



Elaboración de bioempaques a partir de almidones nativos y aceites esenciales prolongando vida útil en fresas

Preparation of bio-packages from native starches and essential oils prolonging shelf life in strawberries

Camila Andrea Ubaque Beltran¹, Iván Fernando Flórez²

Recibo: 17.01.2018 Aceptado: 20.03.2018

Ubaque, C. y Flórez, I. (2018). 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. doi:<http://dx.doi.org/10.23850/24220582.1354>

Resumen

Los empaques protegen y preservan los productos de contaminantes, especialmente de tipo biológico. Para esta investigación se elaboraron Bioempaques activos, compuestos por Almidón nativo, aceites esenciales y extractos naturales prolongando el tiempo de vida útil de Fresas. El Bioempaque surge como alternativa para disminuir la contaminación ambiental generada por el uso indiscriminado de plástico de origen sintético. Se trabajó con materias primas como: (Malanga, Achira, Flor de un día, Paturro blanco, Coyo y Bore) con características formadoras de películas plásticas de origen natural provenientes de Cundinamarca, cada materia prima presentó porcentaje de almidón aprovechable; Malanga contó con el mayor porcentaje de almidón 38%. Se usaron aceites esenciales naturales: Canela, Toronjil, Romero, Laurel, Albaca, Tomillo y Extracto etanólico de Propóleo, obtenidos mediante extracción con solventes, los cuales presentan principios activos reconocidos por su actividad antimicrobiana, los aceites esenciales de Romero, Canela y el extracto etanólico de Propóleo, presentaron mayor capacidad inhibitoria frente a presentaron mayor capacidad inhibitoria frente a cepas de (*Botrytis cinera*, *E. coli* y *S. aureus*). La medición de la vida útil se obtuvo mediante resultados de recuento en placa, analizando fresas evaluadas a 4°C, 18°C, 22°C y 16°C. Se analizaron muestras con y sin el Bioempaque, modelados con la ecuación de Arrhenius, el resultado reflejó que la utilización de Almidón nativo con la presencia de aceites esenciales inhibe el crecimiento microbiano aumentando el tiempo de vida útil de fresas en un 46% dada la disminución en la velocidad del crecimiento microbiano.

Palabra clave: biopolímero, biodegradable, antimicrobiano natural, microbiología predictiva.

¹Servicio Nacional de Aprendizaje SENA; kami_ubaque@hotmail.com; Colombia

²Servicio Nacional de Aprendizaje SENA; ifflorezp@yahoo.es; Colombia

Abstract

The packaging protects and preserves the products of contaminants, especially of biological type. Bio-active packaging, made up of native starch, essential oils and natural extracts, was elaborated for this research, prolonging the useful life of Strawberries. Bio-packaging emerges as an alternative to reduce environmental pollution generated by the indiscriminate use of plastic of synthetic origin. This work was made with raw materials such as: Malanga, Achira, Flor de un día, Paturro blanco, Coyo and Bore with characteristics of plastic films of natural origin from Cundinamarca, each raw material presented usable percentage of starch; Malanga had the highest percentage of 38% starch. Natural essential oils were used: Cinnamon, Toronjil, Rosemary, Laurel, Albaca, Thyme and Propolis ethanol extract, obtained by solvent extraction, which present active principles recognized for their antimicrobial activity, essential oils of Rosemary, Cinnamon and extract ethanol from Propolis, showed greater inhibitory capacity against (*Botrytis cinerea*, *E. coli* and *S. aureus*), strains analyzed due to their incidence in the useful life of the strawberries. The measurement of the useful life was obtained by means of plate count results, analyzing strawberries evaluated at 4°C, 18°C, 22°C and 16 ° C. Samples were analyzed with and without the Bio-packing, modeled with the Arrhenius equation, the result showed that the use of native starch with the presence of essential oils inhibits microbial growth, increasing the useful life of strawberries by 46% the decrease in the speed of microbial growth.

