Balanza industrial de kg Valtox. Modelo BI-150.Serie BI-324410.Peru.
- Mufla Protherm: Modelo FE-360U.Serie 22050159.Turquia
- Equipo Dumas LECO. Modelo CHN 6283C. Serie 10705. Peru.
- Equipo Soxhlet FOSS. Modelo Basic Unit 2043.Serie 204300089. China.
- Espectrofómetro Jasco. Modelo V-670. Serie AO19961154.Japon.
- Vortex Kyntel. Modelo M10101002. Serie 010090.China.
- Texturómetro Brookfield: Modelo CTX-2000. Serie 10210021. Peru
- Cromatógrafo de Gases – GC 2010-12-13: Modelo GC-2010, Serie GC1234-5678.
- Baño María de temperatura constante IKA. Modelo HB 10.Serie 32451200.Alemania.
- Cocina eléctrica RAF. Modelo R-8010B. Serie FT230520068454. China.
- Brixometro BS.Modelo OPti. Serie RFM IP65. U.K.
- Phmetro HANNA. Modelo H12211. Serie 92011234.China
- Stomacher Retsch. Modelo PB 100. Serie A29T001386.Alemania
- Incubadora Memmert. Modelo IF30 Plus. Serie 6222572. Alemania.
- Shaker FOSS.Modelo WB-1024.Serie 91761482.Suiza
- Micrómetro digital Dasqua.Modelo KJ51503. Serie 3000168101.Italia
- Balanza gramera PRECISA. Modelo 12VDC6W.Serie 0021322. China.
- Tamizador de acero inoxidable Cormac. Modelo AS 500 Basic. Serie 223450. Peru
- Determinador de Fibra FOSS. Modelo Fibertec TM 1023.Serie 91760484. China.

- Picnómetro ISOLAB. Modelo S.023.02.005. Serie 38. Alemania
- Shaker EUROTECH. Modelo FS-70B. Serie 2024-07.U.K.
- Centrifuga Sigma. Modelo 4-16 KS. Serie 156050. Alemania

✓ **Materiales**

- Probeta
- Molino Corona
- Beakers
- Placas Petri Pirex
- Pipetas graduadas de 1,5 y 5 ml.
- Pipeta Pasteur
- Pera de decantación
- Viales con tapas 2 ml.
- Vasos precipitados
- Envases ámbar
- Copas de permeabilidad Elcometer
- Silica gel
- Agua destilada
- Cepa de E.Coli. O157:H7
- Bolsas esteriles
- Placas Petri
- Crisol de porcelana
- Termómetro

- Papel filtro
- Baldes de plástico
- Coladores
- Micropipeta Bitlab
- Isopos estériles
- Tubos de ensayo

✓ **Reactivos**

- Benzina de petróleo al 95%
- Hidróxido de sodio 1M
- Éter de petroleo al 99% grado cromatográfico
- Gas carrier Helio, Hidrogeno y Aire.
- Proporción 3:22, v/v de ácido acético y cloroformo.
- Almidón 1%
- Etanol al 99%
- Acetona al 99%
- Ácido acético 1M
- Fenolftaleína
- Peptona Milipore
- Solución de yodo 1M
- Solución de Proteasa
- Solución de Amiloglucosidasa
- Solución de α – *amiloglucosidasa*

- Celite 545. Marca Supalco
- Cepa E.Coli O157:H7
- Etanol al 70%
- Agar Triptona Soya

3.1.4. Metodología

3.1.4.1 Obtención del almidón de maíz

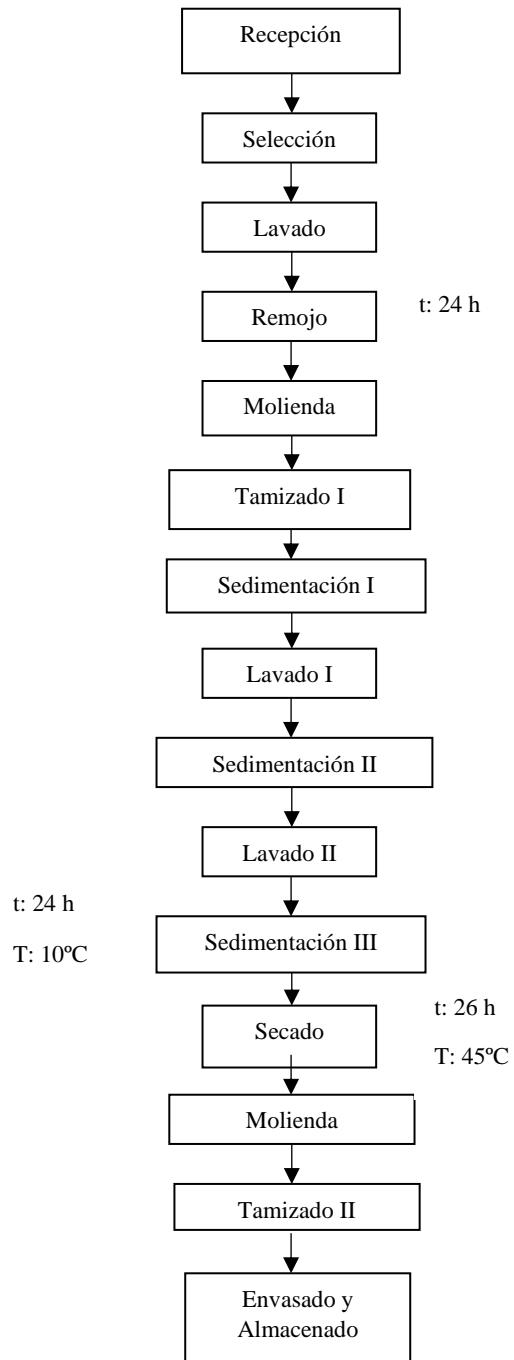


Figura 6. Obtención del almidón de maíz

- a) Recepción: Se recibió y pesó 10 kg del maíz amiláceo blanco.
- b) Selección: Se eliminó la presencia de granos de maíz en mal estado, se escogió el maíz para que no se mezcle con presencia de piedras o tierra.
- c) Remojo: Se le agrego 2 L de agua a los granos de maíz y se dejó en remojo por 24 horas a temperatura ambiente.
- d) Molienda Gruesa: Se eliminó el agua de remojo, y se procedió a llevarlo a un molino manual para moler los granos del maíz.
- e) Tamizado I: Se tamizó con ayuda de un colador, agregando agua para poder facilitar su sedimentación.
- f) Sedimentación I: Se dejó reposando por 12 horas la solución a temperatura ambiente y luego se eliminó espuma e impurezas.
- g) Lavado I: Se procedió a lavar el almidón, cambiándole el agua y dejándolo sedimentar
- h) Sedimentación II: Se dejó reposando por un lapso de 24 horas en refrigeración.
- i) Lavado II: Se volvió a cambiar el agua donde sedimentará el almidón para lavarlo y mejorar su calidad eliminando impurezas.
- j) Sedimentación III: Se dejó sedimentar por 24 horas y se llevó el almidón a refrigeración por 24 horas para que se compacte.

- k) Secado: Se realizó el secado en un secador de aire convectivo por 30 horas a 35°C.
- l) Molienda: Se procedió a moler el almidón en un mortero para que se cohesione.
- m) Tamizado II: Se utilizó un tamiz de luz de malla 100 para obtener un almidón uniforme.
- n) Empacado: Se procedió a empacar en bolsas de vacío
- o) Almacenamiento: Se almacenó en la campana desecadora.

3.1.4.2. Obtención de aceite esencial

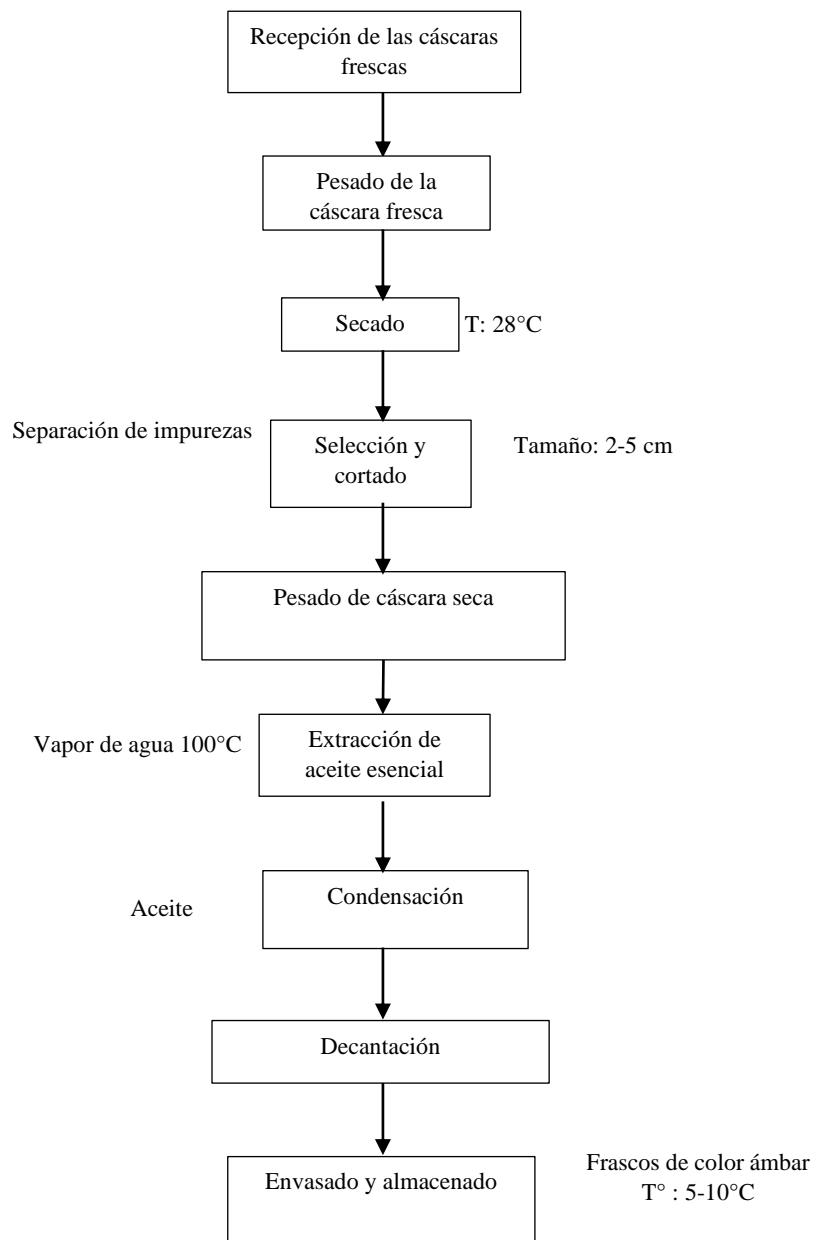


Figura 7. Obtención del almidón de maíz

- a) Recepción de la materia prima: Las cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) de las variedades Valencia se obtuvo de la juguería “El sol” del centro de Chimbote de la provincia del Santa del departamento

de Ancash. Estas tuvieron similares características y estado de maduración adecuada.

b) Pesado de la cáscara fresca

Se pesó en una balanza de kilo con el fin de determinar el rendimiento con respecto a las cáscaras secas.

c) Selección: Se seleccionó aquellas partículas o cáscaras dañadas.

d) Secado: Con el fin de adhesión de microorganismos en la cáscara de naranja fresca y a su vez facilitar la extracción del aceite esencial se secó bajo el sol a una temperatura entre 26 a 28°C tendido sobre una superficie compacta.

e) Pesado de cáscara seca: Se pesó la cáscara seca en una balanza de kilo en el laboratorio, para determinar el rendimiento de la cáscara utilizada para la obtención del aceite esencial.

f) Extracción de aceite esencial: Se realizó por el método de arrastre de vapor, donde el vapor saturado o sobre calentado en contacto con los flavedo extrajo el aceite esencial, llegando así a obtener una mezcla de vapor de agua-aceite que posteriormente se condujo a la etapa de condensación.

g) Condensación: A causa de un sistema de enfriamiento donde participa el agua, a temperatura ambiente los vapores se enfriaron y pasaron al estado líquido, donde se obtuvo una mezcla de agua y aceite.

- h) Decantación: Despues de la condensación, la mezcla de agua y aceite se separaron usando una pera de decantación, debido a la diferencia de densidades. Al final se procedió a medir usando una probeta para determinar el rendimiento.
- i) Envasado: Una vez obtenido se procedió a verterlo en frascos de color ámbar cubierto de aluminio donde serán almacenados en un lugar sin luz a 5-10°C para evitar su degradación y en consecuente se realizó los análisis necesarios.

3.1.4.3. Obtención del bioplástico

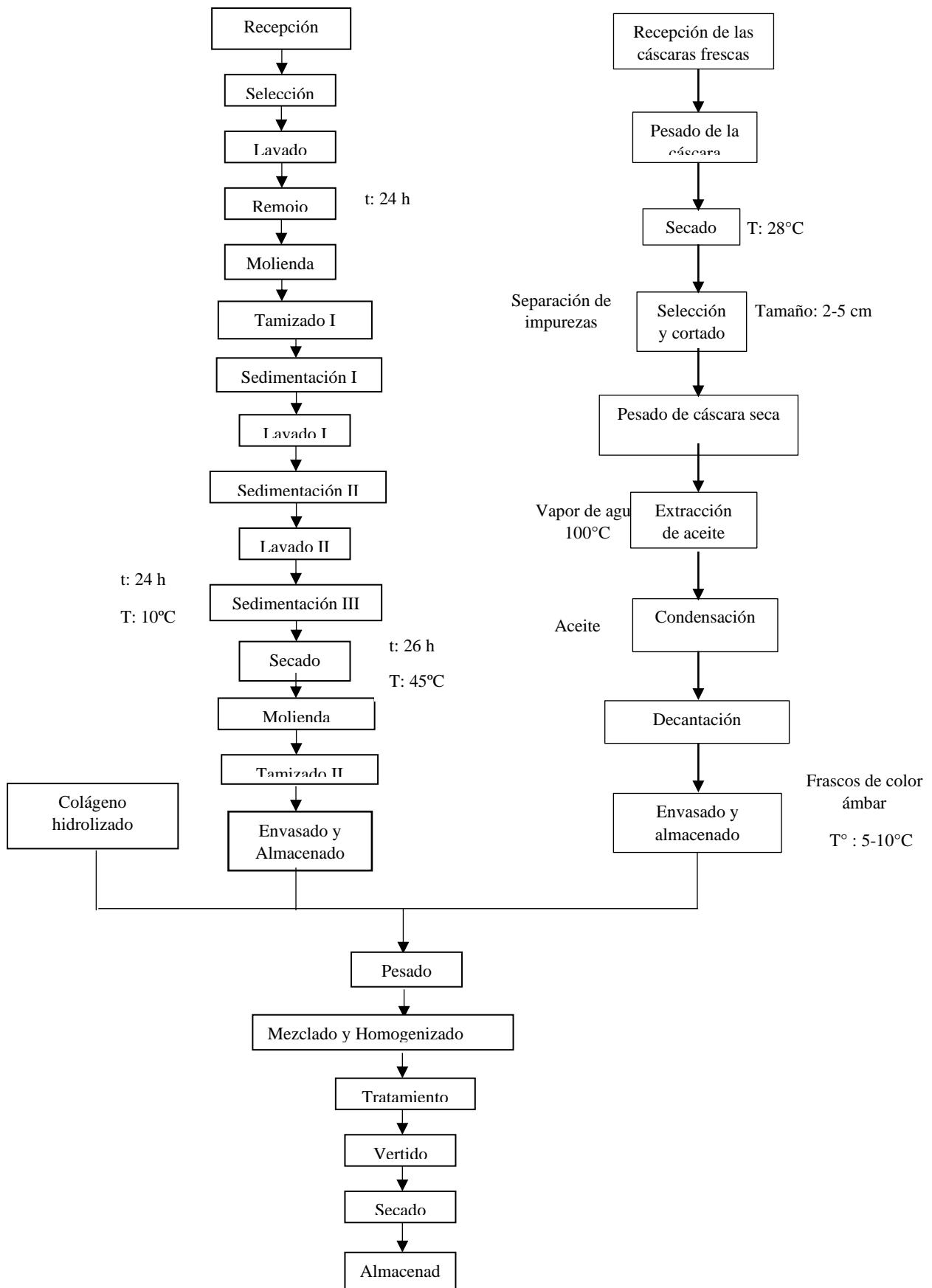


Figura 8. Elaboración de bioplástico

La metodología aplicada se basó en Monetta et al., (2019) con modificaciones.

- a) Pesado: La materia prima como el almidón de maíz, colágeno y aceite esencial de cáscara de naranja junto con otros insumos se pesó en la balanza analítica según la formulación.
- b) Mezclado y Homogenizado: Se mezcló en un vaso de precipitado almidón de maíz, colágeno y agua, lo cual homogenizó con un agitador magnético por 5 minutos.
- c) Tratamiento térmico: Se llevo a baño María, donde se tuvo una agitación constante hasta llegar a los 80°C, luego se volvió a agitar por 5 minutos y se agregó la glicerina. Se dejo enfriar y al llegar a los 50°C se agregó el aceite esencial y se agitó por 5 minutos.
- d) Vertido: Para cada tratamiento se rotuló unos moldes de 30x50 cm, se vertió la mezcla en las placas de acrílico y se homogenizó moviéndolo suavemente hasta cubrirla por completo.
- e) Secado: Luego de colocarlas en placas Petri se secó en una estufa a 38°C por 24 horas, considerando una humedad relativa del 50%.
- f) Almacenado: Se retiró el bioplástico de las placas Petri y se guarda en las campanas de desecación.

3.1.5. Métodos de análisis

3.1.5.1. Caracterización fisicoquímica y funcional del almidón de maíz

- Humedad**

La humedad se realizo según el método estándar 950.46 A.O.A.C. (2005).

- Cenizas**

Se empleo el método estándar 942.05 A.O.A.C. (2005).

- Fibra**

Para el análisis de fibra se empleo el método enzimático-gravimétrico estándar 985.29 A.O.A.C. (1995), adaptado de (Proskey et al., 1988).

- Proteínas**

Se utilizo el método estándar Dumas 984.13 A.O.A.C. (2002).

- Grasas**

Se aplico el método AOAC 920.039.

- Carbohidratos**

Los carbohidratos se determinó restando lo hallado en los análisis previos.

$$\% \text{Carbohidratos} = 100 - (\% \text{Humedad} + \% \text{Proteínas} + \% \text{Grasa} + \% \text{Cenizas} + \% \text{Fibra})$$

- Poder de Hinchamiento del almidón**

Se pesó 1.25 g de almidón de batata y se colocaron en tubos de centrífuga previamente secos, añadiendo 30 mL de agua destilada precalentada a 60 °C. La mezcla fue agitada y luego mantenida en baño maría a 60 °C durante 30 minutos, iniciando la agitación de la suspensión a los 10 minutos de calentamiento. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 4900 rpm por 30 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante obtenido se separó y se midió su volumen en una probeta graduada. De este, se tomaron 10 mL, los cuales se colocaron en un vaso de precipitado y se secaron en un horno a 70°C. Finalmente, se registró el peso del tubo de centrífuga con el gel y el del vaso de precipitado con los insolubles empleando una balanza analítica (Murillo et al., 2021).

$$PH = \frac{\text{Peso del gel (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)} - \text{Pesos solubles (g)}}$$

- **Contenido de amilosa y amilopectina**

Este se determinó usando el método de Williams et al. (1958).

Se pesaron 0.10 g de la muestra en un matraz volumétrico de 100 cm³ y se añadieron cuidadosamente 1 cm³ de etanol al 99 % y 9 cm³ de solución de hidróxido de sodio 1 M. Los contenidos se mezclaron completamente y la solución de muestra se calentó durante 10 minutos en baño maría hirviendo para gelatinizar el almidón. Después de enfriar, el volumen se completó con agua destilada y se agitó vigorosamente. De esta solución, 5 cm³ se colocaron en un

matraz volumétrico de 100 cm³. La (5 cm³) se añadió con 1.0 cm³ de ácido acético 1 M y 2.0 cm³ de solución de yodo (0.2 g de yodo y 2.0 g de yoduro de potasio en 100 cm³ de agua destilada) y se llevó la absorbancia a 100 cm³ con agua destilada. La absorbancia se midió mediante espectrofotómetro a 620 nm. La absorbancia de la solución blanco preparada con el mismo reactivo se restó de la de la muestra y los contenidos de amilosa y amilopectina se calcularon utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Contenido de amilosa (\%)} = 3.06 \times \text{absorbancia} \times 20$$

$$\text{Amilopectina (\%)} = 100 - (\% \text{ contenido de amilosa})$$

3.1.5.2. Caracterización del aceite esencial de cáscara de naranja

- Determinación de la densidad relativa del aceite esencial**

La densidad relativa del aceite esencial de cáscara de naranja se realizó conforme a la NTP 319.075: 1974 (Anexo 9).

- Determinación del índice de refracción**

La determinación del índice de refracción se realizó de acuerdo a la NTP ISO 280. (2011) a 20°C. Para lo cual se utilizará un refractómetro digital. (Anexo 10)

- Determinación de la acidez**

La determinación de la acidez del aceite esencial se realizó conforme al método ISO 660: 1996. (Anexo 11)

- **Determinación del rendimiento del aceite esencial obtenido**

El rendimiento del aceite esencial de cáscara de naranja se presentó en % cuyo cálculo será la masa de aceite esencial obtenido sobre la masa de la materia prima. (Anexo 12)

- **Determinación del perfil cromatográfico del aceite esencial**

El compuesto a identificar se realizó mediante la técnica de Cromatografía de Gases mediante el método ISO 7609:1985. (Anexo 13)

3.1.5.3. Caracterización del bioplástico

- **Espesor**

La espesura se determinó utilizando un micrómetro manual marca Startter en cinco puntos aleatorios, donde el espesor se determinará por el promedio de las cinco lecturas tomadas descrita por (Cao et al., 2007)

- **Solubilidad del agua**

Se determinó según el método de Gontard et al. (1992) adaptado por Chariguamán (2015) los bioplásticos se cortarán con un diámetro de 2 cm y se pesarán, para luego ser sumergido en 50 ml de agua destilada. Se agita lentamente por 24 horas, a una T de 25 °C. Se procederá a retirar las muestras y se secará a 105°C en un lapso de

24 horas en un horno, para determinar el peso del material sin solubilizar. Cuya fórmula es:

$$\%Solubilidad = \left(1 - \left(\frac{P_i}{P_i - P_f} \right) \right) * 100$$

- **Opacidad**

Para determinar la opacidad se hizo uso de un espectrofotómetro, por lo que se cortará las muestras de bioplástico en láminas uniformes y planas, que tengan un grosor constante. Se procederá a colocar la lámina de bioplástico en la celda de muestra e insertará en el equipo, con los datos de la absorbancia y con el dato del espesor del equipo, se obtiene los resultados; donde el valor de opacidad más alto indica una menor transparencia (Alias et al., 2022).

$$Opacidad = \frac{A_{600}}{x}$$

A_{600} = Absorbancia a 600 nm

x = espesor

- **Propiedades Mecánicas**

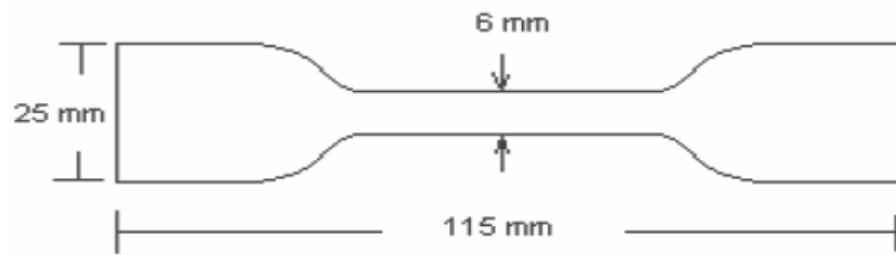
La prueba mecánica de tracción de las películas se realizó en un texturómetro TA. XT Plus (TA Instruments), utilizando el software del equipo “Texture Expert”, versión 1.22. Los análisis se realizaron por triplicado. La tensión y la elongación a la rotura en el ensayo de

tracción se determinaron según la norma ASTM D882-09 (ASTM, 2002).

Las películas fueron cortadas según se muestra en la Figura 2.3 y sometidas a tracción con una velocidad de 1,0 mm/s, comenzando desde una separación inicial de 80 mm hasta la rotura de la película. La tensión a la rotura y la elongación a la rotura se obtuvieron directamente de la curva de tensión en función de la elongación, conociendo las dimensiones iniciales de los cuerpos de prueba.

Figura 9

Esquema del cuerpo de prueba para el ensayo de tracción



- **Biodegradabilidad**

Se determinó según la NTP 900.080:2015 usando tierra de compost por lo que se colocará trozos de bioplásticos de 2.00 x 2.00 cm, en vasos con tierra húmeda y se revisó cada 7 días hasta completar un mes.

$$\% \text{Perdida de peso} = \frac{P_i \text{ seco de la lámina} - P_f \text{ seco de la lámina}}{P_i \text{ seco de la lámina}} \times 100$$

- **Permeabilidad del vapor de agua**

Se determinó gravimétricamente a 25°C, según el método E-9680 por la norma ASTM(American Society for Testing and Materials) modificado por Vicentini (2003) donde se cortará el bioplástico considerando un diámetro de 3 cm, lo que se introducirá en vasos utilizando agua destilada, los cuales se llevarán a 25°C en un desecador. Cada 24 horas se determinará el peso del vaso por nueve días usando una balanza analítica. El flujo de permeabilidad de agua se calculó:

$$Fva = \frac{g}{tA}$$

Donde:

g: pérdida de peso t: tiempo total en horas A:Área de permeabilidad

De la cual se derivará la Permeabilidad del vapor de agua Pva

$$Pva = (Fva) * \left(\frac{X}{\Delta P} \right)$$

Donde:

X: Media del espesor del bioplástico

ΔP : Diferencia de presión del vapor del medioambiente que contendrá el desecador (0 kPa, 25°C) y agua pura (3167 kPa a 25°C)

- **Análisis antimicrobiano**

El análisis antimicrobiano se aplicó al mejor tratamiento , donde la cepa a estudiar será E.Coli. O157:H7 .La medida de las películas

tendrá 1 cm de diámetro aproximadamente y se aplicará la técnica de caracterización in vitro , que consiste en evaluar la efectividad del bioplástico frente al microorganismo de estudio; donde su efectividad se determinara midiendo el halo de inhibición (Atlas, 1997).