Keywords: biopolymer, bioplastic biodegradable, natural antimicrobial, predictive microbiology

Introducción

Los empaques en el ámbito industrial se usan principalmente con el objetivo, de proteger y preservar los productos de contaminantes, especialmente de tipo biológico (Tharanathan, 2003). Los plásticos de origen sintético sin duda representan grandes beneficios de hecho, se encuentran involucrados en diferentes ámbitos principalmente en el área industrial, actualmente representan una gran preocupación debido a su uso indiscriminado a nivel mundial y su extenso tiempo de degradación (Entre 100 y 1000 años), no se reincorporan fácilmente a los ciclos naturales, permaneciendo por largos periodos y afectando de diferentes maneras los lugares donde quedan dispuestos (Maldonado, 2012).

Los plásticos en general, son derivados del petróleo y debido a sus propiedades estos

compuestos son ampliamente usados debido a la facilidad con que pueden ser trabajados o moldeados, su impermeabilidad, su baja densidad, su baja conductividad eléctrica, su resistencia a la corrosión y a la intemperie, su resistencia a diversos factores químicos y biológicos y, en buena medida, su bajo costo. Sin embargo, han resultado inconvenientes para el manejo de los desechos que se generan con el uso creciente de estos materiales (Segura, Noguez y Espín, 2017).

Con el objetivo de mitigar esta situación, se ha generado la necesidad de investigar con materias primas que sean de origen natural cien por ciento biodegradables y que compartan características formadoras de películas similares a las que presentan los plásticos sintéticos. Los biopolímeros provienen de cuatro grandes fuentes: origen animal (colágeno/ gelatina), origen marino (quitina/quitosan), origen agrícola

(lípidos y grasas e hidrocoloides: proteínas y polisacáridos) y origen microbiano Ácido Poliláctico (PLA) y Polihidroxialcanoatos (PHA) (Tharanathan, 2003).

Las investigaciones en empaques biodegradables basadas en almidón se iniciaron desde 1970 y continúan actualmente en varios laboratorios del mundo (Villada, Acosta y Velasco, 2007). En esta investigación, se utilizaron diferentes materias primas las cuales, contienen cierto contenido de almidón, sustrato indispensable para el desarrollo de esta investigación. El almidón es considerado un polímero natural lo cual, indica que es renovable, es un polisacárido muy utilizado debido a sus características espesantes, estabilizantes y gelificante en la industria alimentaria (Acosta 2013).

Por su parte, los aceites esenciales, materia prima fundamental de esta investigación son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas, los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como son: expresión, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles y con fluidos supercríticos (González, Kafarov y Guzmán, 2009).

En esta investigación se aplicó la extracción con solventes volátiles en el equipo Soxhlet, la extracción se aplicó a plantas aromáticas debido a que se ha encontrado que la actividad antimicrobiana presentada por los aceites esenciales es debida, en gran medida a la presencia de un tipo de compuestos denominados terpenoides. Por otro lado, varios estudios han demostrado que son los principales contribuyentes de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, siguiendo en orden de actividad estos compuestos contienen grupos alcoholes, luego los que poseen aldehídos y por último los que tienen grupos

cetónicos (Maguna, Romero, Garro y Okulik, 2006). Estudios reportan sobre las diferentes actividades biológicas que presentan los aceites esenciales, tales como insecticidas, antioxidante y efecto antibacteriano.

Para lograr la elaboración de un Bioempaque exitosamente se quiere de un agente plastificante el cual se define como un material, que se incorpora a un plástico para facilitar su proceso y mejorar su flexibilidad o distensibilidad, el cual debe ser compatible con el almidón (Batواني, 2015), para esta investigación se usó glicerina, ácido acético y agua.

La fresa es una fruta no climatérica, altamente apreciada por los consumidores debido a sus excelentes propiedades organolépticas. Sin embargo, su conservación constituye un problema para los productores y la industria (Beltrán, Ramos, Álvarez, 2010), debido a que esta fruta se ve afectada por diferentes microorganismos como hongos del género *Botrytis cinérea*, Coliformes totales y fecales, bacterias mesofilas como *S. aureus* entre otros, por tal motivo se evalúa la vida útil de estas frutas, la cual depende de muchos factores entre ellos: Formulación, procesamiento, empaque, almacenamiento y manipulación.