3.1.5.4.Caracterización de la fresa conservada con el bioplástico

- Fisicoquímicos**

- ✓ Solidos solubles totales (°Brix)**

Se utilizo de acuerdo al método según AOAC 932.12 18th Edición (2005). Para lo cual se colocarán tres gotas de muestra en la zona medida del refractómetro, y consecutivamente se realizarán las lecturas correspondientes. Los resultados se expresarán en °Brix.

- ✓ Acidez titulable (%)**

Se utilizo de acuerdo al método AOAC 942.15 18th Edición (2005). Para lo cual se realizará a través de titulación potenciométrica.

- ✓ PH**

Se determino mediante por el método potenciométrico de acuerdo a la AOAC 981.12 (2005). Se determinará el pH por el método potenciométrico, a 25°C, mediante la inmersión del

electrodo en el jugo de muestra, no sin antes haber realizado la calibración con solución buffer de pH 4 y 7.

✓ **Peso (gr)**

La pérdida de peso de la fruta se determinó por gravimetría.

Realizando la siguiente fórmula

$$\text{Pérdida de Peso} = \text{Peso inicial} - \text{Peso final}$$

• **Microbiológicos**

Para la cuenta de bacterias aerobias se realizó por el método NOM-092-SSA1-1994. Mientras que para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico se realizó por el método NOM-110-SSA1-1994, para lo cual se colocó 1 g de muestra en una bolsa estéril de Stomacher y se diluyó con 9 ml de una solución estéril de agua peptonada al 1% con NaCl al .5% y se homogenizó en un equipo Stomacher durante dos minutos para obtener la primera dilución (1:10 p/v); a partir de ella se realizaron diluciones seriadas con el agua peptonada estéril. Se llevó a cabo una siembra a partir de 1 ml de las diluciones seriadas en placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro, posteriormente se añadirán 15 ml de medio a una temperatura de $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Se mezcló cuidadosamente con el inóculo según recomendaciones de la NOM-092-SSA1-1994 y se dejaron solidificar, colocando las placas sobre una superficie sin

inclinaciones. Las placas se introdujeron de manera invertida a incubación a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 ± 2 h (Tapia, 2023).

3.1.6. Diseño de la investigación

Mediante el diseño experimental se busca dar respuesta a una o más variables dependientes tras el estudio del efecto de múltiples factores. En la obtención del bioplástico se aplicará un diseño factorial $2 \times 3 \times 2$ donde se trabajará con tres variables independientes las cuales son almidón de maíz (5-6%), colágeno hidrolizado (6.5-10%) y aceite esencial de naranja (0.5-1.5%). Se utilizó el software estadístico Statgraphics Centurión, donde se determinó 12 tratamientos experimentales considerando 3 réplicas, con 36 unidades aleatorias, a través de ello se busca como influye nuestras variables independientes en la evaluación del bioplástico para su aplicación en el envasado de fresas. Los factores a considerar en el diseño se muestran en *la tabla*.

Tabla 4

Rango de concentración de las tres variables independientes usadas en el

Factorial Multinivel

Factor	Variables independiente	Bajo	Alto	Niveles	Unidades
X1	Almidón de maiz	5	6	2	%p/p
X2	Colágeno hidrolizado	6.5	10	3	%p/p almidón
X3	Aceite esencial de naranja	0.5	1.5	2	%p/p

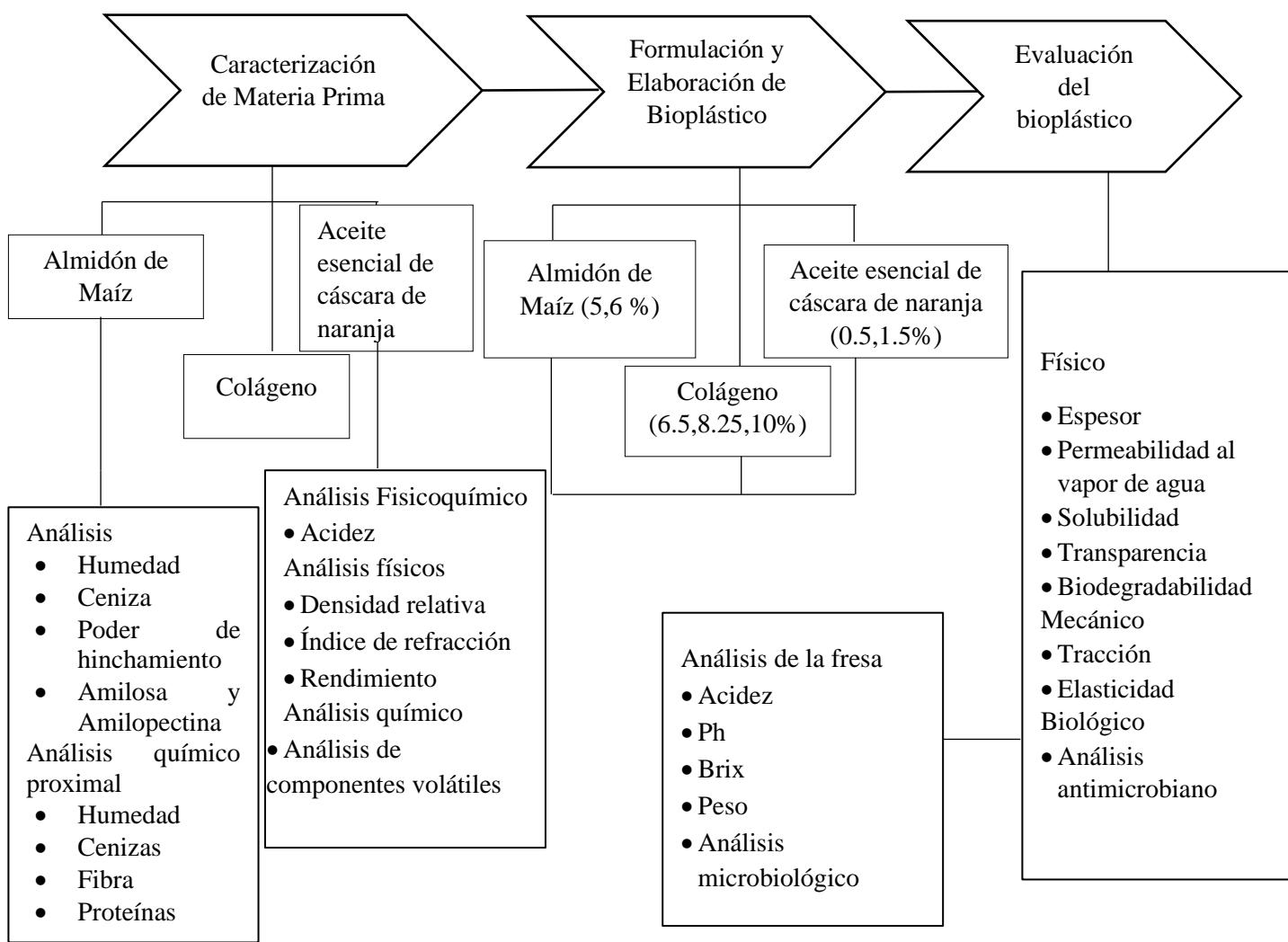
Se muestra la tabla con los 12 tratamientos sugeridos por el diseño Factorial Multinivel

Tabla 5

Matriz experimental para la formulación de bioplástico a base de almidón de maíz, colágeno de hidrolizado y aceite esencial de cascara de naranja.

Tratamientos	Almidón de maiz (%)	Colágeno hidrolizado (%)	Aceite esencial de naranja (%)
Control	5	0	0
1	6	8.25	1.5
2	6	10	1.5
3	6	6.5	1.5
4	6	8.25	0.5
5	6	8.25	1.5
6	5	6.5	1.5
7	5	6.5	0.5
8	5	8.25	0.5
9	6	10	0.5
10	5	10	1.5
11	6	6.5	0.5
12	6	10	0.5

Figura 10
Diseño experimental



3.1.7. Diseño estadístico

Según el diseño experimental realizado por medio del software Statgraphics Centurión se realizará la evaluación de las características mecánicas y físicas del bioplástico, pues las variables respuesta a evaluar son el Espesor (mm), Elasticidad (E), Permeabilidad al Vapor de Agua (%), Solubilidad (%), Transparencia (%), Tracción (MPa), Análisis microbiológico (ufc/ml) y Biodegradabilidad (%), donde los resultados serán evaluados por medio de un ANOVA de un solo factor utilizando un nivel de confianza del 95%.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1.1. Composición proximal de las materias primas

4.1.1.1. Almidón de maíz

En la siguiente tabla se muestra la composición proximal en base húmeda y en base seca del almidón de maíz.

Tabla 6

Composición proximal del almidón de maíz

Componentes	Húmeda (%)	Seca (%)
Humedad	8.35 \pm 0.17	9.23 \pm 0.34
Ceniza	0.08 \pm 0.009	0.09 \pm 0.011
Proteína	4.02 \pm 0.007	4.02 \pm 0.008
Grasa	0.8 \pm 0.05	1.3 \pm 0.06
Carbohidratos	86.50 \pm 0.02	85.30 \pm 0.02

Nota: Los valores se expresan como media \pm desviación estándar (n = 3)

En la tabla anterior se muestra que el almidón del maíz blanco de variedad amiláceo presenta una humedad del 8.45% en base húmeda y 9.23% en base seca, en cuanto a la ceniza se reporta en base húmeda un valor de 0.08% y 0.09 % en base seca. En cuanto a la proteína se determinó una cantidad de nitrógeno de 0.64385%, que con su factor de conversión de 6.25 se obtiene una cantidad de proteína de 4.02%. El contenido de agua cumple con los requisitos para el almidón de maíz, que es un máximo del 14 % (SNI 8523:2018). Además, según los requisitos del SNI, el contenido máximo de cenizas es del 0.15 %.

Se procedió a realizar el ANOVA, para realizar el análisis de varianza de los tratamientos, como se muestra en la tabla

Tabla 7

ANOVA de los tratamientos

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Humedad	5	3.80	0.07
Ceniza	5	2.87	0.23
Grasa	5	2.98	0.06
Proteínas	5	1.58	0.10
Carbohidratos	5	3.76	0.45

En la tabla 7 se tiene para los resultados del análisis proximal valores $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna; lo que indica que los resultados no son iguales.

Al comparar los valores obtenidos en este trabajo de investigación, notaremos que fueron muy similares a lo obtenido por Makanjuola & Makanjuola (2018), quienes reportaron; 8.20% de humedad, 1.64% y 3.31% de proteína y 1.56% de ceniza para el almidón de maíz blanco. También se tiene a Agustinisari et al. (2023), quienes en su trabajo de investigación obtuvieron rendimientos de almidón que variaron de 34.30 a 49.22%. Además mencionan que los almidones cumplieron con los requisitos de SNI (Estándar Nacional de Indonesia) tanto para el contenido

de agua (6.90-8.72%) como el contenido de proteínas que oscilaba entre el 1.69 y el 4.98 %.

Según Meaño et al., 2(020) ,señala que el contenido de humedad de los almidones varía entre 6-16%. Esto se asimila a lo reportado en el presente trabajo, de tal forma que se podría afirmar que al no ser superior a lo establecido no pueden conducir a daño microbiano y subsecuente deterioro de la calidad. Por otro lado, Huamani et al., (2020) indica que el rango permitido para la ceniza en el almidón se encuentra en un rango de 0.06-1.30%, cuyos valores depende según la fuente del almidón, donde el autor Ledesma et al., (2021) reporta valores de ceniza en 0.23% y una humedad de 12.74% en el almidón de maíz encontrándose dentro del rango establecido al igual que el almidón que hemos obtenido, es similar a lo que reporta el autor Maza et al., (2021) con una humedad de 9.88%, 8% de proteína y 0.5% de ceniza, variando porque este almidón fue obtenido de maíz variedad Chulpi.

En cuanto al contenido de carbohidratos se reportó un 85.30 % , debido a que el almidón se considera una fuente altamente concentrada de energía, ya que está compuesto principalmente por amilosa y amilopectina, dos polímeros de glucosa que representan la fracción digerible del producto. Este porcentaje se encuentra dentro del rango esperado para almidones alimentarios, que oscila entre 80 y 90% en base seca, lo cual refleja su buena pureza y calidad (Huamani, et al., 2020). Respecto a los lípidos presentes en el almidón se obtuvo un valor de 0.8% , lo que se asemeja a lo obtenido por

el autor Ramirez et al., (2023) quien reporto para el maíz un contenido de lípidos de 0.7% , 0.8% y 0.1% dependiendo de la variedad del cereal; indicando que en el caso de los tubérculos se suele tener un valor menor ; lo que se debe a la retención de fracciones del germen durante el proceso de extracción; ya que menciona que los lípidos que se encuentran en el granulo, son aquellos fosfolípidos y ácidos grasos libres que forman complejos amilosa-lípidos dentro de él.

Como parte de la evaluación funcional del almidón, se reporta la siguiente tabla para su poder de Hinchamiento.

Tabla 8

Poder de Hinchamiento del almidón

Materia Prima	Poder de Hinchamiento (%)
Almidón	8.50 \pm 0.008

Nota: Los valores se expresan como media \pm desviación estándar (n = 3)

La tabla 8 reporta el poder de hinchamiento del almidón de maíz con un valor de 8.50% a 60 °C; cuya influencia se relaciona con la temperatura a la que es sometida el almidón pues el autor Wang et al., (2024) indica que a 50 °C se reportó un valor de 2.70; mientras que a 70 °C se tuvo un valor de 10.74; debido que al aumentar la temperatura la estructura rígida del almidón se vuelve más laxa, permitiendo mayor absorción de agua y, por lo tanto, un incremento en el poder de hinchamiento, asimismo Bustillos et al., (2020) indica que este valor puede disminuir a medida que se tenga mayor presencia de lípidos en el almidón ya que pueden reducir el hinchamiento de los

gránulos individuales formando un complejo con amilosa. Otros autores como Gutiérrez et al., (2025) indican valores idénticos para el PH del almidón con valores de 8.5%; 8.1% y 8.6% obtenidos según los diversos genotipos del almidón de maíz; recalando que debido a su capacidad de absorción de agua es óptimo para utilizarlo en la industria.

Para los resultados del análisis de amilosa y amilopectina del almidón de maíz se reporta la siguiente tabla.

Tabla 9

Porcentaje de amilosa y amilopectina del almidón de maíz blanco

Componentes	Porcentaje
Amilosa	22.18 % \pm 0.053
Amilopectina	77.82 % \pm 0.053

Nota: Los valores se expresan como media \pm desviación estándar (n = 3)

En la tabla 9 se muestra que el almidón de maíz blanco extraído para el presente trabajo presentó 22.18 % \pm 0.053 y 77.82 % \pm 0.053 de amilosa y amilopectina respectivamente. Según Guo et al., (2020), indican que la proporción de amilosa a amilopectina en almidones varía según la subespecie de maíz, pero típicamente están entre 20-30% en almidones de cereales normales. Conocer el porcentaje de amilosa y amilopectina juega un papel crucial a la hora de elaborar películas biodegradables, ya que se ha demostrado que aquellos films con mayor porcentaje de amilosa suelen tener

una mejor resistencia mecánica, menor permeabilidad al vapor de agua y mejor barrera de agua (Figueroa-Lopez et al., 2024).

4.1.1.2. Caracterización del aceite esencial de cáscara de naranja

En la siguiente tabla se muestra los resultados fisicoquímicos del aceite esencial de cáscara de naranja:

Tabla 10

Análisis fisicoquímico del aceite esencial de cáscara de naranja

Análisis	Resultados
Rendimiento	1.0%
Índice de refracción	1.47099 ± 0.04
Densidad	0.85281 ± 0.0019
Acidez	$0.913 \pm 0.071 \text{ g/L}$

Nota: Los valores se expresan como media \pm desviación estándar (n = 3)

La tabla 10 muestra que el rendimiento del aceite esencial de cáscara de naranja es de 1% en base fresca, lo cual comparado con otros autores se obtuvo un menor rendimiento debido al secado de la cascara, pues como menciona Ruiz y Salazar (2021) al extraer aceite esencial por arrastre de vapor de la cáscara fresca, se tiene un mayor rendimiento debido a que conserva su contenido de agua, lo que facilita la penetración del vapor y la liberación del aceite de las glándulas oleíferas, manteniéndolas más intactas y accesibles. Además, Ambrosio et al., (2019) indica que el secado de la cáscara puede provocar la evaporación o degradación de compuestos volátiles del aceite esencial y compactar la matriz celular, dificultando su

extracción. Respecto al índice de refracción se reportó un valor de 1.47099, comparando con el autor Rueda et al., (2019) obtuvo un valor de 1.477 ; lo que indica que está dentro del rango; pues el autor Bombón (2021) menciona que un aceite que una medida fuera del rango indica que no cumple con la calidad requerida, puesto que la pureza del aceite es fundamental para determinar su calidad siendo un parámetro el índice de refracción, ya que diferentes componentes en la mezcla pueden tener índices de refracción diferentes, el autor Castañeda (2024) también menciona que hay que tener en cuenta que una ligera variación de la temperatura influye en los resultados del refractómetro ABBE por lo cual se recomienda tener en cuenta este parámetro para no generar errores al tomar los datos brindados por el equipo. En cuanto a la densidad se reportó un valor de 0.85281, que al comparar con otros autores, tales como Yáñez Rueda et al. (2019), que obtuvo 0.8450 g/ml; notaremos que está en entre el rango de los índices de calidad, ya que Acofarma (2019) menciona que 0.840 – 0.860 g/ml son los valores permitidos. Por otro lado, se tiene también a las normas ISO 3141 (2019) que establece valores de 0.842 a 0.850 como índices de calidad, al comparar con los datos obtenidos notaremos un ligero aumento, esto puede deberse al tiempo de almacenamiento.

En cuanto a la acidez total del aceite esencial de cáscara de naranja fue 0.9125 ± 0.071 g/L , lo que indica una baja cantidad de índice de ácidos libres. Este resultado difiere con Sado et al. (2022), quienes obtuvieron un

valor de 2.38 g/L de índice de acidez. Esto se debe a que el aceite obtenido en la presente tesis goza de una buena ya que un índice de acidez inferior a 2 sirve como indicador de la calidad del aceite, mostrándose que este goza de una buena conservación de la esencia y una baja presencia de presencia de ácidos libres (Afrokh et al, 2024)

En la **tabla 10** se muestra la concentración de los principales componentes del aceite esencial de cáscara de naranja obtenidos por cromatografía de gases.

Tabla 11

Componentes del aceite esencial de cáscara de naranja

Componente	Concentración %
Limonene	95.292
Linalool	1.691
Alpha pinene	1.541
Citral geranal	0.204
Beta pinene	0.158
Citral neral	0.137
Cineole	0.079

En la tabla 11 se muestra el porcentaje de los principales componentes del aceite esencial extraído por el método de arrastre de vapor. Se tiene el limoneno como mayor componente del aceite esencial de naranja con un

95.292 %, seguido del linalool (1.691%), alpha pinene (1.541 %), citral geranal (0.204 %), beta pinene (0.158 %), citral neral (0.137 %) y cineole (0.079%).

En cuanto al limoneno, el resultado obtenido coincide con de Araújo et al. (2020) quienes obtuvieron un resultado de 96.02%. Según Gupta et al., (2021), estudios han demostrado que el limoneno no solo es eficaz para inhibir microorganismos patógenos, sino también para resguardar distintos productos alimenticios frente a contaminantes potenciales. Otros estudios también indican que, en su conjunto, componentes como el timol, el citral, el eugenol, el pineno y el linalol, también evidenciaron una marcada capacidad de inhibición frente a los microorganismos al comprometer la integridad de la célula bacteriana (Mahizan et al., 2019).

En películas biodegradables la adición del limoneno al 5% p/p ha demostrado mejorar la permeabilidad, propiedades mecánicas y mejorar su actividad antimicrobiana contra cepas como *E. coli* y *S. aureus* lo que a su vez prolongó el tiempo de vida útil de la fruta a temperatura ambiente (Lan et al., 2020). Esto es debido a que el limoneno afecta la membrana celular de bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, generando la pérdida de componentes intracelulares lo que provoca la muerte celular. (Gupta et al., 2021). La hidrofobicidad de los aceites esenciales es la causante de la fuerte interacción con los componentes lipídicos de la cepa lo que provoca el rompimiento de la misma (Ngan et al., 2020)

4.1.2. Obtención del bioplástico

En la siguiente tabla se muestra los tratamientos formulados con almidón (5-6%) , colágeno (6.5%-10%) y aceite esencial (0.5-1.5%).

Tabla 12

Obtención del bioplástico

Tratamiento	Aceite	Almidón	Colágeno hidrolizado	Condición
Control	0.0%	5.0%	0.0%	Se formó completamente
T1	1.5%	5.0%	8.25%	Se formó completamente
T2	1.5%	6.0%	10.00%	Se formó completamente
T3	1.5%	6.0%	6.50%	Se formó completamente
T4	0.5%	6.0%	8.25%	No formó (Se agrietó)
T5	1.5%	6.0%	8.25%	No formó (Se agrietó)
T6	1.5%	5.0%	6.50%	Se formó completamente
T7	0.5%	5.0%	6.50%	Se formó completamente
T8	0.5%	5.0%	8.25%	Se formó completamente
T9	0.5%	6.0 %	10.00%	Se formó completamente
T10	1.5%	5.0%	10.00%	Se formó completamente
T11	0.5%	6.0%	6.50%	No formó (Se agrietó)
T12	0.5%	5.0%	10.00%	No formó (Se agrietó)

En la tabla 12 se muestran los tratamientos obtenidos a partir de las mezclas de almidón (5-6%) , colágeno (6.5%-10%) y aceite esencial (0.5-1.5%), donde de los 12 tratamientos formulados se obtuvieron 9 de los cuales, siendo el Tratamiento 4 y el Tratamiento 5, dos de los cuales se agrietaron debido al elevado contenido de

almidón y menor cantidades en cuanto al contenido de colágeno , ya que este le otorga una apariencia de bioplástico factible, debido a que posee una estructura fibrosa que brinda resistencia y rigidez, pero también posee flexibilidad (Shapi'i et al., 2020). Asimismo, como indica Mangaraj et al., (2019) el colágeno actúa como conector proteico de la matriz polimérica, por lo que menores porcentajes disminuye su capacidad de flexibilidad y cohesión en la película, haciendo que esta más propensa a agrietarse; mientras que el autor Khan et a., (2023) indica que su presencia hace que sea menos resistente a la difusión de agua y a la tensión mecánica, siendo quebradizo al secarse. En el caso de la película control que solo es conformada por almidón, se pudo obtener ya que es una sola fase homogénea constituida por este polisacárido, formando una red continua luego de su gelatinización a pesar de ser quebradiza (Molavi et al., 2020). Otros autores como Rai et al., (2021) mencionan que al añadir otros componentes interrumpe las cadenas del almidón; como en el caso del aceite que al tener carácter hidrofóbico y no disolverse adecuadamente en la película no se mezcla con el almidón en mayor porcentaje; provocando así que haya micelas dispersas en la película y se genere zonas débiles en ella, provocando que se agrieten (Wang et al., 2021).

Asimismo, Lopez et al., (2019) menciona que la obtención de las películas también se ve influidas por otros factores como el secado, ya que al no vertirse adecuadamente en los moldes se forman zonas con diferente grosor en la película ocasionando una tensión interna en la película, por lo que se forma la aparición de microfracturas y grietas.

4.1.3. Bioplástico

4.1.3.1. Espesor

En la siguiente tabla se muestra el espesor obtenido de las láminas del biopolímero elaborado en base a los tratamientos realizados.

Tabla 13

Promedio del espesor de los tratamientos

Tratamientos	Espesor (mm)
Control	0.15 ± 0.02
T1	0.126 ± 0.02
T2	0.152 ± 0.02
T3	0.144 ± 0.02
T6	0.152 ± 0.03
T7	0.130 ± 0.02
T8	0.136 ± 0.01
T9	0.144 ± 0.01
T10	0.146 ± 0.04

Nota: Los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3)

En la tabla 13 se muestra el espesor promedio obtenido, cuya medición se realizó en 5 puntos de la lámina; siendo el T2 (6% Almidón, 10% colágeno y 1.5% aceite esencial) el cual presenta mayor espesor, a diferencia del T1 (5% almidón, 8.25% colágeno y 1.5% aceite) el que presento un menor espesor; lo que está relacionado al preparado de la mezcla y al vertido en la placa para su posterior secado.

Procediendo al análisis estadístico, se evaluó la normalidad de los datos recolectados en cada uno de los tratamientos mostrado en la siguiente tabla.

Tabla 14

Prueba de normalidad

Shapiro-Wilk			
Espesor	Estadístico	Gl	Sig = p
	0.935	45	0.014

En la tabla 14 se muestra el análisis de normalidad realizado obteniendo un valor $p = 0.014 < 0.05$, que es el intervalo de confianza; por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alterna; lo que indica que los datos no poseen una distribución normal.

En cuanto al supuesto de la homogeneidad de varianzas se tiene los siguientes resultados

Tabla 15

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico	Sig = p
Espesor	1.00	0.001

De acuerdo a la tabla 15 se muestra un valor de $p=0.001 < 0.05$ en el espesor, por lo que se acepta la hipótesis alterna, lo que indica que

los datos no presentan homogeneidad de varianzas, procediendo a aplicar Kruskal-Wallis.

Ante ello, se aplicó Kruskal-Wallis para pruebas no paramétricas obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 16

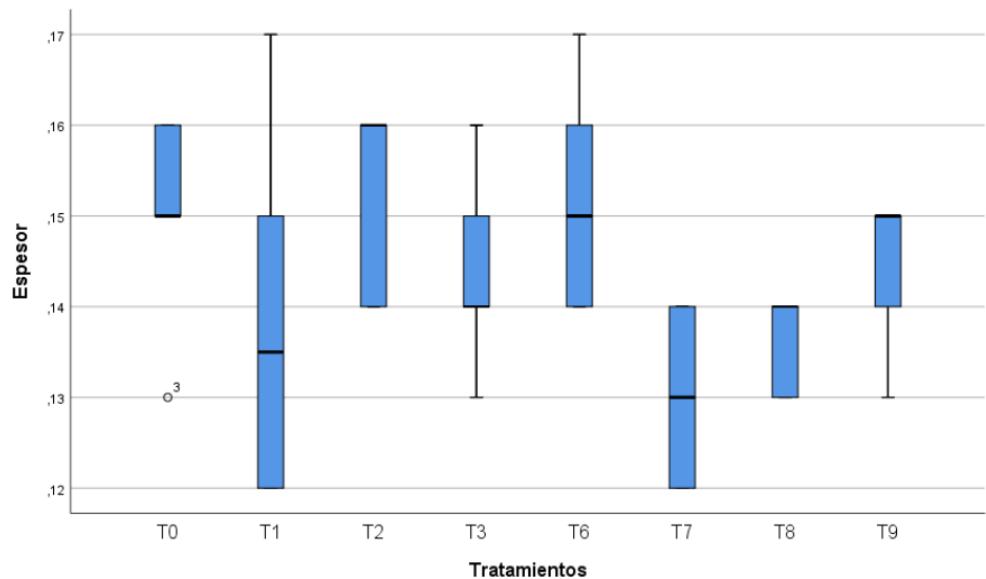
Prueba de Kruskal-Wallis

Hipótesis nula	Sig = p	Decisión
La distribución de Espesor es la misma entre la categoría de tratamientos	0.049	Rechazar la hipótesis nula

Al obtener un valor $p = 0.049 < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna; lo que indica que los tratamientos no son iguales; es decir al menos uno de ellos es diferente; mostrando la siguiente figura.

Figura 11

Espesor Vs Tratamientos



En la figura 11 se muestra que existe diferencias significativas en cuanto al espesor de los tratamientos, siendo el T0 (Control), T2 y T6 los que obtuvieron un mayor valor con 0.15 mm en cuanto al espesor, siendo el T1 y T7 los menores valores de espesor con 0.13 mm; lo que es influído por factores como la glicerina al aportar sólidos totales al ser un plastificante (Thompson , 1982); este valor es menor a lo obtenido por Ibarguen et al., (2020) , ya que se obtuvo de 0.4 a 0.8% mm debido al mayor porcentaje de plastificante añadido, donde el almidón aporta propiedades de textura, que en conjunto con la glicerina con la posterior homogenización de las muestras, se tiene una mayor dilatación de ellas. Por otro lado, los resultados en base a los tratamientos muestran que a mayor concentración del colágeno

aumenta el espesor debido a que al ser un polímero, mejora la flexibilidad y a la vez refuerza la estructura, provocando que las capas se adhieran más y generen mayor espesor (Ninmi, 2019). Otros autores como do Evangelho et al., (2020) indican que la presencia del aceite esencial genera películas de menor densidad aparente, lo que se debe al proceso de emulsificación durante la mezcla; lo que ocasiona la formación de espacios vacíos dentro de la matriz del bioplástico, contribuyendo a un incremento en el espesor de la película.

4.1.3.2.Solubilidad

Como parte de la evaluación de las propiedades ópticas en la siguiente tabla se muestra la opacidad obtenida de las láminas del biopolímero elaborado en base a los tratamientos realizados.

Tabla 17

Promedios de la solubilidad de los tratamientos

Tratamientos	Solubilidad (%)
Control	56.77 ± 0.03
T1	51.11 ± 0.06
T2	56.01 ± 0.09
T3	52.36 ± 0.04
T6	56.06 ± 0.05
T7	48.88 ± 0.02
T8	48.18 ± 0.07
T9	52.96 ± 0.09
T10	50.16 ± 0.04

Nota: Los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3)

La tabla 17 indica que el Tratamiento control (5% almidón) , posee un mayor porcentaje de solubilidad con un valor de 56.77%,seguido por el T6 (5% almidon, 6.5% colageno, 1.5% aceite esencial) ; asimismo el T8(5% almidon, 8.5% colageno y 0.5% aceite esencial) presento una menor solubilidad con un 49.8%.

Procediendo al análisis estadístico, se evaluó la normalidad de los datos recolectados en cada uno de los tratamientos mostrado en la siguiente tabla.

Tabla 18

Prueba de normalidad

Shapiro-Wilk			
Solubilidad	Estadístico	Gl	Sig = p
	0.918	27	0.036

En la tabla 18 se muestra el análisis de normalidad realizado obteniendo un valor $p = 0.036 < 0.05$, que es el intervalo de confianza; por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alterna; lo que indica que los datos no poseen una distribución normal.

En cuanto al supuesto de la homogeneidad de varianzas se tiene los siguientes resultados

Tabla 19

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico	Sig = p
Solubilidad	0.967	0.023

De acuerdo a la tabla 19 se muestra un valor de $p=0.023 < 0.05$ en los resultados de la solubilidad, por lo que se acepta la hipótesis alterna, lo que indica que los datos no presentan homogeneidad de varianzas, procediendo a aplicar Kruskal-Wallis.

Ante ello, se aplicó Kruskal-Wallis para pruebas no paramétricas obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 20

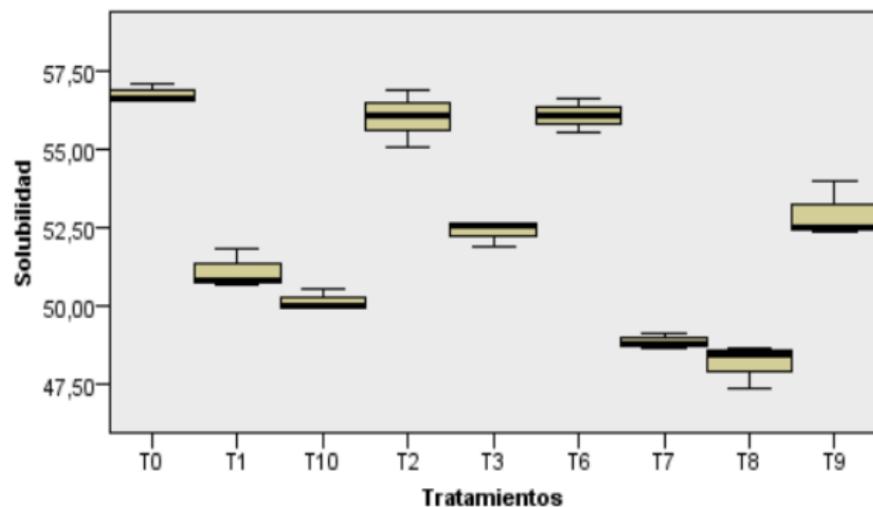
Prueba de Kruskal-Wallis

Hipótesis nula	Sig = p	Decisión
La distribución de Solubilidad es la misma entre la categoría de tratamientos	0.002	Rechazar la hipótesis nula
La tabla 20 muestra un valor $p = 0.002 < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna; lo que indica que los tratamientos no son iguales; es decir al menos uno de ellos es diferente; mostrando la siguiente figura.		

Figura 12

Solubilidad VS Tratamientos

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes



En la figura 12 se muestra que existe diferencias significativas en cuanto a la solubilidad de los tratamientos, siendo el T0 (Control), el que obtuvo un mayor porcentaje de solubilidad y a medida que se disminuyó el colágeno hidrolizado y agregó aceite la solubilidad disminuía, siendo el resultado menor a lo obtenido por Mroczkowska et al., (2021) con un 60%, esto se dio porque tuvo un mayor porcentaje de almidón en la película, pues indica que al tener una mayor concentración de almidón; el cual posee un carácter higroscópico aumenta la solubilidad y facilita su desintegración en el agua. Por otro lado, el autor Gontard et al. (1992) menciona la influencia del espesor en el grado de solubilidad de las películas elaboradas por medio del método casting fluctuando entre valores de 14.9% hasta 60.9%; esto se dio debido a la variación en su espesor, pues esta característica en nuestro estudio tuvo una relación directamente proporcional con su solubilidad. Asimismo, el autor Tang et al., (2022) menciona que el colágeno hidrolizado es altamente soluble en agua debido a su método de obtención por medio de la hidrolisis que lo descompone en péptidos, teniendo menor peso molecular y mayor solubilidad; por lo que el T6 al tener un mayor porcentaje de colágeno, aumento su carácter hidrofílico, mientras que al añadir el aceite esencial redujo la hidrofilicidad de las películas a base de almidón de maíz, pues al ser un hidrocarburo sus moléculas son no polares y no son atraídos por la polaridad de las moléculas del agua (Singh et al., 2022).

4.1.3.3. Opacidad

Como parte de la evaluación de las propiedades ópticas en la siguiente tabla se muestra la opacidad obtenida de las láminas del biopolímero elaborado en base a los tratamientos realizados.

Tabla 21

Promedios de la opacidad del bioplástico

Tratamientos	Opacidad
Control	4.5 ±0.08
T1	5.3 ± 0.05
T2	4.0 ± 0.06
T3	4.2 ± 0.06
T6	4.4 ± 0.06
T7	5.1 ± 0.03
T8	4.3 ± 0.02
T9	4.9 ± 0.05
T10	4.4 ± 0.04

Nota: Los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3)

En la tabla 21 se muestra los valores obtenidos para la opacidad, teniendo un mayor valor el T1 (5% almidón, 8.25% colágeno y 1.5% aceite esencial), mientras que se tiene biopelículas con una mayor transparencia respecto al T2 (6 % almidón, 10% colágeno y 1.5% aceite esencial)

Procediendo al análisis estadístico, se evaluó la normalidad de los datos recolectados en cada uno de los tratamientos mostrado en la siguiente figura.

Tabla 22

Prueba de normalidad

Shapiro-Wilk			
Opacidad	Estadístico	Gl	Sig = p
	0.976	27	0.775

En la tabla 22 se muestra el análisis de normalidad realizado obteniendo un valor $p = 0.775 > 0.05$, que es el intervalo de confianza; por lo que se acepta la hipótesis nula lo que indica que los datos poseen una distribución normal.

En cuanto al supuesto de la homogeneidad de varianzas se tiene los siguientes resultados

Tabla 23

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico	Sig = p
Opacidad	0.967	0.324

De acuerdo a la tabla 23 se muestra un valor de $p=0.324> 0.05$ en la opacidad, por lo que se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis

alterna, lo que indica que los datos presentan homogeneidad de varianzas, siendo adecuado aplicar un ANOVA.

Se procedió a realizar el ANOVA, para realizar el análisis de varianza de los tratamientos, como se muestra en la tabla .

Tabla 24

ANOVA de los tratamientos

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Tratamiento	8	2,93	0,028

En la tabla 24 se tiene un valor $p = 0.028 < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna; lo que indica que los tratamientos no son iguales; es decir al menos uno de ellos es diferente; por lo que se realizó la prueba de Tukey.

Tabla 25

Prueba de Tukey

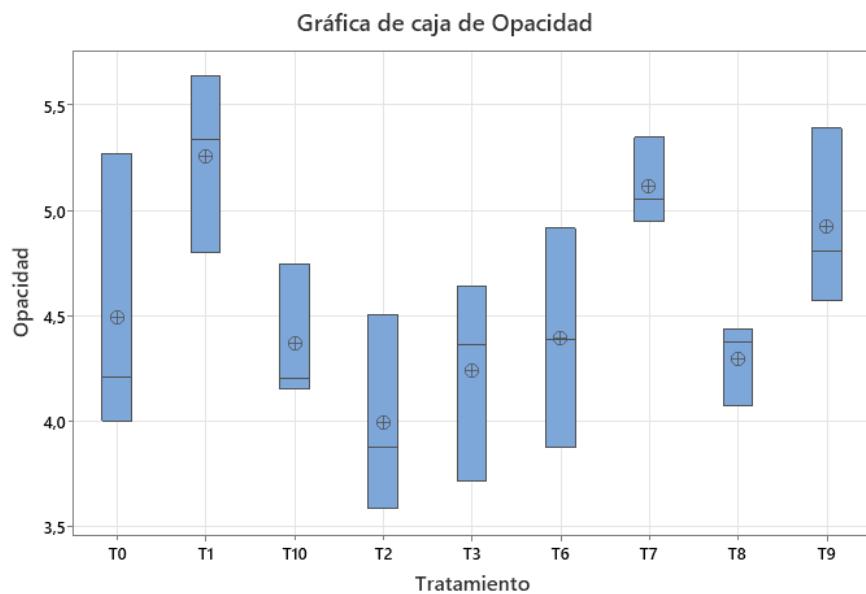
Tratamiento	N	Media	Agrupación
T1	3	5,257	A
T7	3	5,115	A B
T9	3	4,921	A B
T0	3	4,491	A B
T6	3	4,393	A B

T10	3	4,365	A	B
T8	3	4,294	A	B
T3	3	4,238	A	B
T2	3	3,989		B

Como se muestra en la tabla 25 los tratamientos que muestran diferencia significativa corresponden al T1 con una mayor opacidad y el T2 que posee el valor más bajo indicando mayor transparencia.

Figura 13

Opacidad VS Tratamientos



La figura 13 complementa la prueba de Tukey realizada reafirmando la mayor transparencia en el Tratamiento 2, pues el tratamiento más opaco es el T1, donde a pesar que ambos tienen el mismo contenido de aceite (1.5%) , el tratamiento con menor proporción de matriz polimérica

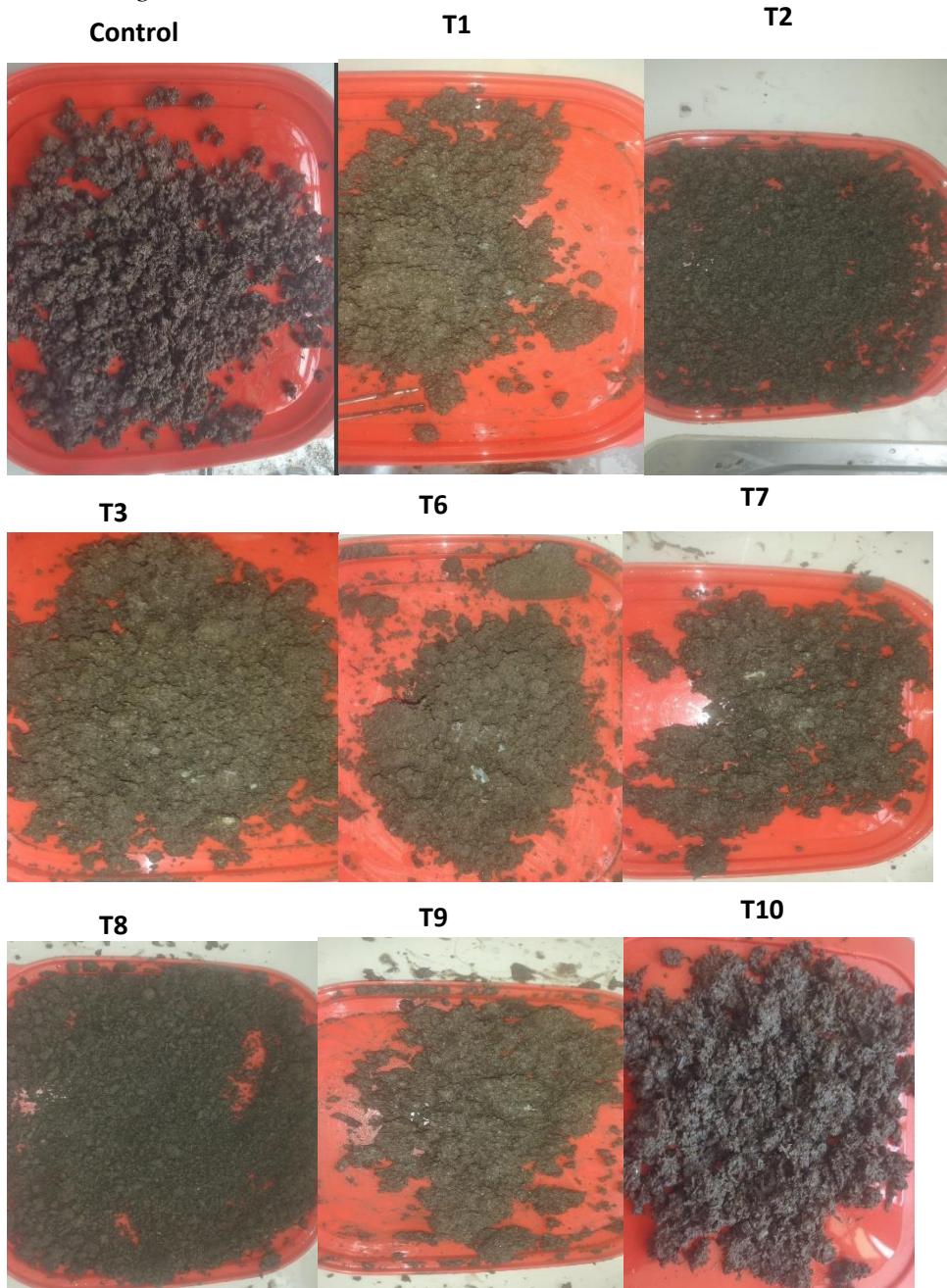
constituida por almidón y colágeno tiene menos capacidad para dispersar y emulsionar el aceite, por lo que este tiende a generar mayores dominios o gotas dentro de la película (Silva et al., 2020) pues como indica Singh et al., (2022) el aceite esencial aumenta la opacidad de las películas debido a que las gotas presentes en el bioplástico causan refracción y dispersión de la luz (Wongphan et al., 2022). Además, la presencia del almidón en mayor porcentaje mejora las propiedades de transparencia, ya que luego de su gelatinización la película posee una matriz homogénea, favoreciendo al paso de la luz (Cao et al., 2020). Estos resultados fueron similares al límite máximo de opacidad obtenido por Gao et al., (2020) en rangos de 1.48 a 4.5, donde este último valor es mayor debido a los diversos factores que pueden influir como el espesor y la estructura del polímero, donde mientras más cristalino tienda a ser tiene una mayor opacidad, y a más amorfo, mayor transparencia.

4.1.3.4.Biodegradabilidad

Respecto a los resultados de biodegradabilidad se muestra la siguiente figura con cada uno de los tratamientos evaluados.

Figura 14

Biodegradabilidad de los tratamientos



En la figura 14 se visualiza los 9 tratamientos que se sometieron a un ensayo de biodegradación en suelo, donde a los 7 días las películas se

degradaron, estos resultados son menores que Assis et al., (2021) debido a que la tierra en la que se colocaron los tratamientos poseía una alta humedad, lo que mencionado por Seligra et al., (2020) las sustancias como el almidón y el glicerol son hidrófilas; por lo que absorben mayor cantidad de agua , lo que conlleva a una pérdida de peso mayor con el paso de los días, ocasionando su degradación en un menor tiempo (Whongphan et al., 2022), lo que también se da debido a la microflora del suelo que simula un entorno de degradación natural al contener hongos, actinomicetos, protozoos y bacterias que participan en la biodegradación. El autor también menciona que el colágeno, al ser una proteína estructural, también contribuye a la biodegradabilidad del bioplástico, debido a su degradación enzimática, mediada por proteasas, complementando así la acción del almidón Lo reportado cumple con la NTP 900.080:2015. (2015) que indica un plazo no mayor a 6 meses para determinar que un envase se considere biodegradable; asimismo cumple con la normativa Europea UNE-EN 13432:2001, que indica un plazo máximo de no mayor a 180 días en cuanto a su degradación a un 90%.

4.1.3.5. Propiedades Mecánicas

Las pruebas mecánicas fueron realizadas por medio del texturometro de Brookfield, por lo que se reportan los resultados obtenidos de los tratamientos en la siguiente tabla.

Tabla 26

Resultados de las propiedades mecánicas evaluadas

Tratamiento	Fuerza (N)	%Elasticidad Media
	media	Media
T0 (Control)	0.920 \pm 0.01	11.215 \pm 0.02
T1	1.350 \pm 0.02	13.770 \pm 0.04
T2	1.897 \pm 0.03	18.053 \pm 0.01
T3	1.445 \pm 0.02	11.307 \pm 0.02
T6	0.820 \pm 0.03	9.066 \pm 0.02
T7	0.817 \pm 0.02	9.763 \pm 0.01
T8	1.363 \pm 0.08	11.842 \pm 0.01
T9	1.107 \pm 0.02	10.262 \pm 0.01
T10	1.240 \pm 0.03	11.840 \pm 0.04

Nota: Los valores se expresan como media \pm desviación estándar (n = 3)

Procediendo al análisis estadístico, se evaluó la normalidad de los datos recolectados para la tracción en cada uno de los tratamientos mostrado en la siguiente tabla.

Tabla 27

Prueba de normalidad

Shapiro-Wilk		
Tracción	Gl	Sig = p
	27	0.666

En la tabla 27 se muestra el análisis de normalidad realizado obteniendo un valor $p = 0.666 > 0.05$, que es el intervalo de confianza; por lo que se acepta la hipótesis nula, lo que indica que los datos poseen una distribución normal.

En cuanto al supuesto de la homogeneidad de varianzas se tiene los siguientes resultados

Tabla 28

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico	Sig = p
Propiedades	1.00	0.987
Mecanicas		

De acuerdo a la tabla 28 se muestra un valor de $p=0.987 > 0.05$ en el espesor, por lo que se acepta la hipótesis nula, lo que indica que los datos presentan homogeneidad de varianzas, siendo adecuado aplicar un ANOVA.

Se procedió a realizar el ANOVA, para realizar el análisis de varianza de los tratamientos.

Tabla 29

ANOVA de los tratamientos

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Tratamiento	8	4,88	0,003

Al obtener un valor $p = 0.003 < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna; lo que indica que los tratamientos no son iguales; es decir al menos uno de ellos es diferente; por lo que se realizó la prueba de Dunnet para evaluar el tratamiento control VS cada uno de los tratamientos.

Tabla 30

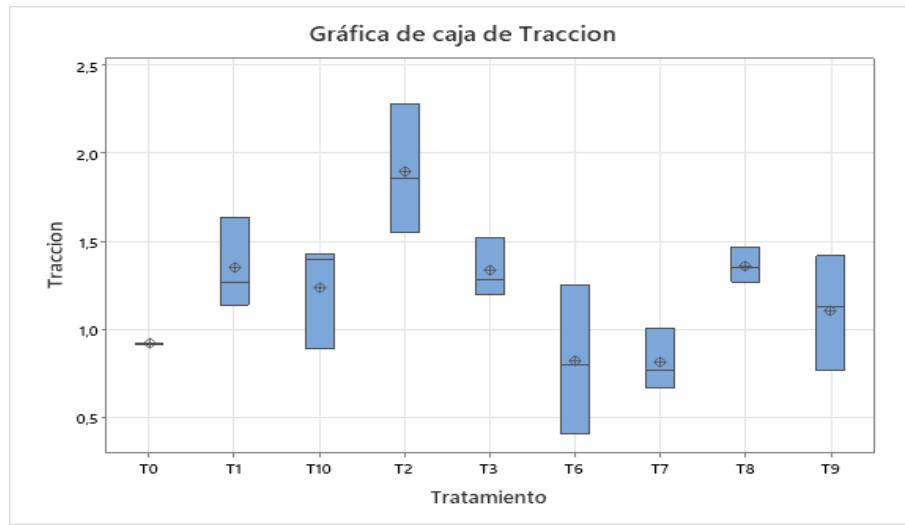
Prueba de Dunnet

Tratamiento	N	Media	Agrupación
T0 (control)	3	0,920	A
T2	3	1,897	
T8	3	1,363	A
T1	3	1,350	A
T3	3	1,333	A
T10	3	1,240	A
T9	3	1,107	A
T6	3	0,820	A
T7	3	0,817	A

Como se muestra en la tabla donde se aplicó la prueba de Dunnet, el tratamiento que no muestra una letra es el que presenta diferencia significativa respecto al tratamiento control, siendo el T2 el que reporta una mayor fuerza de tracción respecto al Tratamiento control; lo que se reafirma en la siguiente grafica de cajas.

Figura 15

Grafico de cajas de los tratamientos



Para la propiedad de elongación, se procedió a realizar el análisis de la normalidad teniendo los siguientes resultados.