Para llevar a cabo la predicción del tiempo de vida útil de un alimento se puede realizar de diversas formas entre ellas el modelo de Arrhenius el cual es un modelo cinético que establece la relación del crecimiento microbiano con respecto a la temperatura como factor extrínseco determinante en el crecimiento microbiano.

El objetivo de esta investigación tiene como fin elaborar Bioempaques a partir de Almidones nativos y aceites esenciales de la región de Cundinamarca, debido a sus componentes el bioempaque funciona como un empaque activo que permitirá prolongar el tiempo de vida útil de las frutas del género *Fragaria*, aprovechando

la gran producción con la que se cuenta en esta región generando una economía sostenible basada en el cultivo de las materias primas usadas para esta investigación y disminuyendo el impacto ambiental generado por el uso indiscriminado de plástico sintético.

Materiales y métodos

Extracción del almidón, aplicación de la ecuación de rendimiento

La primera etapa que se desarrollo fue la Extracción del almidón: las materias primas fueron obtenidos de fincas de la Región Cundinamarca, Colombia (*Malanga, Achira, Flor de un día, Paturro blanco, Coyo y Bore*), cada almidón fue extraído mediante el método de extracción del almidón establecido por la FAO (García, Pinzón y Sánchez, 2013).

Una vez extraído el almidón, se realizó la medición del porcentaje de rendimiento del almidón, mediante la siguiente ecuación.

$$\%R = \frac{P_{\text{Obtenido}}}{P_{\text{Insumo}}} \times 100\%$$

Los resultados se reportaron en la Figura 1.

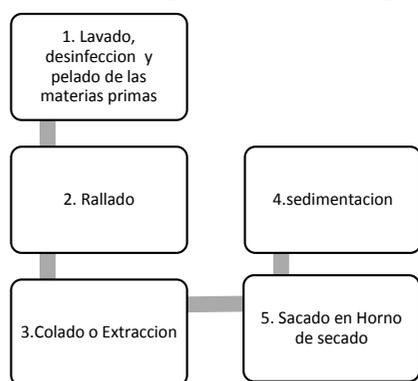


Figura 1. Procedimiento Extracción del Almidón en el laboratorio

Donde:

P Obtenido: Peso que se obtuvo luego del procesamiento (g)

P Insumo: Peso del insumo base (g)

Extracción aceite esencial

Simultáneamente, se realizó la extracción del aceite esencial y otros extractos de plantas aromáticas, utilizadas en estudio (Canela, Toronjil, Romero, Laurel, Albaca, Tomillo) y Extracto etanólico de propóleo después de un proceso de limpieza y desinfección se adicionaron en pequeños cortes de 15 gramos colocados en papel filtro y allí se pasaron por el equipo Soxhlet con el objetivo de extraer aceite esencial, este proceso, se compone principalmente de un balón aforado que contiene el solvente orgánico (Bencina), el cual es llevado a ebullición, el sistema también cuenta con un tubo Soxhlet en donde se incorpora la muestra y un condensador. Por evaporación el solvente se condensa y va cayendo al tubo soxhlet en el cual finalmente se extrae el aceite contenido en la muestra (Canela, Toronjil, Romero, Laurel, Albaca, Tomillo), cuando el tubo está lleno de solvente, este es sifonado hasta el balón que contiene el resto de solvente (Gonzalez 2009), el proceso se repite con todas las materias primas, como resultado de la extracción se obtuvieron 4ml de cada aceite esencial aproximadamente, los cuales fueron almacenados en frascos ámbar a temperatura de refrigeración.

Se utilizó Bencina como solvente debido, a que es no polar, selectivo para la extracción de lípidos no polares. Teniendo en cuenta sus características químicas se usó en la mínima cantidad posible según el requerimiento del método de extracción, se aplicó esta medida de seguridad debido a que de una u otra forma las fresas tendrán un contacto ínfimo superficial con el Bioempaque por otro lado el aceite esencial extraído con este solvente solo representó el 0.52 % del total de la mezcla para la elaboración del Bioempaque, de hecho uno de los inconvenientes de este tipo de solvente es su alta volatilidad, lo que conlleva a una alta pérdida del solvente durante el proceso de extracción (González, Kafarov y Guzmán, 2009).