Tabla 31

Prueba de normalidad

Shapiro-Wilk		
Elongación	G1	Sig = p
	27	0.230

En la tabla se muestra el análisis de normalidad realizado obteniendo un valor $p = 0.230 > 0.05$, que es el intervalo de confianza; por lo que se acepta la hipótesis nula, lo que indica que los datos poseen una distribución normal.

Se procedió a realizar el ANOVA, para realizar el análisis de varianza de los tratamientos.

Tabla 32

ANOVA de los tratamientos

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Tratamiento	8	5,13	0,007

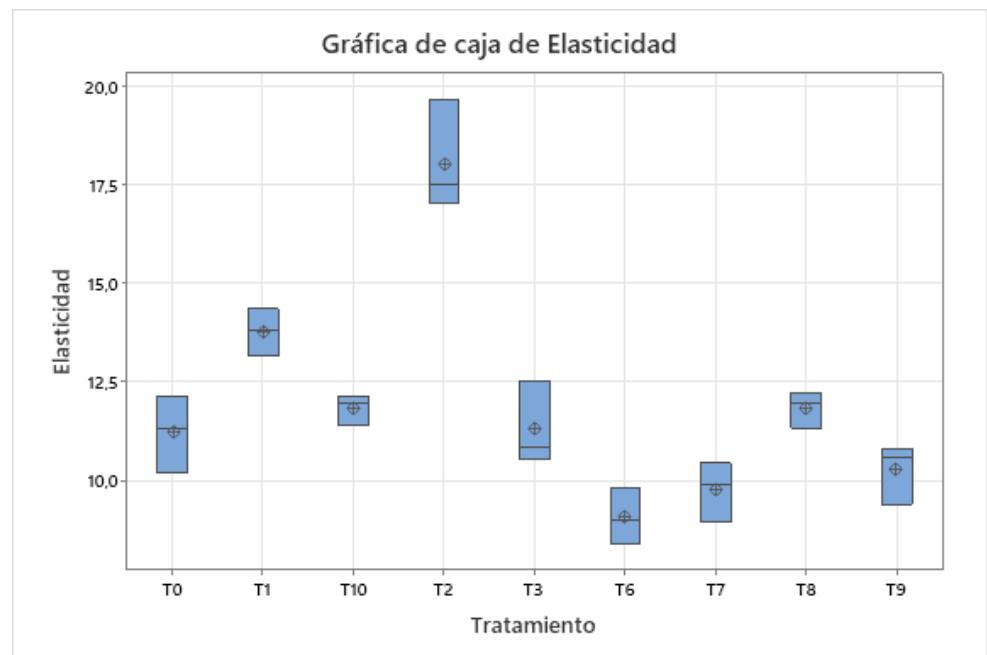
Al obtener un valor $p = 0.007 < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna; lo que indica que los tratamientos no son iguales; es decir al menos uno de ellos es diferente; por lo que se realizo la prueba de Dunnet para evaluar el tratamiento control VS cada uno de los tratamientos.

Tabla 33*Prueba de Dunnet*

Tratamiento	N	Media	Agrupación
T0 (control)	3	11,215	A
T2	3	18,053	
T1	3	13,770	
T8	3	11,842	A
T10	3	11,840	A
T3	3	11,307	A
T9	3	10,262	A
T7	3	9,763	A
T6	3	9,066	

Como se muestra en la siguiente tabla donde se aplicó la prueba de Dunnet, el tratamiento que no muestra una letra es el que presenta diferencia significativa respecto al tratamiento control, siendo el T2, T1 y T6 los que presentaron una diferencia significativa respecto al T0 (Control), siendo el T2 el mayor y el T1 el que presento menor elongación, lo que se reafirma mostrando el siguiente diagrama de cajas.

Figura 16
Grafico de cajas de los tratamientos



Como se muestra en la figura 16 se tiene que varios tratamientos muestran medias de Fuerza de tracción superiores a las del Control, debido a que algunas formulaciones o condiciones de tratamiento aumentan la resistencia frente al control, pues como indica Li et al., (2021) la incorporación de ciertos aditivos o cambios en la

proporción proteína: polisacárido aumenta la fuerza de tracción; siendo el T2 el que presento mayores propiedades de tracción y elongación respecto al control y a los demás tratamientos analizados. De acuerdo a Vianna et al., (2021) el efecto plastificante del aceite esencial de naranja rompe puentes de hidrógeno, reduciendo la tensión entre cadenas poliméricas y aumentando la movilidad de las cadenas, lo que hace que se incremente la ductilidad y mayor deformación antes de la ruptura, pues en el artículo de Contreras et al., (2021) se indica que al aumentar el porcentaje oleoso aumenta el porcentaje de elongación; asimismo Bathia et al., (2025) indica que inclusión de aceites en nanoemulsiones bien dispersas puede no reducir tanto la resistencia como esperar, si la matriz los integra bien. El autor Frangopoulos et al., (2025) menciona que las formulaciones que reducen tamaño de gotas del aceite, usan compatibilizantes o mejoran la matriz por medio de mayor proporción proteica o polisacárido con cohesión, para tener un balance, como en nuestro caso que se añadió almidón y colágeno en mayor proporción 6% y 10% respectivamente. Los tratamientos que poseían mayor proporción de elementos rígidos como colágeno y almidón, con bajo contenido de aceite presentaban mayor rigidez, lo que se ve reflejado en su estructura base más rígida dándole una menor elongación como es el caso del T9 y T7; pero respecto a la tracción los tratamientos T1, T2, T3 y T10 mostraron mayores valores de fuerza de tracción que el control, esto según indica Kong (2022) es porque se tuvo mejor

dispersión de la fase oleosa o la presencia de agentes de reticulación/condiciones que fortalecen la matriz y la microestructura (tamaño de gota, compatibilizantes, tratamiento térmico) puede transformar una inclusión oleosa de debilitante a un reforzante si su dispersión es óptima (Li et al., 2024); estos resultados fueron similares a los reportados por Bhatia et al. (2025), donde formulaciones con mejor compatibilidad proteína/aceite aumentaron la resistencia mecánica de películas activas con aceites esenciales.

Tras realizar los análisis de los tratamientos respectivos se logró determinar que el tratamiento T2 fue el más adecuado, por lo que se procedió a aplicar el análisis de permeabilidad, el antimicrobiano y su posterior aplicación en la fresa.

4.1.3.6. Análisis de permeabilidad

A continuación, se muestra la prueba normalidad

Tabla 34

Prueba del análisis de normalidad de residuos del análisis de permeabilidad

Variables	Estadística	P
Residuos	0.446	0.176

Los residuos del modelo presentaron distribución normal ($p > 0.05$), por lo que se cumplieron los criterios de normalidad y homocedasticidad.

Tabla 35

Prueba de homogeneidad

Método	Estadística de prueba	Valor p
Comparaciones	5.32	0.021
múltiples		
Levene	0.72	0.443

La prueba de Levene indicó homogeneidad de varianzas entre los grupos ($F = 0.72$; $p = 0.443$), por lo que se cumple el supuesto de igualdad de varianzas requerido para el análisis de varianza.

Tabla 36

Prueba de T student del análisis de permeabilidad

Estadístico	Valor	Valor	p
	2.20		0.159

El análisis no mostró diferencias significativas entre ambos grupos ($t = 2.20$; $p = 0.159$), por lo que se acepta la hipótesis nula de igualdad de medias.

En cuanto al resultado, se obtuvo un valor de $9.21 \pm 0.38 \times 10^{-12}$ ($\text{g.s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) y $9.33 \pm 2.69 \times 10^{-12}$ ($\text{g.s}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$) para el mejor tratamiento y control respectivamente. Este resultado sugiere que la incorporación del aceite esencial y del colágeno no modificó de manera

sustancial la estructura de la matriz polimérica ni la distribución de fases responsables del transporte de vapor.

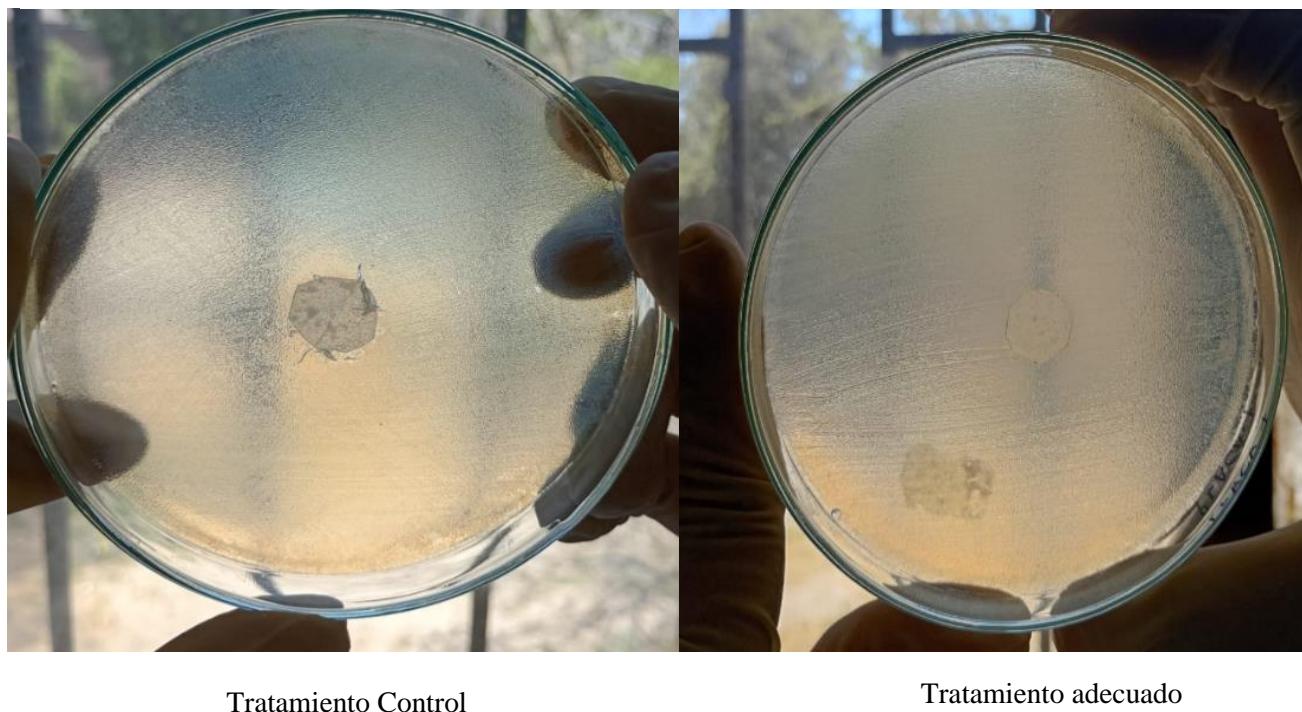
La ausencia de diferencias puede explicarse por las características estructurales de los biopolímeros empleados. El almidón, de naturaleza hidrofílica, tiende a facilitar el paso del vapor de agua debido a la presencia de grupos hidroxilo (-OH) (hidrofílico) lo que le permite una fácil interacción con la humedad mediante la interacción polar-polar y los enlaces de hidrógeno (Trinh et al., 2023). Por otro lado, la composición de aminoácidos pudo haber influido en los resultados, ya que según Avena-Bustillos et al., (2006), reportaron que las películas elaboradas con gelatina proveniente de peces de aguas cálidas presentaron una permeabilidad al vapor de agua superior aquellas obtenidas de especies de aguas frías, debido a que los peces tropicales tuvieron una mayor proporción de prolina y un menor contenido de hidroxiprolina, siendo este último el encargado de conferir una estructura más compacta y menos permeable (más barrera, más hidrofóbica en el sentido estructural). En este sentido, la reducida diferencia numérica entre ambos tratamientos puede deberse a que según el anexo (1), se muestra que el colágeno utilizado fue de 11.4% de hidroxiprolina y 12.6% de prolina proporción que confiere cierta rigidez estructural sin modificar sustancialmente la permeabilidad global del sistema, equilibrando así el efecto hidrofílico del almidón. Por otra parte, en cuanto a la adición del aceite esencial, este al ser de carácter hidrofóbico al incorporarse en una película hidrofílica puede restringir la difusión del vapor de agua a través de la película, es

decir, mejorar su permeabilidad (Jiang et.al., 2020). Sin embargo, este no lo hizo, no hubo diferencias significativas, tal y como lo reportan Do Evangelho et al., (2019), quienes obtuvieron valores de 2,82 a 4,53 g·mm/m² ·día·kPa, para películas con y sin aceite esencial de orégano, siendo mayor este último. Los autores explicaron que estos resultados se vincularon estrechamente porosidad en su estructura morfológica de las películas, lo que amplió el espacio intermolecular dentro de la red polimérica y favoreció la difusión del vapor de agua.

En cuanto al mecanismo de permeación según Trinh et al., (2023), mencionan que las moléculas gaseosas se adhieren en un primer momento a la superficie de la película polimérica; posteriormente, migran a través del material desde las regiones con mayor concentración hacia aquellas con menor concentración, conforme al gradiente existente, para que finalmente se liberan por la cara opuesta del polímero mediante un proceso de desorción.

4.1.3.7. Análisis antimicrobiano

Figura 17
Análisis antimicrobiano



Como se muestra en la figura 17 no se formó un halo de inhibición alrededor de la película, sin embargo en el tratamiento adecuado no hubo crecimiento sobre ni debajo de la película que contenía aceite esencial, a diferencia del tratamiento control donde se tuvo un crecimiento bacteriano de la cepa E.Coli; estos resultados fueron similares a lo reportado por Diaz (2023) en base a películas de quitosano y almidón, con aceite esencial; donde se reportó que no hubo crecimiento de microorganismos sobre la película que contenía adición de aceite esencial, por lo que de acuerdo a Souza et al., (2018) esto indica que la película es útil como barrera entre el ambiente y el alimento; donde la

ausencia del halo de inhibición es debido a que al usar un aceite esencial se pudo evaporar en la película al ser volátil, atrapando la película en la cadena polimérica los compuestos activos; ocasionando que se reduzca su actividad debajo de la película, perdiendo difusión en el agar. Los autores Appendini & Hotchkiss (2002) mencionan que así haya crecimiento debajo de la película, esto indica inhibición, ya que de lo contrario crecería sobre o debajo de la misma como sucedió con la película control.

Asimismo, Lopez et al., (2017) indica que el efecto antimicrobiano es por la presencia del aceite esencial, cuya efectividad depende del tipo y de la concentración de compuestos fenólicos, donde en el aceite esencial resaltan los flavonoides y la presencia de ácidos fenólicos. Otro autor como Neng-guo et. al., (2009), menciona que el método de difusión en disco y método determinación de concentración mínima inhibitoria (CIM) demostraron que el aceite esencial tenía actividades antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus*, *Penicillium chrysogenum*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*.

4.1.4. Caracterización de la fresa

4.1.4.1. Fisicoquímicos

Respecto a los análisis fisicoquímicos de la fresa, se evaluó en base al pH, Brix y acidez en un lapso de 15 días en refrigeración 5°C obteniendo la siguiente tabla con los resultados.

Tabla 37
Resultados del análisis fisicoquímico de la fresa

Días		0	3	6	8	10	15
PH	Control	3.44 ± 0.03	3.40 ± 0.01	3.87 ± 0.07	3.96 ± 0.005	3.75 ± 0.02	3.77 ± 0.005
	Bioplástico	3.44 ± 0.04	3.56 ± 0.01	3.84 ± 0.08	3.90 ± 0.005	3.94 ± 0.01	3.81 ± 0.005
BRIX	Control	5.23 ± 0.05	5.67 ± 0.01	5.07 ± 0.04	4.27 ± 0.05	3.88 ± 0.01	3.15 ± 0.05
	Bioplástico	5.33 ± 0.01	6.33 ± 0.03	5.51 ± 0.08	5.82 ± 0.07	5.19 ± 0.03	4.37 ± 0.05
Acidez	Control	0.57 ± 0.007	0.81 ± 0.07	0.90 ± 0.03	1.11 ± 0.07	1.41 ± 0.01	1.28 ± 0.01
	Bioplástico	0.35 ± 0.01	0.60 ± 0.02	0.73 ± 0.09	1.05 ± 0.09	1.00 ± 0.09	1.07 ± 0.07

Nota: Los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3)

En la tabla 37 se muestran los resultados correspondientes al análisis fisicoquímico de la fresa en un lapso de 15 días, comparando el tratamiento adecuado (T2) respecto al tratamiento control en base al análisis del pH; los ° Brix y la acidez como parte de la maduración del fruto.

Se procedió a realizar el análisis estadístico de cada uno de los análisis fisicoquímicos, por lo que se procedió a evaluar la normalidad.

Tabla 38

Prueba de normalidad

Shapiro-Wilk			
		Estadístico	Sig = p
	Control	0.992	0.060
Ph	Bioplástico	0.983	0.070
Brix	Control	0.532	0.150
	Bioplástico	0.371	0.385
Acidez	Control	0.414	0.302
	Bioplástico	0.628	0.086

En la tabla 38 se muestra el análisis de normalidad realizado obteniendo un valor $p > 0.05$, para cada uno de los tratamientos, tanto en los datos obtenidos del bioplástico, como del tratamiento control, para los análisis del brix, del pH y de la acidez de la fresa, lo que indica que tiene una distribución normal.

En cuanto al supuesto de la homogeneidad de varianzas se tiene los siguientes resultados

Tabla 39

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico	Sig = p
Ph	0.992	0.060
Brix	0.532	0.150
Acidez	0.414	0.302

De acuerdo a la tabla 39 se muestra un valor de $p > 0.05$ en cada uno de los análisis realizados, por lo que se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna, lo que indica que los datos presentan homogeneidad de varianzas, siendo adecuado aplicar un ANOVA.

Se muestra el siguiente ANOVA en la siguiente tabla para el pH

Tabla 40

ANOVA del pH según día y tratamiento

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Tratamiento	1	15.68	0.001
Dia	5	196.33	0.000
Tratamiento*Dia	5	12.41	0.000

En la tabla 40 se observa el ANOVA de dos factores realizado en base a los tratamientos (Tratamiento Adecuado y Tratamiento control) y a los días (0 a 15) en la evaluación del pH de la fresa; donde se tiene un valor $p = 0.001 < 0.05$, aceptando la hipótesis alterna; lo que indica que existe un efecto significativo del tratamiento sobre el pH; existiendo una variación entre el tratamiento adecuado y el control. Respecto a los días, se tiene un valor $p = 0.001 < 0.05$, esto indica un efecto altamente

significativo del paso de los días con respecto al pH; es decir el pH varia con el paso de los días. En cuanto a la interacción del tratamiento respecto a los días se tiene un valor $p = 0.00 < 0.05$ lo que indica que existe una interacción significativa, es decir el efecto del tratamiento sobre el pH varia con el paso de los días.

Se procede a mostrar el ANOVA realizado para el Brix evaluado en la fresa.

Tabla 41
ANOVA del Brix según día y tratamiento

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Tratamiento	1	430.54	0.001
Día	5	216.20	0.002
Tratamiento*Día	5	29.41	0.000

En la tabla 41 se observa el ANOVA de dos factores realizado en base a los tratamientos (Tratamiento Adecuado y Tratamiento control) y a los días (0 a 15) en la evaluación del Brix de la fresa; donde se tiene un valor $p = 0.001 < 0.05$, aceptando la hipótesis alterna; lo que indica que existe un efecto significativo del tratamiento sobre los °Brix evaluados; existiendo una variación entre el tratamiento adecuado y el control.

Respecto a los días, se tiene un valor $p = 0.002 < 0.05$, esto indica un efecto altamente significativo del paso de los días con respecto al °Brix; es decir el Brix varía con el paso de los días. En cuanto a la interacción del tratamiento respecto a los días se tiene un valor $p = 0.00 < 0.05$ lo que

indica que existe una interaccion significativa , es decir el efecto del tratamiento sobre los °Brix varia con el paso de los dias.

Se procede a mostrar el ANOVA realizado para la acidez evaluada en la fresa.

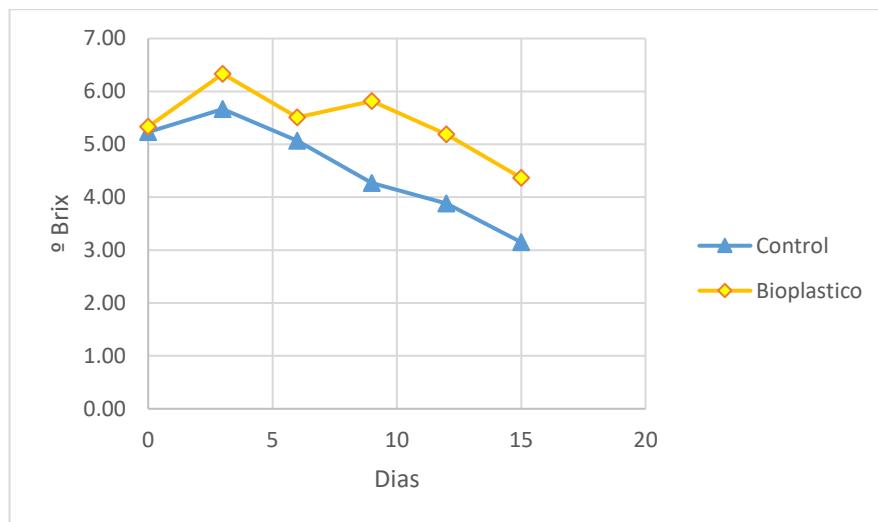
Tabla 42
ANOVA de la Acidez seg\xf3n d\xeda y tratamiento

Fuente	GL	Valor F	Valor p
Tratamiento	1	23.88	0.003
Dia	5	30.49	0.000
Tratamiento*Dia	5	1.03	0.403

En la tabla 42 se observa el ANOVA de dos factores realizado en base a los tratamientos (Tratamiento Adecuado y Tratamiento control) y a los dias (0 a 15) en la evaluacion de la acidez de la fresa; donde se tiene un valor $p = 0.003 < 0.05$, aceptando la hip\xf3tesis alterna; lo que indica que existe un efecto significativo del tratamiento sobre la acidez titulable; existiendo una variacion entre el tratamiento adecuado y el control. Respecto a los dias, se tiene un valor $p= 0.000 < 0.05$, esto indica un efecto altamente significativo del paso de los dias con respecto a la acidez; es decir la acidez varia con el paso de los dias. En cuanto a la interaccion del tratamiento respecto a los dias se tiene un valor $p= 0.403 > 0.05$ lo que indica que no existe una interaccion significativa , es decir que no existe efecto del tratamiento sobre la acidez titulable varia con el paso de los dias.

Ante, ello se muestra las siguientes graficas donde se observa el comportamiento del pH, de los ° Brix y de la acidez evaluados en la fresa.

Figura 18
°Brix Vs Días



En la figura 18 se muestra el comportamiento del °Brix medido con el paso de los días para las fresas cubiertas con el bioplástico y con el tratamiento control, donde se observa un comportamiento descendente con el paso de los días, debido a que los °Brix, son sólidos solubles conformados por glucosa, fructosa y sacarosa (Tanada y Grosso, 2017), lo que tiene una tendencia a disminuir , debido al proceso de senescencia de los frutos, ya que durante la actividad metabólica de la fresa (respiración) estos azúcares del resultado de la hidrolisis de la sacarosa, son usados como sustrato; lo que conlleva la disminución de ello con el paso de los días (Trejo et al., 2017) . En el caso del tratamiento adecuado se obtuvo un mayor grado Brix, debido a la mayor perdida de agua en comparación con el control, y esto se dio por la concentración de los

sólidos solubles, repercutiendo en los valores de la acidez y el pH (Ahmed et al., 2022).