Para realizar la extracción del propóleo, se recolectaron alrededor de 200g, dicha cantidad fue fraccionada en trozos más pequeños para facilitar la extracción, dichos trozos se adicionaron a 400ml de etanol al 90%, y se mantuvo en agitación continua por cuatro días. Utilizando papel filtro Whatman No. 1, se separó la fase superior líquida por medio de filtración al vacío, para eliminar con ello los sólidos incluidos. El etanol contenido en dicha fase fue evaporado en un rotoevaporador accionado a 90rpm y 80°C. El extracto blando final fue Re-suspendido con agua destilada, obteniéndose así el extracto acuoso. Tintura de propóleo, obtenida con etanol concentrado al 96%, fue utilizada como tratamiento de referencia extracto etanólico, (Bucio 2107). Todos los aceites y extractos obtenidos fueron almacenados en frascos ámbar a temperatura de refrigeración.

Elaboración del Bioempaque

Para realizar el Bioempaque se utilizan los aceites y extractos obtenidos, el almidón, agua, ácido acético y glicerina en los siguientes porcentajes consecutivamente. En primer lugar se llevó el almidón obtenido a un recipiente el cual representa el 23% de toda la mezcla, con la adición de agua 71,5% de la mezcla total hasta punto de ebullición y con agitación constante logrando obtener una mezcla homogénea.

En este momento se agrega 1,2,3-propanotriol el cual representa el 4.7% de la mezcla total con agitación constante durante 15 minutos el cual actúa como plastificante, paso seguido se agregó ácido acético 0.28% como estabilizante de pH sin dejar de agitar, se bajó la temperatura a 50°C y allí se agregó el aceite esencial o extracto etanólico de propóleo obtenido anteriormente el cual representa el 0.52% de la mezcla se homogenizó y se vertió sobre moldes de 30cm x 50cm.

Evaluación capacidad Antimicrobiana

Mediante siembra en superficie y diluciones seriadas, se evaluó la capacidad inhibitoria de los diferentes aceites esenciales frente a cepas de Bacterias (*E. coli*, *S aureus*) y hongos del género (*Botrytis cinérea*), para este fin se impregnan pequeños discos estériles en los diferentes aceites esenciales obtenidos los cuales son puestos equidistantemente en cajas de petri sembrada con una cepa de cada uno de los microorganismos en agar correspondiente Chromocult, Baird Parker y YGC respectivamente mediante diluciones seriadas (Herrera y Garcia, 2006), allí se evaluaron diferentes temperaturas: 44, 5, 35°C y 22°C, temperaturas óptimas de crecimiento de los microorganismos evaluados mencionados anteriormente, pasado el tiempo de incubación 24 horas para *E.coli* y *S aureus* y 5 días para *Botrytis cinérea* se realizó la Medición de los halos de inhibición, estos resultados fueron presentados en milímetros.

Diseño experimental

Para dar inicio al procedimiento se almacenaron varias fresas a diferentes temperaturas, estas fueron separadas en dos grupos definidos como: 1) Fresas almacenadas sin el uso del Bioempaque y 2) Fresas almacenadas con el uso del Bioempaque, las muestras fueron analizadas cada 6 horas durante un total de 48 horas,. Para realizar el procesamiento de la muestra se retiró el bioempaque y se procedió a la aplicación del protocolo en laboratorio.

Procedimiento de laboratorio

De manera estéril fueron pesados 10g de muestra, los cuales fueron macerados en un mortero, los 10g de fresa macerada fueron pasados a 90ml de agua peptonada al 0.1% p/v contenidos en un frasco de vidrio estéril con capacidad de 250ml, la solución obtenida se homogenizó en un vortex y a partir de esta se

realizaron diluciones seriadas de 1ml en tubos de ensayo los cuales contenían cada uno 9ml de agua peptonada a concentración 0,1% p/v y fueron rotulados como dilución 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} a partir de cada uno de estos tubos de ensayo y según la dilución se inoculó 1 ml de muestra en profundidad en las cajas petri rotuladas según la dilución por duplicado. El recuento fue realizado en el agar YGC. Las cajas petri fueron selladas y llevadas a incubadoras según temperatura definidas para el modelo.

Calculo de vida útil mediante la ecuación de Arrhenius

El tiempo de vida útil de las frutas del género *Fragaria* se calculó mediante la aplicación de la ecuación del modelo de Arrhenius respecto a la cepa *Botrytis cinérea* (debido a la gran incidencia que presenta sobre estas frutas), determinando el rango experimental y seleccionando el factor extrínseco temperatura: 1) Temperatura de refrigeración **T1**: 4°C, 2) Temperatura de cosecha **T2**: 18°C, 3) Temperatura de almacenamiento **T3**: 22°C y 4) Temperatura óptima para almacenamiento **T Vida Útil**: 16°C.

Parámetros iniciales del modelo

a) Carga inicial de UFC/g: Correspondiente al recuento microbiológico de las fresas en el tiempo cero. Para hallar este valor, se calculó el número de unidades formadoras de colonia sobre 10 gramos de muestra analizada mediante la ecuación para recuento microbiológico de la (NTC 4092).

$$N = \frac{\sum C}{V (n_1 + (0,1 \times n_2))d}$$

b) Carga límite de UFC/g: Se estableció el valor máximo permitido, el cual es determinante debido a que este nos indica el momento en que el alimento evaluado termina su periodo de vida útil. Este dato se obtuvo de la norma vigente (Resolución 3929 de 2013), por la cual se estableció que el valor máximo permitido de las fresas para el parámetro de Mohos y levaduras es de 3000 UFC/gramo.

c) Valores de carga microbiana de cada periodo: De forma análoga al cálculo de la Carga inicial de UFC/g, se realizaron los diferentes cálculos para los datos de laboratorio obtenidos de los recuentos en placa en cada periodo mencionado, los datos se relacionan en las Tablas 1 y 2.

La aplicación del modelo de Arrhenius (Cabeza, 2011), permitió calcular el tiempo de vida útil de las fresas para esta investigación en los dos grupos evaluados, esto es, las fresas con la presencia del Bioempaque y las fresas almacenadas sin esta protección.

Aplicación del modelo al grupo de fresas protegidas con el Bioempaque

Para aplicar el modelo de Arrhenius se tomaron los datos de las fresas almacenadas con el bioempaque presentados en la Tabla 1.

Con lo cual, dados los parámetros iniciales:

$$\text{Carga inicial (UFC/g)} = 50$$

$$\text{Carga límite (UFC/g)} = 3000$$

Tabla 1.

Recuento de las UFC para la cepa (B. cinerea) frente a las temperaturas de evaluación del modelo de Arrhenius con el uso del bioempaque desarrollado.

	t (Horas)	(UFC/g)		
		4	18	22
T0	0	45	50	55
	6	53	87	98
	12	59	107	156
	18	65	120	187
	24	71	156	256
	30	79	187	309
	36	85	214	375
	42	91	234	402
Tf	48	99	270	449

Fuente: Construcción propia

Para los valores obtenidos de la Tabla 1, se realizó el calculado de los valores de las constantes de la ecuación de Arrhenius obteniendo (μ) valor que representa la pendiente estimada y que relaciona el comportamiento de cada conjunto de datos a las diferentes temperaturas evaluadas en el laboratorio.

Aplicación del modelo al grupo de fresas almacenadas sin el Bioempaque

Al mismo tiempo se evaluó el comportamiento del crecimiento microbiano sin la utilización del Bioempaque con lo que se observó un aumento de actividad según los datos relacionados en la Tabla 2.

Usando el mismo método de cálculo, el valor obtenido sin protección adicional para las fresas fue una velocidad de crecimiento específico de $0,04441533 \ln \text{ufc/g} \cdot \text{h}$.

Resultados y discusión

Porcentaje de rendimiento: Para determinar el porcentaje de almidón de materiales evaluados se aplicó la fórmula de porcentaje de rendimiento

Tabla 2.