Figura 19
pH Vs Días

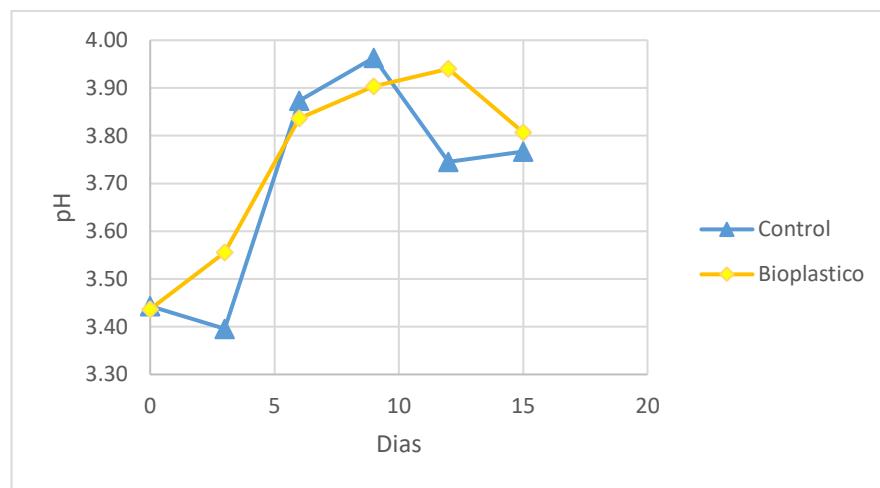
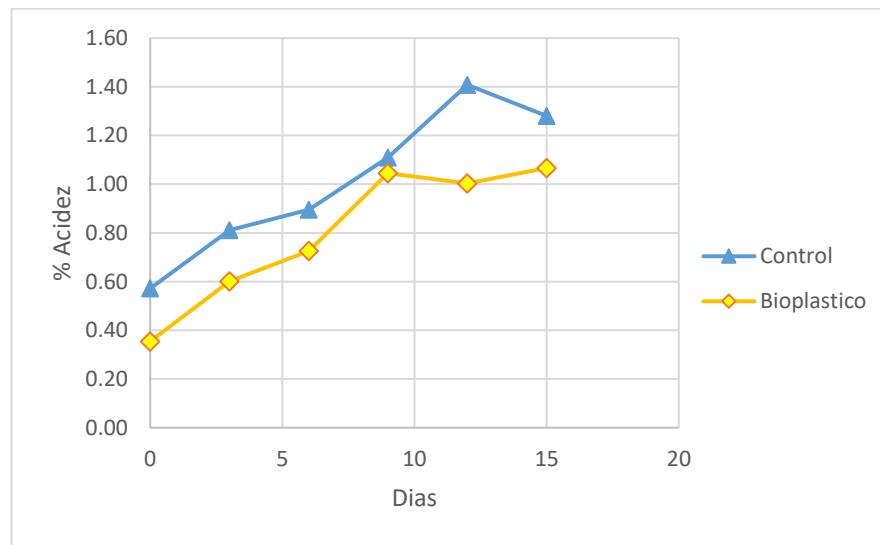


Figura 20
%Acidez Vs Días



En la figura 19 y 20 se muestra la variación del pH y la acidez titulable con el paso de los días, donde la acidez disminuye a medida que aumentaba el pH de los frutos. En el caso del tratamiento adecuado se

tuvo un menor porcentaje de acidez titulable que vario de 0.35% a 1.07% respecto al tratamiento control que vario de 0.57% a 1.28%, demostrando la eficiencia del tratamiento adecuado, pues la diferencia entre ellos es ligera; por lo que permitio una maduracion controlada del fruto durante el almacenamiento, actuando como una barrera para los gases del resultado del intercambio gaseoso del fruto con su ambiente; debido a que redujo la tasa de respiración de las fresas y, con ello, retrasan el consumo de los ácidos orgánicos en los procesos enzimáticos.Otros autores como Almenar (2020) menciona que el pH refleja los cambios del contenido de ácido orgánico en la fruta fresca durante el almacenamiento. En cuanto a la acidez, la fresa tiene como acido principal el citrico , siendo necesario para conocer su grado de madurez, la cual disminuyo con el paso del tiempo, debido a que los ácidos del fruto se usan como sustrato de respiración, ya que, en comparación con los hidratos de carbono, los acidos contienen por cada átomo de C y H, más átomos de O y así, la liberación de CO₂ es mayor que la toma de O₂ (AITBOULAHSEN et al. 2018).

4.1.4.2. Peso

Se muestra la tabla con los resultados de la evaluación de la pérdida de peso de las fresas envasadas con tratamiento control y con el tratamiento adecuado.

Tabla 43

Evaluación de la pérdida de peso (%) con el paso de los días

Tratamiento		
Días	Control	Bioplástico
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
3	3.57 ± 0.01	14.69 ± 0.01
6	5.83 ± 0.02	20.82 ± 0.01
8	11.94 ± 0.02	27.79 ± 0.03
10	13.77 ± 0.05	33.46 ± 0.03
15	29.11 ± 0.02	46.32 ± 0.04

Nota: Los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3)

En la tabla 43 se muestra el porcentaje de pérdida de peso para cada uno de los tratamientos (Adecuado y control), teniendo el tratamiento adecuado una mayor pérdida de peso con respecto al control.

Se procedió a realizar el análisis estadístico del peso, por lo que se procedió a evaluar la normalidad de cada uno de ellos.

Tabla 44

Prueba de normalidad

Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Sig = p
%Pérdida de peso	Control Bioplástico	0.793 0.247
		0.08 0.714

En la tabla 44 se muestra el análisis de normalidad realizado obteniendo un valor $p > 0.05$, para cada uno de los tratamientos, tanto en los datos obtenidos del bioplástico, como del tratamiento control, para la pérdida de peso, lo que indica que los datos siguen una distribución normal.

En cuanto al supuesto de la homogeneidad de varianzas se tiene los siguientes resultados

Tabla 45

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico	Sig = p
%Perdida de peso	1.00	0.468

De acuerdo a la tabla 45 se muestra un valor de $p=0.468 > 0.05$ en el % de la perdida de pesos, por lo que se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna, lo que indica que los datos presentan homogeneidad de varianzas, siendo adecuado aplicar un ANOVA.

Se muestra el siguiente ANOVA en la siguiente tabla para el pH

Tabla 46

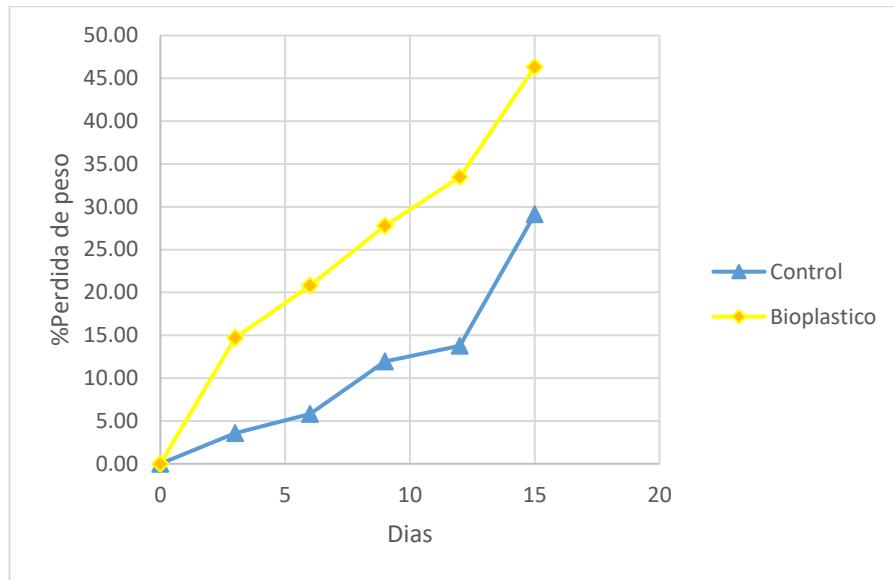
ANOVA del % de pérdida de peso según día y tratamiento

Fuente	Valor F	Valor p
Tratamiento	162.00	0.001
Dia	105.70	0.020
Tratamiento*Dia	7.72	0.001

En la tabla 46 se observa el ANOVA de dos factores realizado en base a los tratamientos (Tratamiento Adecuado y Tratamiento control) y a los dias (0 a 15) en la evaluacion de la perdida de peso de la fresa; donde se tiene un valor $p = 0.001 < 0.05$, aceptando la hipótesis alterna; lo que indica que existe un efecto significativo del tratamiento sobre la perdida de peso; existiendo una variacion entre el tratamiento adecuado y el control. Respecto a los dias, se tiene un valor $p= 0.020 < 0.05$, esto indica un efecto altamente significativo del paso de los dias con respecto a la perdida de peso; es decir varia con el paso de los dias. En cuanto a la interaccion del tratamiento respecto a los dias se tiene un valor $p= 0.00 < 0.05$ lo que indica que existe una interaccion significativa , es decir el efecto del tratamiento sobre el pH varia con el paso de los dias.

Ante ello se muestra la siguiente grafica donde se observa los resultados de la perdida del peso con el paso de los dias.

Figura 21
%Pérdida de peso con el paso de los días



En cuanto a los resultados obtenidos en el peso de la fresa, se observa que con el paso de los días este disminuye, debido a que, según Brouwer et al., (2019) es un fruto que presenta una elevada tasa de respiración, y una alta actividad de agua, por lo que pierde agua y textura, disminuyendo su calidad sensorial. Asimismo, el autor Almenar (2020) indica que el agua transpirada que pierde ocasiona una notoria pérdida de peso, puesto que la fresa no tiene una barrera de retención para la perdida de agua a diferencia de otros frutos. En cuanto a los tratamientos, el control tuvo una menor pérdida de peso con un 29.11 % con respecto al día inicial; mientras que el tratamiento adecuado tuvo una mayor pérdida de peso con un 46.11%; lo que se vio reflejado en sus análisis fisicoquímicos realizados; esto se dio debido a la naturaleza hidrofílica del almidón; donde al estar las muestras a 5°C reduce la transpiración y la actividad metabólica del fruto; sin embargo, la diferencia de presión de vapor entre

el interior del fruto y el ambiente de almacenamiento sigue promoviendo la migración de agua hacia el exterior; principalmente porque la película a base de almidón, debido a su estructura rica en grupos hidroxilo son capaces de formar enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua, facilitando la difusión de humedad y por ende la pérdida del peso del fruto

4.1.4.3.Análisis Microbiológico

En cuanto a la evaluación del análisis microbiológico, se realizaron en un tiempo de 15 días a 5°C la fruta, teniendo los siguientes resultados estadísticos:

Tabla 47

Análisis de normalidad de residuos del análisis microbiológico

Variables	Estadística	P
Residuos	0.718	0.051

En la tabla 47 se tiene un $p > 0.05$ tanto para el control como el bioplástico, lo cual indica que tiene una distribución normal.

A continuación, se realiza la prueba de homogeneidad de varianza:

Tabla 48

Prueba de homogeneidad del análisis microbiológico

Método	Valor p
Prueba de homogeneidad	0.195

En la tabla 48 se tiene un $p > 0.05$ tanto para el control como el bioplástico, lo cual indica que todos tienen normalidad por lo que es adecuado aplicar Anova.

A continuación, se realiza la prueba de Análisis de Varianza de dos factores:

Tabla 49

Análisis de varianza de dos factores (Días y Tratamientos) del análisis microbiológico

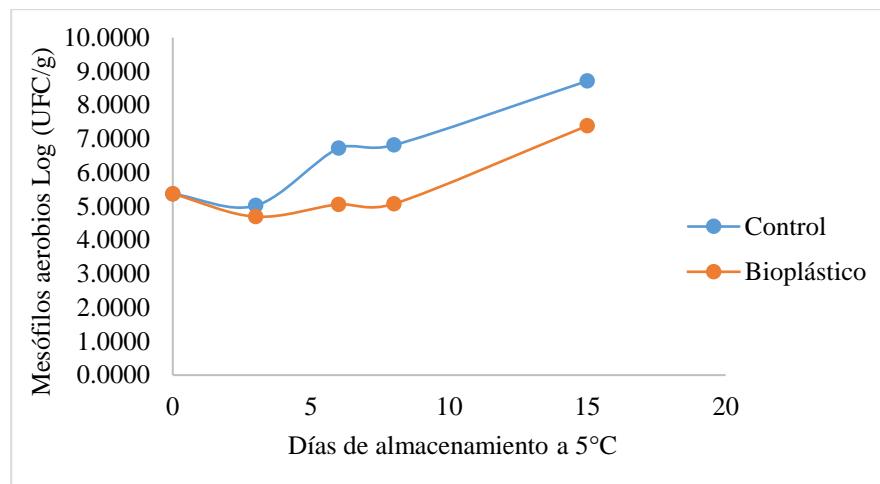
Fuente	Valor F	Valor p
Días	8760.62	0.001
Control y Bioplástico	6476.06	0.001
Días*Control y Bioplástico	868.46	0.001

En la tabla 49 se muestra el análisis de varianza de dos factores (días y tratamientos), teniendo un $p < 0.05$, es decir, los valores medidos cambian significativamente con el tiempo. En cuanto al efecto del control y bioplástico a tener un $p < 0.05$ indica que ambos se comportan de manera distinta. Finalmente, en cuanto a la interacción de los días y tratamientos, al tener un $p = 0.001$; es decir, menor a 0.05 muestra que la evolución de los valores a lo largo de los días no es igual para el control y el bioplástico. A continuación, se muestra la evolución de los aerobios mesófilos en fresas almacenadas a 5 °C durante 15 días, donde el control correspondió

a una bolsa industrial, mientras que el bioplástico representó el mejor tratamiento entre las películas analizadas previamente.

Figura 22.

Comportamiento de los aerobios mesófilos (\log UFC/g) en fresas tratadas con el control y bioplástico durante 15 días de almacenamiento a 5°C



En la figura 22 se muestra la evolución del recuento de aerobios mesófilos en fresas cubiertas con bolsa comercial y bioplástico almacenados a 5°C durante 15 días. Según el MINSA (2008), en el NTS N°071-MINSA/DIGESA-V.01 establece que los límites permisibles para aerobios mesófilos en frutas y hortalizas frescas semiprocesadas, refrigeradas o congeladas es de $m = 10^4$ UFC/g y $M = 10^6$ UFC/g. Siendo valores $\leq m$ productos aceptables y de excelente calidad; mientras que resultados $\geq M$ son inaceptables; es decir, el alimento se considera de mala calidad o representa un riesgo para la salud.

En este sentido, en el día 0 se obtuvo un valor de 2.36×10^6 (6.373 Log(UFC/g) \pm 0.016 Log (UFC/g)), superando el límite establecido (M), lo que indica una calidad microbiológica no conforme con la normativa. Esto se debe a que existió una alta contaminación en el fruto, especialmente en la precosecha, siendo, la fuente de agua de riego (tales como, agua subterránea, aguas residuales, aguas tratadas, etc.) uno de los factores más importantes que afectó a la calidad microbiológica del fruto (Gartley et al., 2022). Por su parte, en el lavado, si bien este puede eliminar parte de la contaminación inicial, también puede favorecer la transferencia de nuevos patógenos al fruto ocasionando una recontaminación (Koutsoumanis et al., 2023). En cuanto a la adición del agua clorada, puede resultar no ser tan efectiva si el patógeno se encontraba dentro de la materia orgánica del producto o en las grietas (Chhetri et al., 2020). Según Yuqiao y Achyut (2025), el proceso del lavado con o sin desinfetante, no siempre logra eliminar completamente los patógenos, ya que estos pueden alojarse en las zonas cortadas o en los poros del fruto. Además, la eficacia del tratamiento desinfectante varía de acuerdo a las propiedades de las bacterias.

Por otro lado, durante la refrigeración (5 °C), el recuento de aerobios mesófilos disminuyó por debajo del límite máximo, siendo un valor de 4.95×10^4 (4.695 Log (UFC/g) \pm 0.03 Log(UFC/g)) para el bioplástico y 1.06×10^5 (5.024 Log(UFC/g) \pm 0.01 Log(UFC/g)) para el control, manteniéndose ambos tratamientos en el rango establecido según NTS

N°071-MINSA/DIGESA-V.01. Esto se debe a que el almacenamiento está diseñado para controlar la respiración postcosecha de la fruta y reducir inhibir el crecimiento de microorganismos presentes en su superficie (Wang et al., 2023). Asimismo, al comparar la cantidad de aerobios mesófilos hasta el día 15 tanto del control como el bioplástico se evidencia una diferencia significativa entre ambos, esto es debido a que según Li et al., (2021) la adición del aceite esencial de cáscara de naranja acentúa las actividades antibacterianas de las películas preparadas; sin embargo, aún se requiere de investigación los compuestos fitoquímicos encargados de ese efecto. Sin embargo, existen autores que consideran que la actividad antimicrobiana podría asociarse a los compuestos bioactivos característicos de los aceites esenciales (como el limoneno), ya que el mecanismo de acción de estos compuestos bioactivos consiste en dañar las membranas celulares por acción de la interacción entre los aceites esenciales y las proteínas de membrana (Roy y Rhim, 2022). Según Sikkema et al., (1995), esto se da debido a que los aceites esenciales contienen una gran cantidad de hidrocarburos cíclicos altamente conjugados, como anillos aromáticos y terpenos cuyas estructuras resultan ser tóxicas para los microorganismos ya que la acumulación de estas genera una desorganización de la bicapa lipídica y una hinchazón estructural, lo que ocasiona la fuga del contenido celular y la pérdida de la integridad de la membrana. Este mecanismo explica la toxicidad de los aceites esenciales frente a microorganismos mesófilos, y podría justificar

la reducción observada en las muestras tratadas con bioplástico que contenía aceite esencial de cáscara de naranja.

En el día 8 se puede observar que la cantidad de aerobios mesófilos de la fruta cubierta con el control fueron 6.55×10^6 (5.075 Log (UFC/g) \pm 0.02 Log(UFC/g)) ; teniendo valores fuera del rango permitido ($M = 10^6$ UFC/g), lo que representó un riesgo para la salud; a diferencia de la fruta cubierta con el bioplástico que tuvo un valor de 1.19×10^5 (6.816 Log (UFC/g) \pm 0.03 Log(UFC/g)), valores dentro del rango permitido. En consiguiente, ya para el día 15, tanto las fresas cubiertas con bioplástico y el control presentados valores de 2.45×10^7 (7.389 Log (UFC/g) \pm 0.26 Log(UFC/g)) y 5.20×10^8 (8.716 Log (UFC/g) \pm 0.02 Log(UFC/g)) respectivamente.

Por otro lado, según De Bruno et al., (2023), la vida útil de las fresas es de 1 a 2 días a temperatura ambiente y de 5 a 7 días en refrigeración. Otros autores como Kebriti et al., (2023), mencionan que su vida útil postcosecha es corta, generalmente menos de 5 días. Lo cual contrastando con los resultados obtenidos se estimó que se extendió alrededor de 8 días para las fresas cubiertas con el bioplástico 6.55×10^6 (5.075 Log (UFC/g) \pm 0.02 Log(UFC/g)). Esto se contrasta con Khan et al., (2023), quienes mencionan que existen varios estudios que han demostrado que la adición de aceites esenciales en las películas y recubrimientos biodegradables son muy eficaces para la conservación de la vida útil de los alimentos.

V. CONCLUSIONES

- Se formulo el bioplástico por el método Casting a partir de almidón de maíz blanco de 5 a 6%, colágeno hidrolizado de 6.5%, 8.25% y 10% ; aceite esencial de cáscara de naranja de 0.5% a 1.5%,como agente antimicrobiano para aplicarlo en el envasado de fresa.
- Se extrajo el almidón de maíz blanco vía húmeda y se realizó el análisis proximal donde se reportó una humedad en base seca de 9.23%; 0.09% de ceniza; 4.02% proteína, 0.8% de grasa y 86.50% de proteína; en cuanto al aceite de cáscara de naranja fue obtenido por arrastre de vapor, teniendo un rendimiento del 1%, un índice de refracción de 1.47, una densidad de 0.85 g/ml y una acidez de 0.913 g/L; el cual tuvo como principal componente el limoneno en 95.29%.
- Se formulo el bioplástico a partir de almidón de maíz, colágeno hidrolizado y aceite obteniendo los tratamientos T1, T2, T3, T6, T7, T8, T9, T10, los cuales se evaluaron en cuanto a sus propiedades físicas, de biodegradabilidad y mecánicas, eligiendo al mejor tratamiento para su posterior aplicación en fresa y su análisis antimicrobiano.
- Se evaluó las propiedades físicas de cada uno de los tratamientos teniendo un mayor espesor variando de (0.146 ± 0.04 a 0.152 ± 0.02 mm); menor opacidad al tener mayor aceite esencial (4.0 ± 0.06 a 5.3 ± 0.05), además un alto porcentaje de solubilidad de (50.16 ± 0.04 a $22.59 \pm 0.10\%$) y todos los tratamientos se biodegradaron en 7 días.
En cuanto a la caracterización mecánica demostró que el mayor contenido de almidón, colágeno y aceite le otorga al bioplástico mayor fuerza variando de (0.820 ± 0.03 a 1.897 ± 0.03 N) y la máxima elongación (9.066 ± 0.02 a 18.053 ± 0.01); siendo el T2 (6% almidón, 10% colágeno y 1.5% de aceite esencial) el mejor

tratamiento físico-mecánico; donde tras elegir el tratamiento adecuado (T2) se obtuvo valores similares de permeabilidad de $9.21 \pm 0.38 \times 10^{-12}$ (g.s⁻¹.m⁻¹.Pa⁻¹) y $9.33 \pm 2.69 \times 10^{-12}$ (g.s⁻¹.m⁻¹.Pa⁻¹) para tratamiento adecuado y control; procediendo a aplicar el análisis antimicrobiano donde no formo un halo de inhibición sin embargo demostró su efectividad al no crecer sobre y debajo de la película.

- Se aplico el T2(adecuado) en la conservación de fresa, envasándola y comparándola con un tratamiento control por medio de su evaluación fisicoquímica donde se valores de ph y brix mayores en el tratamiento adecuado pero muy cercanos al tratamiento control y un menor valor en acidez respecto al control; teniendo una mayor pérdida de peso en el tratamiento adecuado (T2) de 46.32% al ser almacenado en refrigeración, respecto al control con 29.11%; y el análisis microbiológico determino que el tratamiento adecuado (T2) presento una menor carga microbiana a diferencia del control en valores de 7.389 Log(UFC/g) al día 15.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones y elaborar bioplástico con aceite esencial con otros porcentajes no utilizados en este trabajo (2-4%) para evaluar las características del comportamiento del aceite esencial en el aspecto microbiológico y antimicrobiano.
- Se recomienda probar la conservación de la fresa con el tratamiento adecuado (T2) al ambiente para comprobar su comportamiento, ya que al estar en refrigeración y al tener compuestos hidrofílicos, adquiere mayor humedad, repercutiendo en el fruto.
- Se recomienda evaluar otros biopolímeros naturales el quitosano o derivados de celulosa (CMC), los cuales pueden reemplazar al almidón en la formulación del bioplástico pues son compatibles con el aceite y el colágeno, así como mejoras potenciales en resistencia y biodegradabilidad

VII. BIBLIOGRAFIA

- Afrokh, M., El Mehrach, K., Chatoui, K., Ait Bihi, M., Sadki, H., Zarrouk, A., Tahrouch, S. (2024). Quality criteria, chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Mentha suaveolens* Ehrh. *Heylon*, 10(7). Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28125>
- Agarwal, P., Sebghatollahi, Z., Kamal, Dhyani, A., Shrivastava, A., Kurami, K., . . . Hyun. (2022). Citrus Essential Oils in Aromatherapy: Therapeutic Effects and Mechanisms. *Antioxidants*, 11(2), 2374. doi:<https://doi.org/10.3390/antiox11122374>
- Acevedo-Puello, V., Gómez-Contreras, P., & Ortega-Toro, R. (2024). Starch-based films affected by the addition of collagen from *Prochilodus magdalenae* residues and HPMC: Application in Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth) coatings. *Biopolymers*, 115(5). doi:10.1002/bip.23601
- Agama, A., Juárez, G., Evangelista, G., & Bello, P. (2019). Características del almidón de maíz y relación con las enzimas de su biosíntesis. *Agrociencias*. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v47n1/v47n1a1.pdf>
- Ahmed, M. J., Ho, J. C., & Rahman, M. S. (2022). Effect of drying on physicochemical properties and quality attributes of food products: A review. *Food Reviews International*, 38(7), 1351–1372. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02191.x>
- Agustinisari, Luna, & Munarso. (2023). Physicochemical and Functional Properties of Starch Extracted from Indonesian Specialty Corn: Efforts to Increase the Value of Biodiversity. *5th International Conference on Sustainable Agriculture*. doi:10.1088/1755-1315/1172/1/012055

Alata , E., Cuadros, Y., Miranda , L., & Medina de Miranda, E. (2019). Biopelículas producidas con cáscara de naranja y reforzadas con celulosa bacteriana. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 28(5).

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2019000200010

Alcívar, D., & Rosado, L. (2022). Estrategias de valoración ambiental de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) para el fomento de la economía circular en la parroquia canuto. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí , Calceta, Ecuador. https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1943/1/TIC_IA33D.pdf

Alias, A.; Khairul, M. & Sarbon, N. (2022). Emerging materials and technologies of multi-layer film for food packaging application: A review. *Food Control, Volume 136*. ISSN 0956-7135, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108875>

Andrade, M. A., Barbosa, C. H., Shah, M. A., Ahmad, N., Vilarinho, F., Khwaldia, K.,& Ramos, F. (2022). Citrus By-Products: Valuable Source of Bioactive Compounds for Food Applications. *Antioxidants, 12(1)*, 38. <https://doi.org/10.3390/antiox12010038>

Anzueta, X. (2020). *Las escamas del pescado, una mirada alternativa como fuente de colágeno y su uso en la industria alimentaria*. Universidad de Pamplona. http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/4830/1/Anzueta_2020_TG.pdf

Anwar, T., Qureshi , H., Arooj, F., Sattar , K., Albasher, G., Kamal, A., Zama, W. (2023). Citrus sinensis Peel Oil Extraction and Evaluation as an Antibacterial and Antifungal

Agent. *Micoorganisms*, 17(11), 1662.
doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms11071662>

AOAC. (2005) Association of OfficalAnalytical Chemistry. 18th Ed. Gaithersburg, MD
(Estados Unidos): AOAC International.

Appendini, P., & Hotchkiss, J.(2002). Review of antimicrobial food packaging. In Innovative. *Food Science & Emerging Technologies* (Vol. 3). www.bioka.

Argueta, M., & Trujillo, A. (2019). Elaboración y caracterización de una biopelícula a partir de almidón de plátano verde (*Musa paradisiaca*) incorporando aceite esencial de orégano (*Origanum sp.*) como inhibidor microbiano en la preservación de fresas empacadas. Repositorio Institucional de la Universidad de El Salvador.
<https://hdl.handle.net/20.500.14492/17926>

Arias. (2019). Estandarización de la extracción por arrastre con vapor de aceite. Tesis de Grado, Universidad de Antioquia, Medellin, Colombia.
<http://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/15655>

Arriaga, W., Gaytán, M., & Reyes, L. (2019). Métodos para medir la dureza del grano de maíz. *Digital Ciencia*, 67-78.

Arif, Z., Khalid, M., Sheikh, M., Zolfagharian, A., & Bodaghi, M. (2022). Biopolymeric sustainable materials and their emerging applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(4), 108159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jece.2022.108159>.