Recuento de las UFC para la cepa (B. cinerea) frente a las temperaturas de evaluación del modelo de Arrhenius sin la utilización de bioempaques.

	t (Horas)	(UFC/g)		
		4	18	22
T0	0	45	50	55
	6	50	68	84
	12	63	80	98
	18	90	96	110
	24	100	124	130
	30	120	188	240
	36	200	240	300
	42	280	335	380
Tf	48	360	420	430

Fuente: Construcción propia

de almidón obteniendo una relación porcentual respecto a la cantidad aprovechable del mismo, esta relación se observa en la Figura 2.

A excepción del “Coyo” y del “Paturro Blanco” las demás materias primas evaluadas presentaron un porcentaje de rendimiento de almidón aprovechable fundamental para la posterior obtención del Bioempaque. Según los resultados obtenidos la extracción de almidón a partir de Malanga representan el 38 % de rendimiento, Achira represento un 35 %, Bore 33 % y flor de un día 16% de almidón estos resultados fueron representativos debido a que nos ofrece gran variedad de materias primas que ofrecen un porcentaje considerable de almidón aprovechable para la elaboración de Bioempaques. La composición del almidón y funcionalidad únicos, dependen de varios factores como: su estructura, morfología, genotipo, ubicación geográfica y prácticas de cultivo. Las fuentes principales para la obtención de almidones son: los cereales, raíces, tubérculos y leguminosas. En nuestro país los almidones más utilizados son de maíz, papa, yuca y arroz, sin embargo, existe otras fuentes menos conocidas como las utilizadas

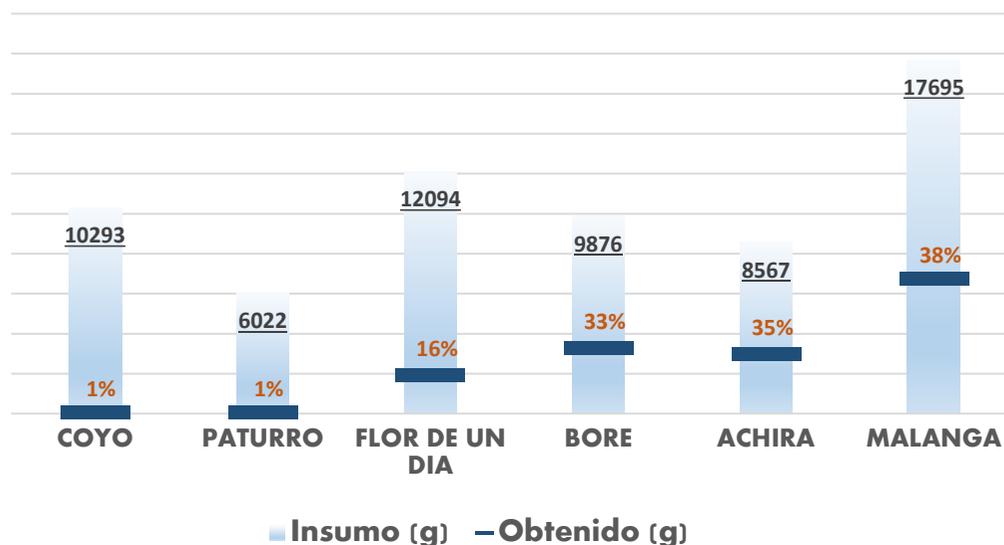


Figura 2: Nivel de aprovechamiento de almidón respecto al insumo utilizado (Porcentaje de rendimiento)

Fuente: Construcción propia

en esta investigación, pero no por ello menos importantes (Acosta, 2013) las cuales no han sido muy estudiadas y en algunas ocasiones crecen como maleza en nuestra región sin ninguna valor comercial e industrial.

Medición de la actividad antimicrobiana:

Los resultados encontrados corresponden a los halos de inhibición formados por la presencia de dichos agentes antimicrobianos. Los resultados se registran en la Tabla 3, 4 y 5, los valores se tomaron en milímetros.

Análisis estadístico: Los datos de cada medición en los diferentes tratamientos fueron tratados mediante un análisis de varianza de una vía ($P \leq 0,05$) relacionando el comportamiento de los halos de inhibición para los agentes antimicrobianos: toronjil, romero, canela, albaca, laurel, tomillo y propóleo.

Dado que se evidenciaron diferencias significativas entre los grupos se estableció estadísticamente mediante el Test Honestly-significant-difference (HSD) de Tukey ($P \leq 0,05$) dos grupos principales:

Grupo A: Toronjil, albaca, laurel y tomillo
Grupo B: Romero, canela y propóleo

El Grupo B enmarca a los agentes antimicrobianos con mayor capacidad inhibitoria frente a cepas de *E. coli* y *S. aureus* y *Botrytis cinerea* evaluadas a temperaturas de 44,5°C, 35°C y 22°C (óptimas para el crecimiento de los microorganismos evaluados respectivamente), siendo el propóleo el agente antimicrobiano que presenta la mayor capacidad de actividad antimicrobiana frente las cepas evaluadas (Tabla 6 y 7).

De los resultados anteriores se establecen los dos grupos A y B mencionados anteriormente. La validación de comportamiento para las cepas *S. aureus* y *B. cinerea* se realizó de manera análoga, encontrando un comportamiento similar.

A continuación se presentan algunos gráficos representativos del comportamiento de los agentes antimicrobianos frente a las cepas evaluadas (Figura 3, 4, 5).

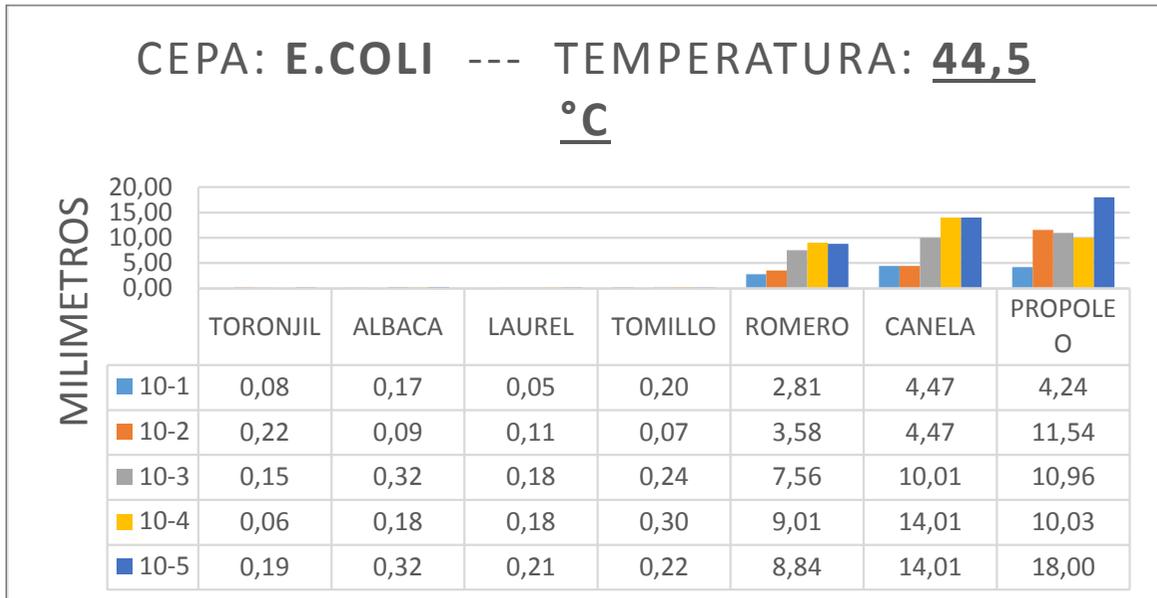


Figura 3. Comparativo del comportamiento antimicrobiano para una cepa *E.Coli*. y temperatura especificada