Ashrad, S., Adnan, M., Patel, M., Siddiqui, A., Snoussi, M., & Hadi, S. (2020). Fish-Based Bioactives as Potent Nutraceuticals: Exploring the Therapeutic Perspective of

Sustainable Food from the Sea. *Marine Drugs*, 18, (265).

<https://doi.org/10.3390/md18050265>

Asociación Española de Normalización y Certificación. (2001). UNE-EN 13432:2001.

Requisitos de los envases y embalajes valorizables mediante compostaje y biodegradación. Programa de ensayo y criterios de evaluación de la aceptación final del envase o embalaje. *AENOR*.

Assis, R., Lopes, S., Costa, T., Flôres, S. & Oliveira, A. (2021). Películas de almidón de yuca

biodegradables activas con nanocápsulas de licopeno incorporadas. *Cultivos y*

Productos Industriales, 109, (818-827)

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.043>

Atiwesh, G., Mikhael, A., Parrish, C. C., Banoub, J., & Le, T. (2021). Environmental impact

of bioplastic use: A review. *Helijon*, 7(9), e07918.

Avena-Bustillos, R. J., Olsen, C. W., Olson, D. A., Chiou, B. S., Yee, E., Bechtel, P. J., &

McHugh, T. H. (2006). Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin

films. *Journal of food science*, 71(4). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00016.x>

Avellán, A., & Díaz, D., & Mendoza, A., & Zambrano, M., & Zamora, Y., & Riera, M. A.

(2020). Obtención de bioplástico a partir de almidón de maíz. *Revista Colón Ciencias,*

Tecnología y Negocios, 7(1), 1-11.ISSN:

<http://portal.amelica.org/ameli/journal/215/215974004/>

Ambrosio, C., Ikeda, N., Miano, A.(2019). Unraveling the selective antibacterial activity and chemical composition of citrus essential oils. *Sci Rep* 9, 17719. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54084-3>

Acofarma. (2018). Fichas de informacón técnica: Aceite esncial. Acofarma distribución S.A. <https://formulasmagistrales.acofarma.com/idb/descarga/3/f6004b6d99ff254b.pdf>

Almenar, R. (2020). Envasado activo de fresas silvestres. <https://1library.co/document/nzwrnmely-envasado-activo-de-fresassilvestres.html>

Aitboulahsen, M., Zantar, S., Laglaoui, A., Chairi, H., Arakrak, A., Bakkali, M., & Hassani, M. (2018). Gelatin-Based Edible Coating Combined with *Mentha pulegium* Essential Oil as Bioactive Packaging for Strawberries [Research Article]. *Journal of Food Quality*. <https://doi.org/10.1155/2018/8408915>

Brouwer, B., Mensink, M., Woltering, E., & Da Silva, F. (2019). Predicting strawberry shelf life based on input quality: GreenCHAINge Fruit & Vegetables WP3. *Wageningen Food & Biobased Research*. <https://doi.org/10.18174/503212>

Bhatia, S., et al. (2025). *Origanum majorana* essential oil-enriched collagen/k-carrageenan films with enhanced thermal, hydrophobic, anti-oxidant and antimicrobial properties for active packaging. *Food Packaging Journal*.

Beltran, U., & Florez, F. (2020). Elaboración de bioempaques a partir de almidones nativos y aceites esenciales prolongando vida útil en fresas. *Revista Colombiana De Investigaciones Agroindustriales*, 5(1), 71–86. <https://doi.org/10.23850/24220582.1354>

Bombón, A. (2021). Determinación de los índices de degradación en aceites vegetales usados en procesos de fritura en restaurantes de la ciudad de Ambato. Facultad De Ciencia E Ingeniería En Alimentos Y Biotecnología: Universidad Técnica De Ambato.
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/32552/1/BQ%20266.pdf>

Bhagwat, B., Dandge, S. & Bhagwat, A. (2019). Extraction and characterization of acid soluble collagen from fish waste: Development of collagen-chitosan blend as food packaging film. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(2), 102983.
doi:<http://doi.org/10.1016/j.jece.2019.102983>

Bustillos, J., Tirado-Gallegos J., Ordóñez, M., Zamudio, P., Ornelas, J., Acosta-Muñiz, C., Gallegos, G., & Rios, C. (2020) Physicochemical, thermal and rheological properties of three native corn starches. *Food Science and Technology* 39:149-57.
<http://doi.org/10.1590/fst.28117>

Caballero, M., Córdova, L., & López, A. (2019). validación empírica de la teoría multicéntrica del origen y diversidad del maíz en México. Scielo: Revista Fitotécnica Mexicana, 42(4), 357–366.
chromeextension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v42n4/0187-7380-rfm-42-04-00357.pdf

Carhuavilca, Y., & Chirinos, W. (2024). Efecto de un recubrimiento comestible a base de quitosano funcionalizado con almidón de semilla de mango (*Mangifera indica*) y aceite esencial de cáscara de naranja para conservar Fresa. Obtenido de Universidad Nacional Mayor de San Marcos: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/22193>

Cao, L., Ge, T., Meng, F., Xu, S., Li, J., & Wang, L. (2020). An edible oil packaging film with improved barrier properties and heat sealability from cassia gum incorporating carboxylated cellulose nano crystal whisker. *Food hydrocolloids*, 98, 105251.

Cedeño, L., Yáñez, M., Nuñez, T., Montalván, N., & Rogel, M. (2023). Efecto de gelatina y aceite esencial de mandarina en películas de almidón de maíz. *Ciencia UNEMI*, 16(42), 35-44. <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol16iss42.2023pp35-44p>

Cerna, L., & Torres, J. (2020). Obtención de aceite esencial a partir de residuos de cáscara de naranja (*Citrus sinensis* Var. Valencia) utilizando un sistema de hidrodestilación convencional acoplado a un equipo de microondas para su extracción óptima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/17181/Cerna_ml.pdf?sequence=3&isAllowed=y

Chhetri, S., Han, Y., Marlene, J., & Adhikari, A. (2020). Evaluation of viability of *E. coli* O157: H7 on chlorine and lactic acid treated spinach leaves using combined propidium monoazide staining and real-time PCR. *LWT-Food Sci. Technology*, 125, 109259. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109259>

Córdova, C., Guillén, J., & Tuesta, T. (2020). Extracción por microondas libre de solvente del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*), y el efecto de las condiciones de proceso en su rendimiento, composición y actividad antimicrobiana. *Revista Chilena de Nutrición*, 47(6). doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182020000600965>

Cobeña-Dueñas, M., Dueñas-Rivadeneira, A., Delgado-Demera, M., & Rodríguez-Díaz, J. (2022). Revisión de métodos de obtención de colágeno a partir de subproductos de especies marinas. *Revista Centro Azúcar*, 49(4).

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_serial&pid=2223-4861&lng=es&nrm=iso

Contreras, P., Figueroa-Lopez, K., Hernández-Fernández, J., Cortés, M., & Ortega-Toro, R. (2021). Effect of Different Essential Oils on the Properties of Edible Coatings Based on Yam (*Dioscorea rotundata* L.) Starch and Its Application in Strawberry (*Fragaria vesca*L.). *Preservation Applied Sciences*, 11(22), 11057.

<https://doi.org/10.3390/app112211057>

Do Evangelho, J., Da Silva, G., Biduski, B., Halal, S., Kringel, D., Gularde, M., Fiorentini, A., & Da Rosa, E. (2019). Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 222. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114981>

De Bruno, A., Gattuso, A., Ritorto, D., Piscopo, A., & Poiana, M. (2023). Effect of Edible Coating Enriched with Natural Antioxidant Extract and Bergamot Essential Oil on the Shelf Life of Strawberries. *Foods*, 12(3), 488. <https://doi.org/10.3390/foods12030488>

Castañeda, J. (2024). Análisis de grasas y aceites: índice de refracción, yodo, saponificación y peróxido. https://www.academia.edu/25708245/practica_n_13_an%C3%81lisis_de_grasas_y_aceites_indice_de_refracci%C3%93n_yodo_saponificaci%C3%93n_y_per%C3%93xido

De Araújo,S., De Souza,L., Oliveira, J., Gomes, A., Kotzebue, L., Da Silva Agostini, D., Cavalcanti, M. (2020). Microencapsulation of sweet orange essential oil (Citrus aurantium var. dulcis) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, (991-999). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.160>

Durmus, N., Gulsunoglu-Konuskan, Z., & Kilic-Akyilmaz, M. (2024). Recovery, Bioactivity, and Utilization of Bioactive Phenolic Compounds in Citrus Peel. *Food Science & Nutrition*, 12(12), 9974-9997. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4570>

El Peruano. (2022). Economía. Ministerio del Ambiente, Lima, Perú. Obtenido de <https://www.elperuano.pe/noticia/193295-mas-del-75-de-residuos-organicos-e-inorganicos-pueden-ser-valorizados-en-el-pais>

Estadísticas FAO. (2017). Hardness methods for testing maize kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(13), 5647–5657. <https://doi.org/10.1021/jf900623>

Espino, M., & Koot, Y. (2020). Nuestro mundo cubierto de plástico: de la movilidad global del plástico a las consecuencias y respuestas locales. *Informes Científicos Técnicos - UNPA*, 12(4), 146–160. doi:<https://doi.org/10.22305/ict-unpa.v12.n4.759>

Frangopoulos, T., Marinopoulou, A., Petridis, D. et al. (2025) Films from Starch Inclusion Complexes with Bioactive Compounds as Food Packaging Material. *Food Bioprocess Technol* 18, (5164–5179). <https://doi.org/10.1007/s11947-025-03757-1>.

Freider da Costa, G., Bandao, C., Lins de Albuquerque, B., De Sousa, S., & Tribuzy da Malgahaes, A. (2021). Collagen films, cassava starch and their blends: Physical-chemical, thermal and microstructure properties [Películas de colágeno, almidón de yuca y sus mezclas: propiedades físico-químicas, térmicas y de microestructura.]. *Packaging Thechnology and Science*, 35(3), 229-240. <https://doi.org/10.1002/pts.2621>

Figueroa-Lopez, K., Villabona-Ortíz, Á., & Ortega-Toro, R. (2024). Functional properties of starch-chitosan blend bionanocomposite films. *Polymers*, 16(20). <https://doi.org/10.3390/polym16202913>

Gao, W., Wu, W., Liu, P., Hou, H., Li, X. y Cui, B. (2020). Preparación y evaluación de películas biodegradables hidrofóbicas a partir de almidón de maíz/octenilsuccinado con diferentes concentraciones de aceite de soja. *Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 142, (376-383). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.108>

Gartley, S., Anderson-Coughlin, B., Sharma, M., & Kniel, K. (2022). Listeria Monocytogenes in Irrigation Water: An Assessment of Outbreaks, Sources, Prevalence, and Persistence. *Microorganisms*, 10(22). <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071319>

Genchi, G., & Ciofani, G. (2019). Smart Tools for Caring: Nanotechnology Meets Medical Challenges. *Bioeng Biotechnology*, 7(11). doi:<https://doi.org/10.3389%2Ffbioe.2019.00011>

Grohmann, K., Cameron, R. G., & Buslig, B. S. (1995). Fractionation and pretreatment of orange peel by dilute acid hydrolysis. *Bioresource Technology*, 54(2), 129-141.
[https://doi.org/10.1016/0960-8524\(95\)00121-2](https://doi.org/10.1016/0960-8524(95)00121-2)

Gupta, A., Jeyakumar, E., & Lawrence, R. (2021). Journey of Limonene as an Antimicrobial Agent. *Journal Pure Applied Microbiology*, 15(3), 1094-1110.
doi:10.22207/JPAM.15.3.01

Gontard, N., Guilbert, J. (1992). Edible wheat gluten films: influence of the main processes variables on films properties using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 57(1): 190-195 p.

Guo, B., Hu, X., Deng, F., Wu, J., Luo, S., Chen, R., & Liu, C. (2020). Supernatant starch fraction of corn starch and its emulsifying ability: Effect of the amylose content. *Food Hydrocolloids*, 103. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105711>

Gutiérrez-Hernández, G., Rodríguez-Romero, V., Ramírez-Arriaga, L., Ceja-Torres, L., Vázquez-Lozano, P., García-Mendoza, M., & Corzo-Ríos, L. (2025). Características fisicoquímicas del almidón extraído de genotipos diversos de maíz azul. *Interciencia*, 50(4), 221-228.

Hassan, B., Chatha, S., Hussain, A., Zia, K. y Akhtar, N. (2018). Avances recientes en películas y recubrimientos comestibles a base de polisacáridos, lípidos y proteínas: una revisión. *Revista internacional de macromoléculas biológicas* , 109 , 1095-1107.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097>

Hong, H., Fan, H., Chalamaiah, M., & Wu, J. (2019). Preparation of low-molecular-weight, collagen hydrolysates (peptides): Current progress, challenges, and future perspectives. *Food Chemistry*, 301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125222>

Huamani, A., Ramírez, J. &, & Juárez, J. (2020). Optimización del proceso de cocción de quinua utilizando el diseño 3k y la función de deseabilidad: Grado de geletizacion, índice de absorción de agua, índice de solubilidad y desprendimiento de coliledones. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 381–390. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.10>

Ibargüen, O., Magda, I & Pinzón, F (2020). Caracterización de las propiedades mecánicas y de barrera de películas biodegradables a base de Aloe vera (Aloe Barbadensis Miller). Artículo. *Revista alimentos hoy, vol. 24* (34).

ISO 3141. (2019). Essential oil of sweet orange expressed [Citrus sinensis (L.)]. International Standar.<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e569c8b-096f-49b2-a847-3f9feb03f7d9/iso-3140-2019>

Jacob, J., Lawal, U., Thomas, S., & Babu, R. (2020). Processing and Development of Polysaccharide-Based Biopolymers for Packaging Applications. *Elsevier*, 97(115). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818795-1.00004-6>

Jingyi, Y., Reddy, C. K., Fan, Z., & Xu, B. (2023). Physicochemical and structural properties of starches from non-traditional sources in China. *Food Science and Human Wellness*, 12(2), 416-423.<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.07.043>

Jiang, Y., Lan, W., Sameen, D. E., Ahmed, S., Qin, W., Zhang, Q., . . . Liu, Y. (2020). Preparation and characterization of grass carp collagen-chitosan-lemon essential oil

composite films for application as food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 160, 340-351.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.202>

Kaur, S., Panesar, P. S., & Chopra, H. K. (2023). Citrus processing by-products: An overlooked repository of bioactive compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(1), 67-86. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1943647>

Kebriti, I., Solgi, M., & Velashjerdi, M. (2023). Improving quality of strawberry by novel essential oil nanoemulsions of *Echinophora platyloba* combined with *Aloe vera* gel and gum arabic. *Scientific Reports*, 15(1), 1731. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-86259-6>

Khan, S., Abdo, A. A., Shu, Y., Zhang, Z., & Liang, T. (2023). The extraction and impact of essential oils on bioactive films and food preservation, with emphasis on antioxidant and antibacterial activities—a review. *Foods*, 12(22), 4169. <https://doi.org/10.3390/foods12224169>

Koutsoumanis, K., Ordóñez, A. A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., De Cesare, A., ... & Allende, A (2023). Microbiological hazards associated with the use of water in the post-harvest handling and processing operations of fresh and frozen fruits, vegetables and herbs (ffFVHs). Part 1 (outbreak data analysis, literature review and stakeholder questionnaire). *European Food Safety Authority*, 21(11). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8332>

Khan, S., Abdo, A., Shu, Y., Zhang, Z., & Liang, T. (2023). The Extraction and Impact of Essential Oils on Bioactive Films and Food Preservation, with Emphasis on

Antioxidant and Antibacterial Activities-A Review. *Foods* (Basel, Switzerland), 12(22), 4169. <https://doi.org/10.3390/foods12224169>

Lan, W., Wang, S., Chen, M., Sameen, D., Lee, K., & Liu, Y. (2020). Developing poly(vinyl alcohol)/chitosan films incorporate with d-limonene: Study of structural, antibacterial, and fruit preservation properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, (722-732). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.230>

Ledesma, A., Flores, L., Dalgo, V., & Chango, G. (2021). Bioplásticos de almidón de maíz y quinua para uso como envolturas alimenticias biodegradables. *Revista científica*, 39-56. doi: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v7i4.2080>

León-López, A., Morales-Peña, A., Martínez-Juárez, V. M., Vargas-Torres, A., Zeugolis, D. I., & Aguirre-Álvarez, G. (2019). Hydrolyzed collagen—sources and applications. *Molecules*, 24(22). <https://doi.org/10.3390/molecules24224031>

Liu, D., Zhang, X., Li, T., Xu, H., Zhang, H., & Peng. (2015). Extraction and characterization of acid- and pepsin-soluble collagens from the scales, skins and swim-bladders of grass carp (Ctenopharyngodon idella). *Food Bioscience*, 9, (68-75) doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2014.12.004>

Li, Y. (2021). Effect of orange peel essential oil on characteristics of blend films based on chitosan and fish skin gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 235–244

Li, X. (2024). Interaction mechanisms of edible film ingredients and their effects on food quality. *International Journal of Biological Macromolecules*.

López-Aguirre, J., Pomaquero-Yuquilema, J., & López-Salazar, J. (2020). Análisis de la contaminación ambiental por plásticos en la ciudad de Riobamba. *Polo del conocimiento*, 5(12), 725-742. doi:10.23857/pc.v5i12.2139

López, E., Balcázar, M., Mendoza, J., Ortiz, A., Melo, M., Parrales, R., & Delgado, T. (2017). Antimicrobial activity of essential oil of Zingiber officinale Roscoe (Zingiberaceae). *American Journal of Plant Sciences*, 8(07), 1511. Doi: 10.4236/ajps.2017.87104

López, O., García, M., & Zaritzky, N. (2008). Film forming capacity of chemically modified corn starches. *Carbohydrate Polymers*, 73(4), 573–581.

Li, Y., Tang, C., & He, Q. (2021). Effect of orange (Citrus sinensis L.) peel essential oil on characteristics of blend films based on chitosan and fish skin gelatin. *Food Bioscience*, 41, 100927. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100927>

Ministerio de Salud del Perú. (2008). Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (R.M. N.º 591-2008/MINSA). <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2015/07/CRITERIOS-MICROBIOLOGICOS-RM-591-2008-MINSA.pdf>

Mahizan, N., Yang, S., Moo, C., Song, A., Chong, C., Chong, C., Lim, A. (2019). Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. *Molecules*, 24(14). doi:10.3390/moléculas24142631

Makanjuola, & Makanjuola. (2018). Chemical properties of corn starch as influenced by sprouting periods. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 90-94.<http://www.foodsciencejournal.com/>

Manzur, M., Luciardi, M., Blázquez, A., Alberto, M., Cartagena, E., & Arena, M. (2023). Citrus sinensis Essential Oils an Innovative Antioxidant and Antipathogenic Dual Strategy in Food Preservation against Spoliation Bacteria. *Antioxidants*, 12(246). <https://doi.org/10.3390/antiox12020246>

Maza-Martínez, J., Flores-Fiallos, L., Santiana-Espín, C., & Bonilla-Lucero, M. (2021). Obtención de almidón de maíz chulpi (*Zea Mays Amylosaccharata*). *Dominio De Las Ciencias*, 7(3), 943–958. <https://doi.org/10.23857/dc.v7i3.2032>

Meaño , N., Ciarfella, A. & Dorta, A. (2014). Evaluación de las propiedades químicas y funcionales del almidón nativo de ñame congo (*Dioscorea bulbifera L.*) para predecir sus posibles usos tecnológicos. SABLE. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente* , 26 (2), 182-187.

Meisenberg, G., & Simmons, W. (2018). Principios de bioquímica médica (Cuarta ed.). Elsevier. <https://www.elsevier.com/es-es/connect/collagenos-tipos-composicion-caracteristicas-y-distribucion-en-tejidos>

Merari, G. (2018). Efecto de la Homogenización sobre las propiedades fisicoquímicas y mecánicas elaboradas a base de maíz doblemente modificado. Mexico: Universidad Autónoma del estado de Hidalgo.

Meza, P. (2016). Bioplásticos a partir de almidón residual obtenidos de peladores de papa y determinación de su biodegradabilidad. Repositorio de La Molina:

<https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/2016/Q60-M49-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Miranda, D. (2020). Naranja (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck): Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca. Corredor Tecnológico Agroindustrial. Bogota D.C: CTA-2.

https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/36826/Ver_documento_36826.pdf?sequence=4

Molina, M., & Montesdeoca, C. (2014). Evaluación postcosecha de naranjas (*Citrus sinensis* L.) almacenadas a temperatura ambiente y de refrigeración aplicando agentes de recubrimiento. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Calceta.

<https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/433/1/tesis%20molina-montesdeoca.pdf>

Mangaraj, S., Yadav, A., Bal, L., Dash, S., & Mahanti, N. (2019). Application of biodegradable polymers in food packaging industry: A comprehensive review. *Journal of Packaging Technology and Research*, 3(1), 77-96.

Marangoni, L., Rodrigues, P., Da Silva, R., Vieira, R., & Alves, R. (2021). Sustainable Packaging Films Composed of Sodium Alginate and Hydrolyzed Collagen: Preparation and Characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 2336–2346. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-021-02727-7>

Molavi, H., Behfar, S., Ali Shariati, M., Kaviani, M. y Atarod, S. (2020). Revisión de películas biodegradables a base de almidón. *Revista de Microbiología, Biotecnología*

y Ciencias de la Alimentación , 4 (5), 456–461.

<https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.5.456-461>

Moncada, A., Bravo, N., Aleman, M., & Romero, R. (2022). Desarrollo y caracterización de biopelículas a partir de sorbitol, mezcla de almidón de maíz-papa y aceite esencial de oregano. *Rev Soc Quím Perú*. 88(3).

Mroczkowska, M.; Culliton, D.; Germaine, K.; Neves, A. (2021). Comparison of Mechanical and Physicochemical Characteristics of Potato Starch and Gelatine Blend Bioplastics Made with Gelatines from Different Sources. *Clean Technol.* 2021, (3), 424–436.

<https://doi.org/10.3390/cleantechnol3020024>

Multari, S., Licciardello, C., Caruso, M., & Martens, S. (2020). Monitoring the changes in phenolic compounds and carotenoids occurring during fruit development in the tissues of four citrus fruits. *Food Research International*, 134, 109228.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109228>

Murillo, M., Alvis, A., & Arrazola, G. (2021). Propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón obtenido de dos variedades de batata (*Ipomoea batatas*). *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(1), 117-127. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(19\)117-127](https://doi.org/10.18684/bsaa(19)117-127)

Neng-guo, T., Yue-jin, L., & Miao-ling , Z. (2009). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis Osbeck*). *Food science technology*, 44(7). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01947.x>

Nieto, G., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., Peñalver, R., Ros, G., & Viuda-Martos, M. (2021). Valorization of citrus co-products: Recovery of bioactive compounds and application in meat and meat products. *Plants*, 10(6), 1069. <https://doi.org/10.3390/plants10061069>

Ngan, N., Muoi, T., & My, L. (2020). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Orange (*Citrus sinensis*) Essential Oils Obtained by Hydrodistillation and Solvent free Microwave Extraction. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*. doi:10.1088/1757-899X/991/1/012023

Nimmi, M. (2019). Collagen: Volume II: Biochemistry and Biomechanics, CRC Press.

NTP 900.080:2015 (2015). Envases y embalajes. Requisitos de los envases y embalajes. Programa de ensayo y criterios de evaluación de biodegradabilidad. 1^a Edición

Ocas, L. (2020). Rendimiento de pectina de la cáscara de naranja (*Citrus sinensis* L.) a diferentes valores de pH Y tiempos de extracción. Tesis de grado, Universidad Nacional de Cajamarca.

<https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/4160/tesis%20luz%20marina%20ocas%20quiliche%20%281%29.pdf?sequence=1&isallowed=y#:~:text=as%20naranjas%20presentan%20en%20su,organismo%2c%20como%20el%20%c3%a1cido%20%c3%barico.>

Ortiz-Álvarez, C., Alfaro-Cordova, A., Bielli, A., Mangel, J., & Alfaro-Shigueto, J. (2022). Solid waste assessment in a coastal fishing community in Peru. *Elsevier*, 178(162). doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113632>

Pandiarajan, A., Kamaraj, R., Vasudevan, S., & Vasudevan, S. (2018). OPAC (orange peel activated carbon) derived from waste orange peel for the adsorption of chlorophenoxyacetic acid herbicides from water: adsorption isotherm, kinetic modelling and thermodynamic studies. *Bioresource technology*, 261, 329-341. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.04.005>

Pazmiño, A., Campuzano, A., Marín, K., Coronel, J., & Salazar, R. (2022). Evaluación de películas biodegradables activas de PLA incorporada de aceites esenciales para inhibir adhesión microbiana. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 36(2), 18-31. <https://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.02>

Pérez-Marroquín, X., Vargas-Torres, A., Campos-Montiel, R., Callejas-Quijada, G., Campos-Lozada, G., León-López, A., & Aguirre-Álvarez, A. (2022). Development of a biomaterial based on starch-gelatin blends: Physical, mechanical and barrier properties [Desarrollo de un biomaterial basado en mezclas de almidón-gelatina: propiedades físicas, mecánicas y de barrera]. *Biotecnia*, 24(3), 107-114. doi:<https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i3.1682>

Pratt, S., Vandi, L.J., Gapes, D., Werker, A., Oehmen, A., Laycock, B. (2019). Polyhydroxyalkanoate (PHA) Bioplastics from Organic Waste. In: Bastidas-Oyanedel, JR., Schmidt, J. (eds) *Biorefinery*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-10961-5_26

Quintero, J., & Zapata, J. (2017). Optimización de la Extracción del Colágeno Soluble en Ácido de Subproductos de Tilapia Roja (*Oreochromis spp*) mediante un Diseño de

Superficie de Respuesta. *Información Tecnológica*, 28(1), 109-120. doi: 10.4067/S0718-07642017000100011

Rai, P., Mehrotra, S., Priya, S., Gnansounou, E., & Sharma, S. K. (2021). Recent advances in the sustainable design and applications of biodegradable polymers. *Bioresource technology*, 325, 124739. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124739>

Raveau, R., Fontaine, J., & Lounès-Hadj, A. (2020). Essential Oils as Potential Alternative Biocontrol Products against Plant Pathogens and Weeds: A Review. *Foods*, 9(3), 365. doi:<https://doi.org/10.3390/foods9030365>

Ramírez-Balboa, G., Balois-Morales, R., León-Fernández, A. E., Bautista-Rosales, P.U., Jiménez-Zurita, J. O., Montalvo-González, E. (2023). Physicochemical and proximal characterization of starch and flour of jicama (Pachyrhizus erosus L.). *Revista Bio Ciencias*, 10 e1427. <https://doi.org/10.15741/revbio.10.e1427>

Rhim, J. y Ng, P. (2019). Películas nanocompuestas basadas en biopolímeros naturales para aplicaciones de envasado. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47 (4), 411–433. <https://doi.org/10.1080/10408390600846366>

Riera, M., & Palma, R. (2018). Obtención de bioplásticos a partir de desechos agrícolas. Una revisión de las potencialidades en Ecuador. *Avances en Química*, 13(3), 69-78.

Riera, M. (2020). Obtención de bioplástico a partir de almidón de maíz (Zea mays L.). *Revista Colón Ciencias, Tecnología Y Negocios*, 7(1), 1-11. doi:<https://doi.org/10.48204/j.colonciencias.v7n1a1>

Rajabimashhadi, Z., Gallo, N., Salvatore, L., & Lionetto, F. (2023). Collagen Derived from Fish Industry Waste: Progresses and Challenges[Collagen Derived from Fish

Industry Waste: Progresses and Challenges]. Polymers, 15(3), 544.
<https://doi.org/10.3390/polym15030544>

Ruiz, J., & Salazar, M. (2021). Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de Citrus paradisi, Juglans neotropica DIELS, Schinus molle y Tagetes elliptica Smith. Revista de la Sociedad Química del Perú, 87(3), 228-241. Epub 00 de julio de 2021.<https://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v87i3.350>

Rueda, Y., Mancilla, L., & Parada, A. (2007). Estudio del aceite esencial de la cáscara de naranja dulce (citrus sinensis variedad, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). *BISTUA*, 5(1), 3-8.
https://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portalIG/home_10/recursos/general/pag_contenido/publicaciones/bistua_revista_ciencias_basica/2007/12082010/rev_bistua_vol5_num1_art1.pdf

Roy, S., & Rhim, J. W. (2022). Genipin-crosslinked gelatin/chitosan-based functional films incorporated with rosemary essential oil and quercetin. *Materials*, 15(11), 3769.
<https://doi.org/10.3390/ma15113769>

Sikkema, J., de Bont, J., & B., P. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol Rev.*, 59(2). doi:10.1128/mr.59.2.201-222.1995

Sado, M., Yusuf, Z., Desta, M., & Idris, M. (2022). Physicochemical Properties, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Sweet Orange (Citrus sinensis L. OSBECK) Fruit Peel and Pulp Oil Extracts. *The Open Biotechnology Journal*, 16(1).
<http://dx.doi.org/10.2174/18740707-v16-e2206160>

Salvatore , L., Gallo, N., Natali, M., Campaña, L., Lunetti, P., Madaghiele, M., Sannino, A. (2020). Marine collagen and its derivatives: Versatile and sustainable bio-resources for healthcare[Colágeno marino y sus derivados: biorecursos versátiles y sostenibles para la atención sanitaria]. *Materials Science & Engineer*, 113. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110963>

Sánchez-Soto, J., López, R., Sánchez-González, A., & Torres-Mendoza, E. (2022). Evaluation of mechanical properties of matrices derived from fish scale collagen [Evaluación de propiedades mecánicas de matrices derivadas de colágeno de escalas de pescado]. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 9(2), 119-129. <https://doi.org/10.23850/24220582.5211>

Sessini, V., & Peponi, L. (2017). Las diferentes caras del exilio. Revista de plásticos modernos: *Ciencia y tecnología de polímeros*, 113(723): 1-10.<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6038279>

Schwarz, A., de Ruiter, R., Zondervan, E., Eijk, F., & Huybrechts, L. (2022). Una economía circular para el plástico. Holland Circular Hostpot.<https://hollandcircularhotspot.nl/wp-content/uploads/2022/05/Una-economia-circular-para-el-plastico-NL-1.pdf>

Seligra, P., Jaramillo, C., Famá, L., & Goyanes, S. (2016). Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch–glycerol with citric acid as crosslinking agent. *Carbohydrate Polymers*, 138, 66-74. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.041>

Shapi'i, R., Othman, S., Nordin, N., Basha, R., & Naim, M. (2020). Antimicrobial properties of starch films incorporated with chitosan nanoparticles: In vitro and in vivo evaluation. *Carbohydrate polymers*, 230, 115602. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115602>

Silva, V., Macedo, M., Rodrigues, C., Dos Santos, A., Loyola, A., & Fante, C. (2020). Biodegradable edible films of ripe banana peel and starch enriched with extract of *Eriobotrya japonica* leaves. *Food bioscience*, 38, 100750.

Singh, G., Bangar, S. P., Yang, T., Trif, M., Kumar, V., & Kumar, D. (2022). Effect on the Properties of Edible Starch-Based Films by the Incorporation of Additives: A Review. *Polymers*, 14(10), 1987. <https://doi.org/10.3390/polym14101987>

Springler, N. (2018). The future of plastic. *Nat Commun*, (9) doi:10.1038/s41467-018-04565-2.

Solano-Doblado, L., Alamilla-Beltrán, L., & Jiménez-Martínez, C. (2020). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(Supl. 2). <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.153>

Souza, V., Pires, J., Vieira, T., Coelhoso, I., Duarte, M., & Fernando, A. (2018). Shelf life assessment of fresh poultry meat packaged in novel bionanocomposite of chitosan/montmorillonite incorporated with ginger essential oil. *Coatings*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/coatings8050177>

SpliKong, I. (2022). Polysaccharide-Based Edible Films Incorporated with Essential Oils Nanoemulsions: A Review. *Polymers*, 14(4), 645.

Sharma, S., Barkauskaite, S., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2021). Essential oils as additives in active food packaging. *Food Chemistry*, 343, 128403.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128403>

Tan, & Chang. (2017). Isolation and Characterization of Collagen Extracted from Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) Skin. *Food Chemistry*, 242, 147-155.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.013>

Tanada, P. & Grossi, C. (2017). Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. *Postharvest Biol Tec*. 2005 May; 36 (2): 199–208.

Trejo, A., Ramos, K., Pérez, C. (2017). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa (*Fragaria Vesca* L.) almacenada en refrigeración. *Grupo Postrecolección y Refrigeración UPCT*; p. 978-984. Cartagena, España

Tang, C., Zhou, K., Zhu, Y., Zhang, W., Xie, Y., Wang, Z., Xu, B. (2022). Collagen and its derivatives: From structure and properties to their applications in food industry. *Food Hydrocolloids*, 131. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107748>

Trinh, B. M., Chang, B. P., & Mekonnen, T. H. (2023). The barrier properties of sustainable multiphase and multicomponent packaging materials: A review. *Progress in Materials Science*, 133, 101071. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2023.101071>

Thompson, D. (1982). Response surface experimentation. *Journal of food process and preservation*, V.6, P. 155

Torres, C. (2022). Obtención de colágeno a partir de subproductos avícolas con potencial uso en la síntesis de materiales poliméricos para aplicaciones biomédicas. Tesis de grado, Universidad del Rosario. <https://repositorio.escuelaing.edu.co/handle/001/2107>

Valdivieso, F., & Mollinedo, P. (2021). Formación de almidón retrogradado relacionado a niveles de amilosa en el almidón de papa (*Solanum tuberosum*) y chuño. *Revista CON-CIENCIA*, 9(2), 84-102. Epub 30 de noviembre de 2021. <https://doi.org/10.53287/mjns8913yn27w>

Velárde-Rodríguez, M., Beltrán-Acosta, A., Pichardo-Velarde, J., & Amezcu-Vega, C. (2015). Extracción de colágeno a partir de pieles de tilapia. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 2(4), 631-639. https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/ciencias_naturales_y_agropecuarias/vol2num4/ciencias%20naturales%20y%20agropecuarias%20vol%202%20num%204%20final_17.pdf

Villarroel, P., Gómez, C., Vera, C., & Torres, J. (2018). Resistant starch: Technological characteristics and physiological interests. *Revista chilena de nutrición*, 45(3), 271-278. <https://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182018000400271>

Wang, J., Shi, C., Fang, D., Che, J., Wu, W., Lyu, L., & Li, W. (2023). The Impact of Storage Temperature on the Development of Microbial Communities on the Surface of Blueberry Fruit. *Foods*, 12(8), 1611. <https://doi.org/10.3390/foods12081611>

Wang, J., Li, Y., Guo, X., Zhu, K., & Wu, Z. (2024). A Review of the Impact of Starch on the Quality of Wheat-Based Noodles and Pasta: From the View of Starch Structural

and Functional Properties and Interaction with Gluten. *Foods (Basel, Switzerland)*, 13(10), 1507. <https://doi.org/10.3390/foods13101507>

Williams, R.; Wu, W.; Tsai, Y.; Bates, G. (1958). Varietal differences in amylose content of rice starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6: 47-48

Wongphan, P., Khowthong, M., Supatrawiporn, T. y Harnkarnsujarit, N. (2022). Nuevas películas comestibles de almidón que incorporan papaína para la ablandación de la carne. *Food Packaging and Shelf Life* , 31 , 100787.

Xu, Q., Torres, J., Hakim, M., Babiak, P., Pal, P., Battistoni, C., Liu, J. (2021). Collagen- and hyaluronic acid-based hydrogels and their biomedical applications [Hidrogeles a base de colágeno y ácido hialurónico y sus aplicaciones biomédicas]. *Mater Sci Eng R Rep*, 146(100641). <https://doi.org/10.1016/j.mser.2021.100641>

Yáñez, X., Lugo, L., & Parada, D. (2019). Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia. Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas,, 5(1), 3-8. <https://www.redalyc.org/pdf/903/90350101.pdf>

Yuqiao, J., & Achyut, A. (2025). Emerging and Innovative Technologies for the Sanitization of Fresh Produce: Advances, Mechanisms, and Applications for Enhancing Food Safety and Quality. *Food*, 14(11), 1924. <https://doi.org/10.3390/foods14111924>

Zhang, Y., Zhang, Y., Liu, X., Huang, L., Zhiyi, C., & Cheng, A. (2017). Influence of hydrolysis behaviour and microfluidisation on the functionality and structural properties of collagen hydrolysates. *Food Chemistry*, 227, 211-218. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.04>

VIII. ANEXOS

8.1.1. ANEXO 1. Ficha técnica del colágeno hidrolizado



8.1.2. ANEXO 2. Obtención de almidón de yuca



a) Recepcion



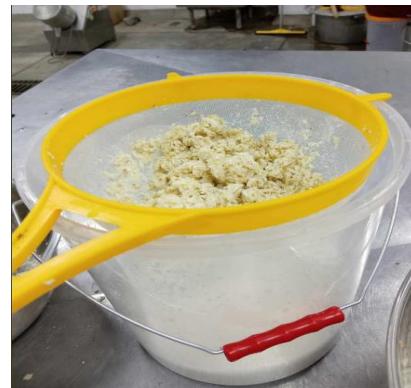
b) Selección



c) Lavado



d) Remojo



e) Molienda



f) Tamizado I



g) Sedimentado I



h) Lavado I



i) Sedimentado II



j) Lavado II



k) Sedimentado III



l) Secado



m) Molienda II



n) Tamizado I

o) Envasado y Almacenado

8.1.3. ANEXO 3. Extracción del aceite esencial de cáscara de naranja

- a) Recolección de la cáscara de naranja.



- b) Pesado de la cáscara de naranja fresca



c) Pesado de la cáscara seca



d) Extracción del aceite por el método arrastre de vapor. Cabe resaltar que por la cantidad se realizó en 2 días.



8.1.4. ANEXO 4. Determinación de humedad en el almidón

Según lo indicado por el método estándar 950.46 A.O.A.C. (2005)

- Pesar las placas Petri limpia y seca (P1)
- Pesar 5 g de almidón en las placas Petri y anotar el peso de la muestra + placas petri (P2) y llevar a la estufa a 100°C por 3 horas.
- Sacar las placas con las muestras secas y colocarlas en el desecador para que se enfrié.
- Pesar y anotar el peso final (P3) donde se pesará el almidón

Cálculos

Humedad en Base Húmeda

$$\%H(bh) = \frac{(P2 - P3)}{(P2 - P1)} \times 100$$

8.1.5. ANEXO 5. Determinación de ceniza en el almidón

Se empleará el método estándar 942.05 A.O.A.C. (2005)

- Secar el crisol por el lapso de una hora, enfriarlo en un desecador y pesarlo de inmediato (P1)
- Pesar 2 gramos de almidón sobre el peso del crisol, llevarlo al horno incinerador por 3 horas a 600 °C.
- Sacar de la mufla y dejar enfriar a temperatura ambiente en un desecador y registrar el peso (P3).

Cálculos:

$$\% \text{cenizas} = \frac{(P3 - P1)}{(P2 - P1)} \times 100$$

8.1.6. ANEXO 6. Determinación de fibra en almidón

Se empleará método enzimático-gravimétrico estándar 985.29 A.O.A.C. (1995), adaptado de (Prosky et al., 1988)

- Se pesará el almidón en un matraz 1 g.
- Se llevará a cabo una incubación con α -amilasa para gelatinizar y licuar los almidones
- Se adicionará proteasa para eliminar proteínas y amiloglucosidasa para hidrolizar oligosacáridos, se trató con etanol al 95% para precipitar la fibra dietética soluble
- Se filtrará el precipitado usando crucibles con filtros de vidrio, se lavará con etanol y acetona y se secará a una temperatura específica hasta peso constante, procediendo a pesar el residuo seco.
- Se secará los crucibles con el residuo en un horno a 105°C hasta peso constante.
- Se enfriará los crucibles en un desecador y pesar para determinar el peso de la fibra dietética total.

Cálculos:

$$\text{Fibra total}(\%) = \left(\frac{\text{Peso del residuo seco} - \text{Peso cenizas}}{\text{Peso muestra original}} \right) \times 100$$

8.1.7. ANEXO 7. Determinación de proteína en almidón

La determinación de proteína se realizará por el método Dumas, según lo indicado en AOAC 990.03 (AOAC, 2005)

- Pesar un peso específico de almidón entre 0.5 a 1 g y colocarlo en el tubo de combustión.
- La muestra se llevará a combustión a alta temperatura (900°C), para que se convierta a óxido de nitrógeno y se reduzca a nitrógeno molecular.
- Se realizará la detección con un Detector de Conductividad Térmica (DCT)
- El factor de conversión a utilizar es de 6.25 para obtener el % de proteína.

8.1.8. ANEXO 8. Determinación de lípidos en el almidón

La determinación de lípidos se realizará según el método AOAC 920.039 (1998) utilizando el método Soxhlet, usando éter de petróleo.

- Se lavará el balón Soxhlet y se pondrá a secar a una estufa de 110 °C por una hora, luego enfriarlo en el desecador y pesar (P1).
- Pesar 3g de almidón, empaquetarlo en papel filtro y pesarlo (P2). y colocarlo en el cuerpo de Soxhlet, luego se agregará éter de petróleo para que se realice un sifoneado hacia el matraz.
- El proceso durara aproximadamente 3 horas, donde el matraz debe sacarse cuando tenga poco contenido de éter.
- Se evapora el matraz a estufa a 60°C y se pesa el balón que tenga grasa. (P3)
- Se determinará la cantidad total de grasa total expresándolo en %.

$$\%Grasa = \frac{(P3 - P1)}{g \text{ muestra}} \times 100$$

8.1.9. ANEXO 9. Determinación de la densidad relativa del aceite esencial

Densidad relativa según la NTP 319.075: 1974

Definiciones y clasificaciones

Densidad a 20°C de un aceite esencial. – Es la relación entre la masa y volumen del aceite esencial calculado a una temperatura de 20°C. Se representa como g/ml (ρ_{20°)

Densidad relativa a 20°C o a 4°C de un aceite esencial. – Es la relación entre la densidad del aceite esencial a 20°C y la del agua destilada a la misma temperatura o a 4°C. No tiene dimensión (d_{20}^{20} o d_4^{20})

Instrumentos

- Balanza analítica.
- Baño María templado a 20°C con un margen de error de 0,2°C.
- Picnómetro de 10 ml de capacidad.
- Termómetro

Procedimiento

- Se lava cuidadosamente el picnómetro y se escurre con etanol y éter dietílico y se seca mediante un equipo de corriente de aire seco.
- Se seca el exterior del picnómetro. Luego se inserta el tapón.
- Se procede a colocar el picnómetro en la balanza analítica por un tiempo de 30 minutos, seguidamente pesar.
- Se llena el picnómetro con agua destilada cuya temperatura debe estar a 20°C y previamente hervida, eliminando cualquier burbuja de aire.

- Se procede a colocar nuevamente el picnómetro a baño María a 20°C y mantenerlo durante 30 minutos. Seguidamente se enrasa con aceite esencial hasta la marca especificada y se coloca inserta el tapón limpiando la parte externa del picnómetro para ser sometido al pesado dejando 30 minutos para pesar el contenido.

Cálculos

La densidad relativa se calcula de la siguiente manera:

$$d_{20}^{20} = \frac{P_2 - P}{P_1 - P}$$

Donde:

P_2 = Masa en gramos del picnómetro repleto de aceite esencial a 20°C

P_1 = Masa en gramos del picnómetro con agua destilada a 20°C

P = Masa en gramos del picnómetro vacío.

8.1.10. ANEXO 10. Determinación del índice de refracción

Según la norma AFNOR NF T 75-112 (ISO 280: 1998)

Definición

Se define como el producto entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción de un determinado rayo de luz a una longitud de onda especificada, cuya acción incide desde el aire traspasando el aceite esencial, a una temperatura constante. La longitud de onda determinada es de 589,3 con un margen de error de $\pm 0,3$ nm. La temperatura para el aceite esencial líquido es de 20°C, de no ser líquidos la temperatura debe ser entre 25°C a 30°C.

Principio

Se puede medir directamente el ángulo de refracción, esto depende del equipo utilizado. Se observa reflexión, manteniéndose el aceite en condiciones de isotropismo y transparencia.

Reactivos

A continuación, se presenta los productos estándar utilizados para calibrar el refractómetro

- 1,3330 valor emitido por el equipo para el agua destilada
- 1,4906 valor emitido por el equipo para el p-cimeno
- 1,5685 valor emitido por el equipo para el benzoato de bencilo
- 1,6585 valor emitido por el equipo para el 1-bromo naftaleno

Procedimiento

Llevar la muestra a la temperatura que se medirá; luego calibrar el equipo con alguno de los productos estándares descritos con anterioridad. Verificar la temperatura del equipo

puesto que no deberá cambiar de la temperatura de referencia en más de $\pm 0,2$ °C durante el ensayo; cabe resaltar que la temperatura es de 20°C. Finalmente esperar a que se estabilice para dar una lectura final.

Cálculos

$$n^tD = n^tD + F (t' - t)$$

n^tD : Valor leída a una temperatura de 20°C

F: Factor de corrección: 0,0004)

t' : Temperatura a la que se efectuó la lectura de la muestra.

t : Temperatura a 20°C.

8.1.11. ANEXO 11. Determinación del índice de acidez

ISO 660:1996

Grasas y aceites animales y vegetales. Determinación del índice de acidez y acidez.

Definición

El índice de acidez se refiere al volumen del gasto expresado en mililitro de hidróxido de sodio o potasio ineludibles para neutralizar la cantidad de ácidos grasos libres en un g de grasa.

Reactivos

- Etanol cuya pureza sea de 95 grados.
- Hidróxido de sodio(NaOH) o potasio(KOH)= 0,1 mol/l.
- Hidróxido de sodio o potasio, solución volumétrica estándar, (NaOH) o (KOH) = 0,5 mol/l.
- Fenolftaleína, solución de 10 g/l en etanol [95°].

Instrumentos

- Instrumento de titulación
- Balanza analítica

Muestreo

La muestra debe ser representativa y encontrarse en buen estado ni mostrar indicios de alteración

Preparación de la muestra

Prepare la muestra de acuerdo a Iso 661, de presentar ácidos grasos volátiles no deben calentarse ni filtrarse.

Procedimiento

• Porción de prueba

Pesar según el índice de acidez esperado

Valor de acidez esperado	Masa de la porción de prueba	Precisión de pesaje de la porción de prueba
<1	20	0,05
1 a 4	10	0,02
4 a 15	2,5	0,01
15-75	0,5	0,001
>75	0,1	0,0002

• Determinación

Calentar hasta el hervor 50 ml de etanol de 95° que contenga 0,5 ml del indicador de fenolftaleína en un segundo matraz. Mientras la temperatura del etanol sea todavía superior a 70 °C, neutralícelo cuidadosamente con una solución de hidróxido de sodio o de potasio 0,1 mol/l (4.3.2). Se termina la titulación cuando la adición de una sola gota de álcali produce una permutación leve del color, pero definido que persiste durante al menos 15 s. Agregue el etanol neutralizado al primer matraz y mezcle bien. Llevar el contenido

al hervor y valorar con la solución de NaOH o KOH, acatando de la acidez esperada del aceite), moviendo el contenido del matraz en la valoración.

- **Cálculo**

$$I.A = \frac{V \times N \times 56.1}{W}$$

Donde:

V: Volumen de la solución gastada de NaOH o KOH (ml)

N: Es la normalidad del NaOH o KOH (mol/l)

W: Es la masa del aceite esencial utilizado (g)

8.1.12. ANEXO 12. Determinación del porcentaje de rendimiento

Para determinar el rendimiento del aceite esencial de cáscara de naranja, se divide la cantidad de aceite expresada en gramos sobre la masa de la materia prima como se muestra a continuación:

$$R = \frac{\rho_{20} \cdot V}{m_p} \cdot 100\% = \frac{\text{masa del aceite esencial}}{\text{masa de la materia prima}}$$

Donde:

R: rendimiento (%)

ρ_{20} = densidad del aceite esencial a una temperatura de 20°C (g/ml)

V= Volumen del aceite esencial de cáscara de naranja(ml)

m_p = Masa de la cáscara de naranja seca (g)

8.1.13. ANEXO 13. Determinación del perfil cromatográfico del aceite esencial

ISO 7609:1985

Aceites esenciales — Análisis por cromatografía de gases en columnas capilares —

Método general

PRINCIPIO

El aceite esencial se analiza por cromatografía de gases bajo condiciones controladas, empleando una columna capilar de reducido diámetro y gran longitud, cuya superficie interna ha sido recubierta previamente con una fase estacionaria específica o con un soporte impregnado.

Cuando corresponde, la identificación de los compuestos se realiza a partir de sus índices de retención.

La cuantificación de determinados constituyentes se lleva a cabo mediante la medición de las áreas de los picos obtenidos en el cromatograma.

APARATO

1. Cromatógrafo de gases: Se emplea un cromatógrafo de gases provisto de un inyector diseñado específicamente para columnas capilares, capaz de introducir volúmenes del orden de microgramos ($\approx 10^{-6}$ g). El equipo cuenta además con un detector apropiado y un sistema de programación de temperatura. Tanto el inyector como el detector disponen de mecanismos que permiten regular y controlar de manera independiente sus condiciones térmicas.

2. Columna capilar: Columna, hecha de un material inerte (por ejemplo, vidrio o acero inoxidable, sílice o sílice fundida) de diámetro interno entre 0,2 y 0,5 mm y longitud entre 15 y 100 m.

3. Grabador e integrador electrónico, cuyas prestaciones deberán ser compatibles con el resto del aparato.

Preparación de la muestra

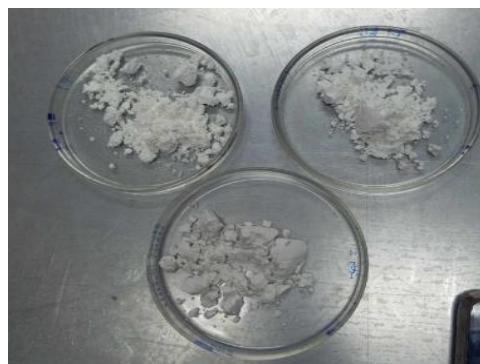
Si la muestra de prueba a inyectar debe someterse a una preparación especial, esto se indicará en la Norma Internacional correspondiente.

Resolución y separación

Para determinar la resolución y/o la separación, inyecte una cantidad adecuada de la mezcla de prueba en las condiciones de la prueba.

8.1.14. ANEXO 14. Caracterización del almidón de maíz

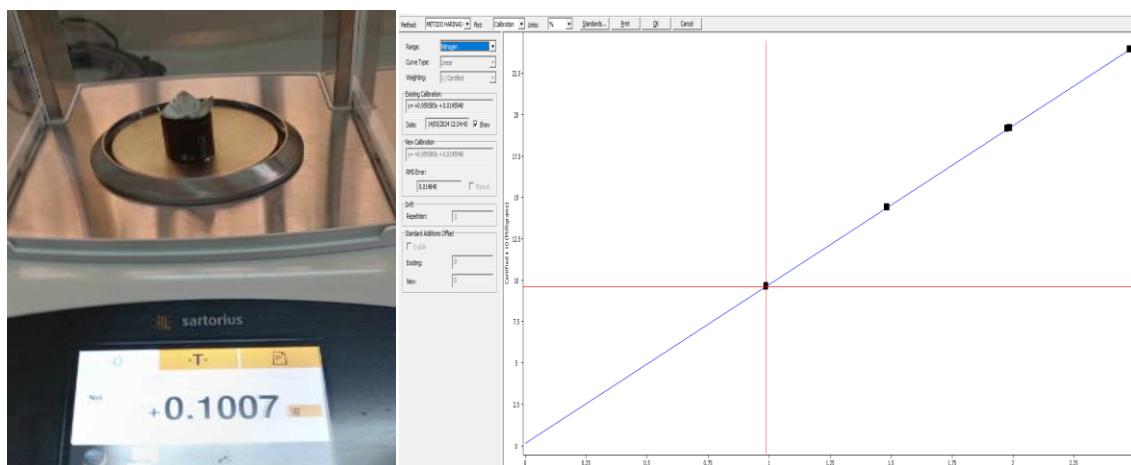
Análisis de humedad del almidón de maíz (*Zeas mays*)



Análisis de ceniza del almidón de maíz (*Zeas mays*)



Análisis de proteína del almidón de maíz (*Zeas mays*)



Análisis de grasa del almidón de maíz (*Zeas mays*)



Pesado

Extracción



Obtención

Pesado

a) Poder de Hinchamiento



8.1.15. ANEXO 15. Análisis de amilosa en el almidón de maíz



Se pesó 0.1 gramo de almidón en un matraz de 100 ml.



Se agregó 1 cm³ de etanol a 199 % y 9 cm³ de solución de hidróxido de sodio 1 M.



Se calentó en baño maría hirviendo por 10 minutos.



Después de enfriar, el volumen se completó con agua destilada.



Se llevó al espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm



Se extrae 5 cm³ de la solución anterior y se añadió 1,0 cm³ de ácido acético 1 M y 2,0 cm³ de solución de yodo.

8.1.16. ANEXO 16. Caracterización del aceite esencial de cascara de naranja

Densidad del aceite



Índice de refracción

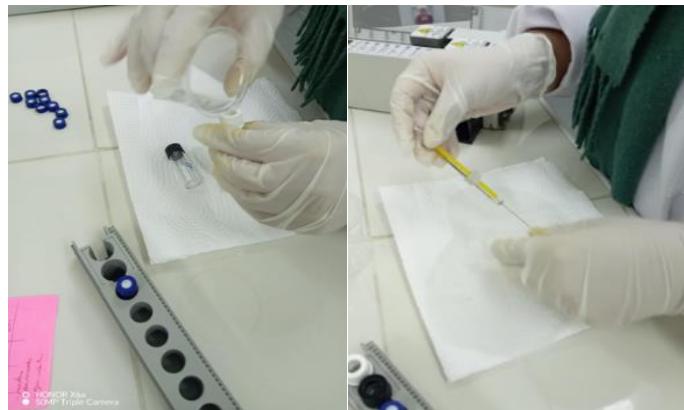


Acidez

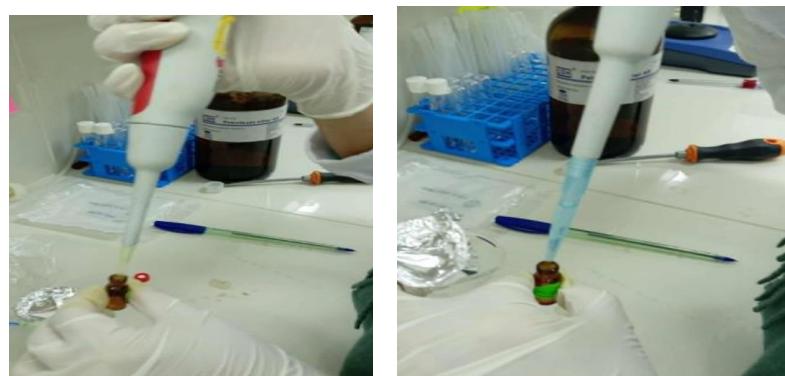


Análisis cromatográfico

- a) Se lavó los viales e inyector con metanol



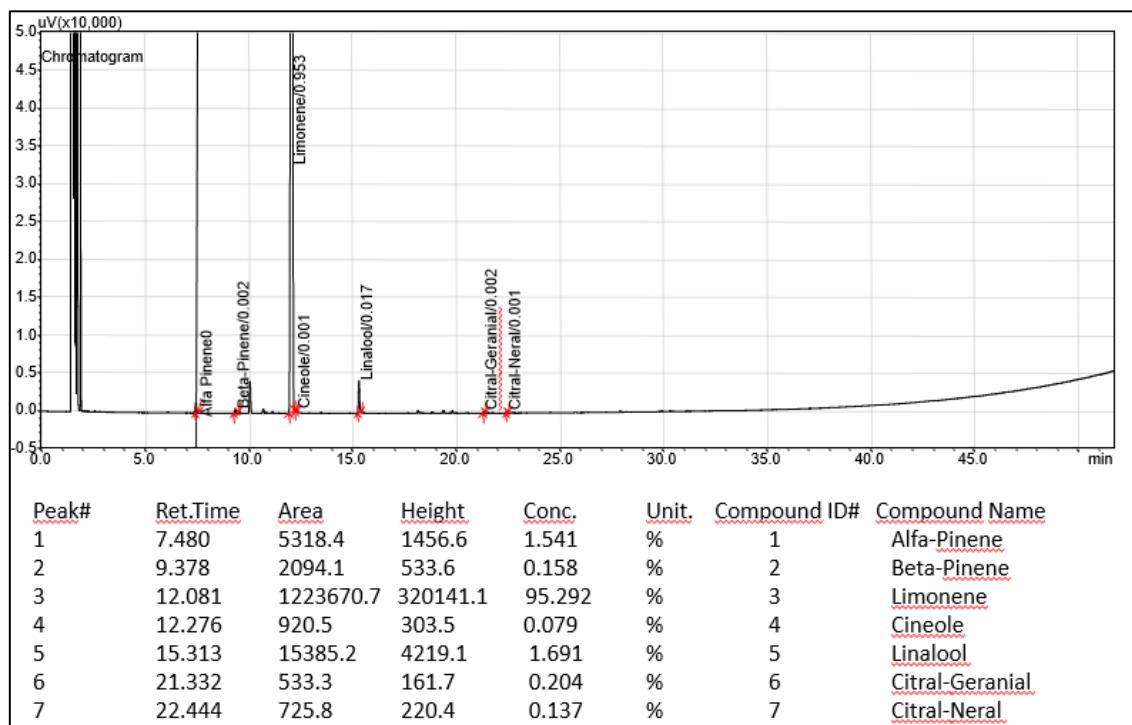
- b) Se rotuló y se mezcló una relación de 1/10 con el éter de petróleo (9 μ ml de aceite y 1 ml de éter) al vial



- c) Se colocó al equipo con los demás reactivos durante 1 hora.



d) Se obtuvieron los siguientes resultados.



8.1.17. ANEXO 17. Obtención del bioplástico

- Pesado de los ingredientes



Almidón

Colágeno

Glicerol

- Se procedió a agregar las cantidades pesadas a los vasos precipitados, junto con el agua para mezclarlo.



- Se procedió a agitar la mezcla por 5 minutos, en un agitador y luego se llevó a baño María a 80°C, donde luego se llevó al agitador y se agregó el glicerol



- Luego se dejó enfriar a 50°C, para proceder a agregar el aceite esencial de cascara de naranja, y se volvió a agitar por 5 minutos.



- Luego se procedió a pesar 45 g de la mezcla, vertiéndola sobre las placas de acrílico, para proceder a llevarlo a estufa a 38 °C por 24 horas.



8.1.18. ANEXO 18. Análisis de Espesor



8.1.19. ANEXO 19. Análisis de Solubilidad

- Se cortaron 3 discos (2 cm de diámetro) de películas por cada tratamiento (se realizaron 3 repeticiones por tratamiento), se colocaron en matraces y se agrego 50 ml de agua.





- Se llevó al shaker a 125 rpm por 24 horas a 25°C. Antes de ejecutar el shaker se esterilizó con uv dentro del equipo por 5 minutos para evitar la presencia de microorganismos en la muestra.



- Paralelamente se cortó el papel filtro a requerir y se secó a 105°C por 4 horas para eliminar la humedad. Pasado ese tiempo se llevó a la campana y se pesó hasta obtener un peso constante. Luego que las muestras se solubilizaran en el shaker se filtró.



- La muestra ya filtrada se colocó en placas petri previamente rotuladas y se dejó en la estufa a 105°C por 24 horas, se puso en la campana y se peso

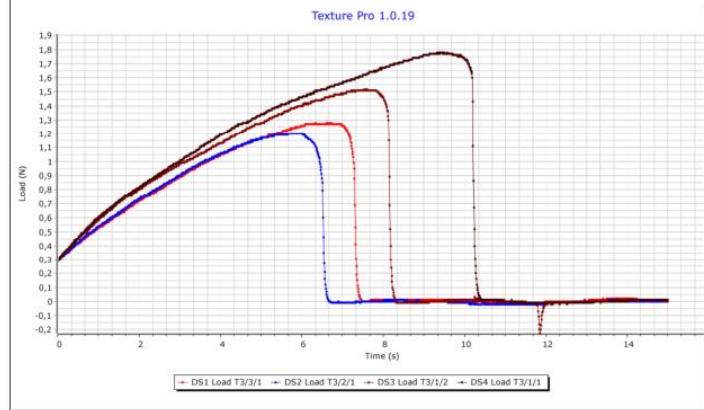


8.1.20. ANEXO 20. Análisis de Opacidad



8.1.21. ANEXO 21. Análisis de las propiedades mecánicas



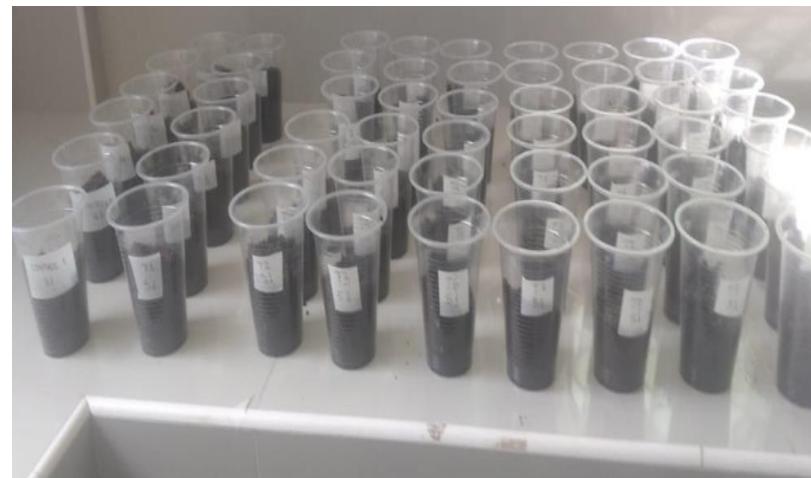
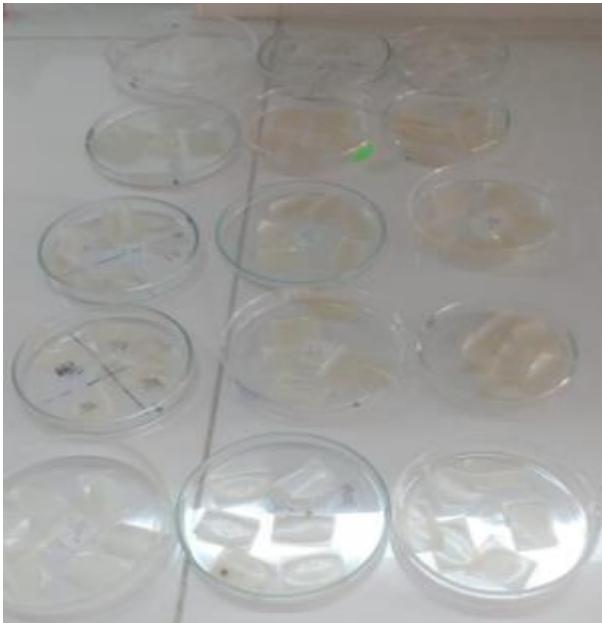
Data Graph:

Brookfield Ametek

Texture Pro 1.0.19 STATISTICAL REPORT

#	Sample Description	Results	Final Load	Mean Load			
			Product Name	Batch Name	Sample	N	N
1	T3	3	1	0,00	0,29		
2	T3	2	1	0,00	0,29		
3	T3	1	2	0,00	0,30		
4	T3	1	1	0,01	0,30		
Calculation Settings: Mean Load: 0 s to 0 s		Minimum	0,00	0,29			
		Maximum	0,01	0,30			
		Average	0,00	0,30			
		Standard Deviation	0,00	0,01			

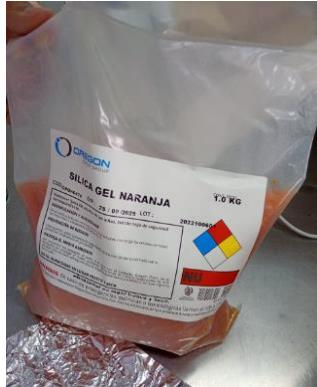
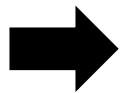
8.1.22. ANEXO 22. Análisis de la biodegradabilidad del bioplástico



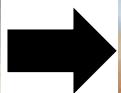
8.1.1. ANEXO 23. Análisis de permeabilidad de vapor de agua



Se acondicionó la campana con agua 48 horas antes del análisis.



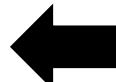
Se agregó 9 gramos de gel de sílice en cada copa de permeabilidad.



Se cortaron las películas y se ajustaron de acuerdo a la forma de las copas.



Las mediciones de peso se efectuaron a intervalos de una hora durante un total de 7 horas.



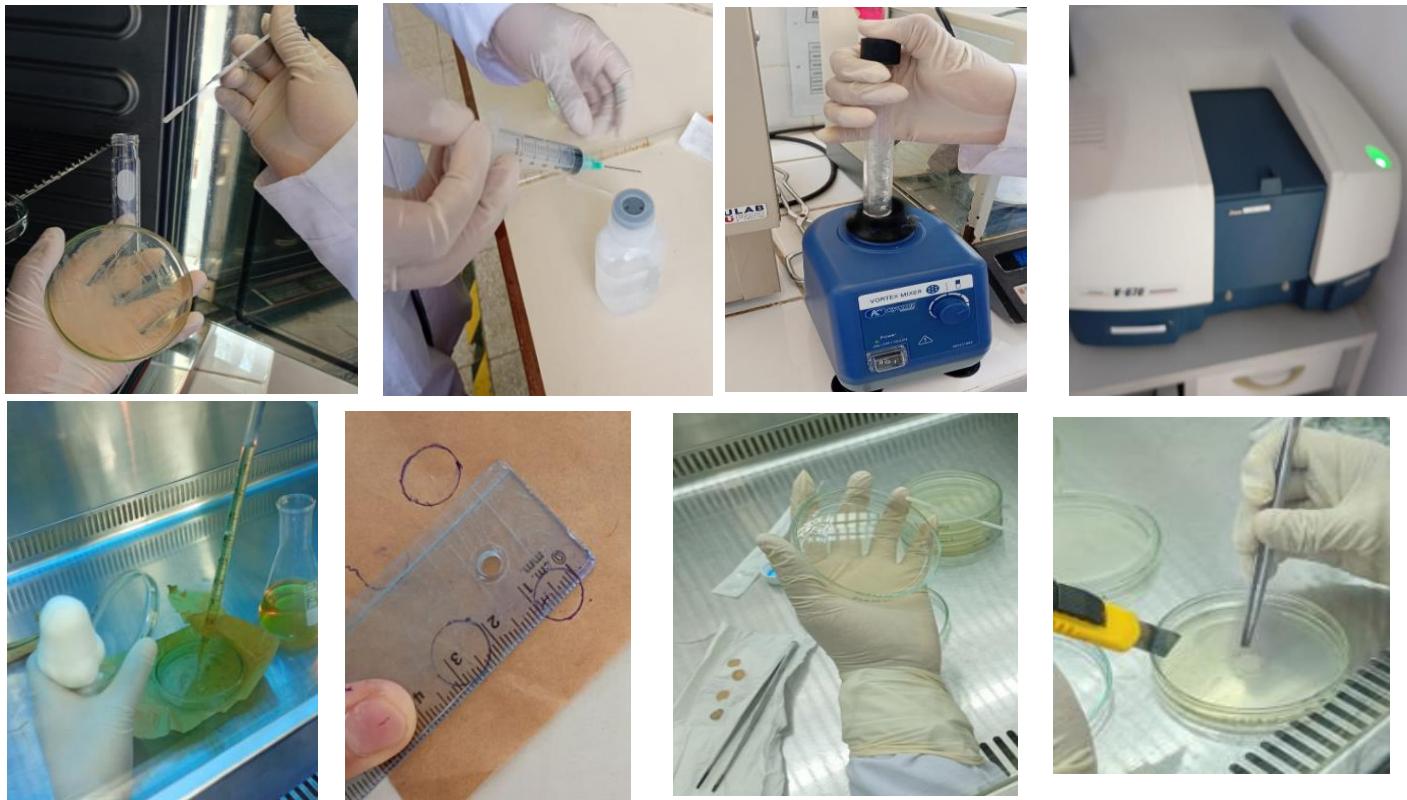
Se colocaron dentro de la campana previamente acondicionada con agua.

8.1.1. ANEXO 24. Análisis Antimicrobiano

Activación de la cepa



Preparación del inoculo



Antibiograma

8.1.2. ANEXO 25. Acondicionamiento de las fresas

Lavado y Desinfección



Sellado y envasado



Almacenamiento



8.1.3. ANEXO 26. Caracterización de las fresas

Solidos Solubles



Acidez



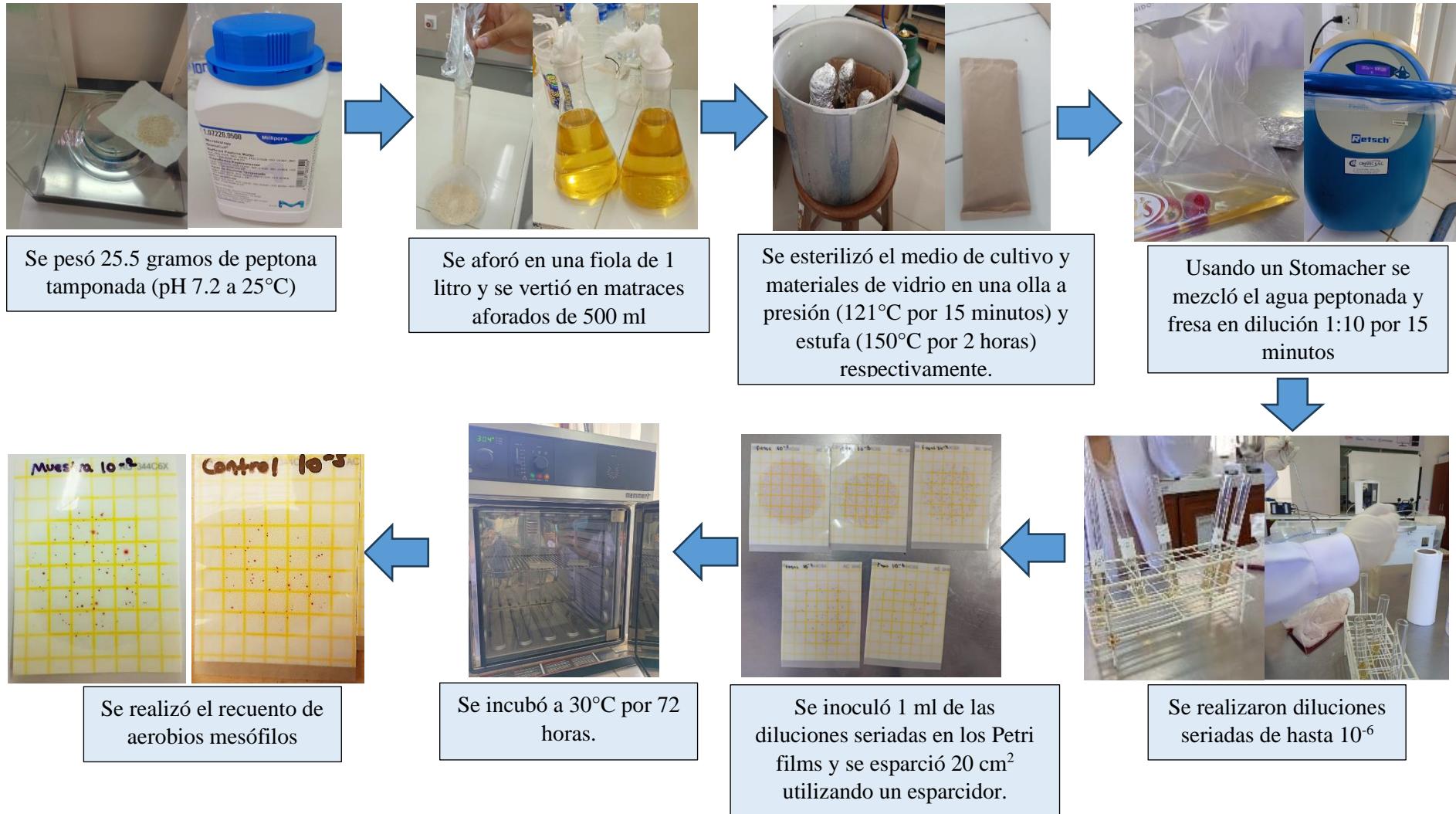
PH



Peso



8.1.4. ANEXO 27. Análisis microbiológicos de la fresa



8.1.5. ANEXO 28. Películas obtenidas



T1

T2

T3



T4



T5



T6



T7



T8



T9



T10

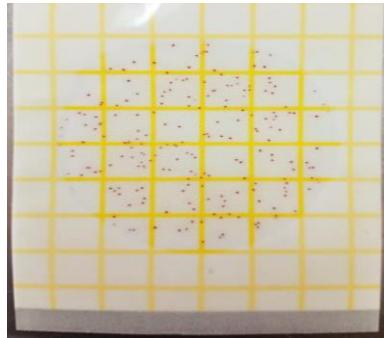
T11

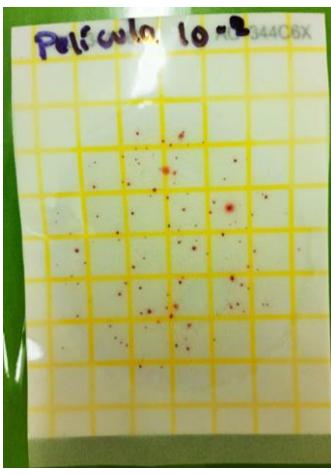
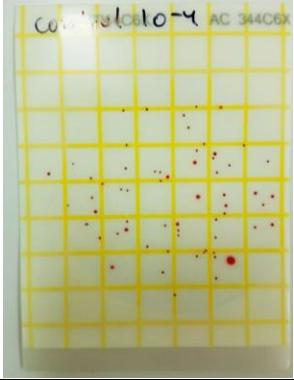
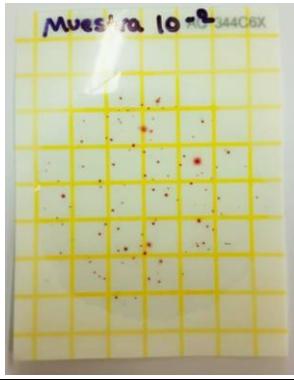
T12

8.1.6. ANEXO 29. Resultados fisicoquímicos de la fresa

		Días	0	3	6	8	10	15
ph	Control	R1	3.41	3.409	3.95	3.97	3.77	3.76
		R2	3.48	3.40	3.81	3.96	3.75	3.77
		R3	3.44	3.377	3.86	3.96	3.72	3.77
	Bioplástico	R1	3.41	3.57	3.9	3.91	3.93	3.81
		R2	3.48	3.55	3.87	3.9	3.94	3.8
		R3	3.42	3.546	3.74	3.9	3.95	3.81
Brix	Control	R1	5.3	5.5	5.1	4.3	4	3.1
		R2	5.2	5.8	5.08	4.3	3.9	3.15
		R3	5.2	5.7	5.02	4.2	3.75	3.2
	Bioplástico	R1	5.3	6.2	5.43	5.9	5.2	4.4
		R2	5.2	6.1	5.6	5.75	5.15	4.3
		R3	5.5	6.7	5.5	5.8	5.22	4.4
Acidez	Control	R1	0.56	0.77	0.51	1.15	1.28	1.41
		R2	0.58	0.77	0.96	1.02	1.54	1.28
		R3	0.58	0.90	1.22	1.15	1.41	1.15
	Bioplástico	R1	0.35	0.61	0.70	0.96	1.02	1.02
		R2	0.38	0.58	0.83	1.02	0.90	1.15
		R3	0.34	0.61	0.64	1.15	1.09	1.02

8.1.7. ANEXO 30. Registro fotográfico del análisis microbiológico

Registro fotográfico		
Día	Control	Tratamiento
0	Dilución: 10^{-3}	
3	Dilución: 10^{-2}	Dilución: 10^{-2}
		
6	Dilución 10^{-4}	Dilución 10^{-2}

		
8	Dilución 10^{-4}	Dilución 10^{-2}
		
15	Dilución 10^{-6}	Dilución 10^{-5}
	