Fuente: Construcción propia

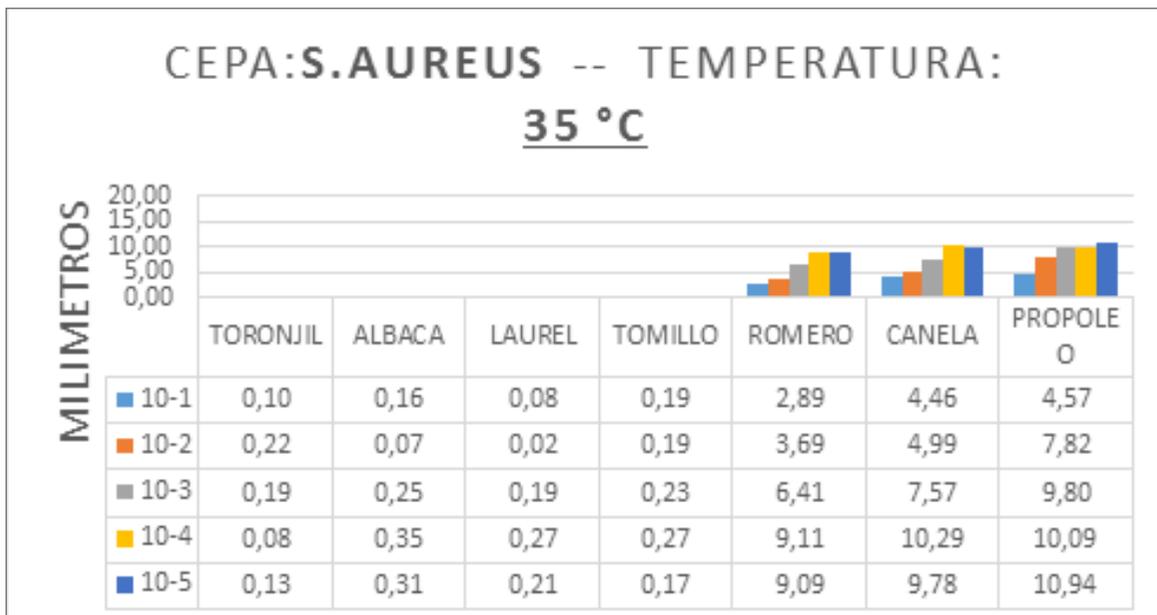


Figura 4. Comparativo del comportamiento antimicrobiano para una cepa *S. Aureus* y temperatura especificada

Fuente: Construcción propia

Tabla 3.
Actividad antimicrobiana Vs Agentes evaluados frente una cepa (*E. coli*) (Distancia en mm)

<i>E. coli</i>	AGENTE ANTIMICROBIANO																								
	TORONJIL			ALBACA			LAUREL			TOMILLO			ROMERO			CANELA			PROPOLEO						
Temperatura	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C				
10-1	D1	0,07	0,19	0,12	0,16	0,15	0,2	0,07	0,18	0	0,29	0,14	0,14	3,06	2,86	2,89	4,48	4,42	4,96	4,96	4,48	5,05	4,52	4,3	
	D2	0,1	0,15	0,13	0,26	0,19	0,19	0,05	0,15	0,05	0,21	0,24	0,22	2,92	2,86	2,84	4,53	4,6	4,96	4,96	4,53	4,92	4,59	4,23	
	D3	0,01	0,11	0	0,12	0,06	0,12	0,17	0,01	0,09	0,09	0,27	0,21	0,23	3,04	2,87	2,71	4,4	4,45	5	4,45	5,07	4,49	4,19	
10-2	x	0,06	0,15	0,08	0,18	0,13	0,17	0,1	0,11	0,05	0,26	0,2	0,2	3,01	2,86	2,81	4,47	4,49	4,97	4,47	5,01	4,53	4,24		
	D1	0,17	0,15	0,23	0,14	0,04	0,07	0,12	0,05	0,13	0,28	0,25	0,04	4,01	3,74	3,62	4,48	5,1	4,95	4,95	4,48	12,01	11,93	11,59	
	D2	0,12	0,22	0,24	0,23	0,12	0,18	0	0,14	0,15	0,17	0,18	0,13	3,99	3,79	3,55	4,43	4,97	4,91	4,91	4,43	11,95	11,82	11,45	
10-3	D3	0,17	0,2	0,18	0,15	0	0,03	0,2	0	0,05	0,16	0,14	0,05	4,02	3,72	3,58	4,49	4,96	4,92	4,96	4,49	11,9	11,85	11,57	
	x	0,15	0,19	0,22	0,17	0,05	0,09	0,11	0,06	0,11	0,2	0,19	0,07	4,01	3,75	3,58	4,47	5,01	4,93	4,93	4,47	11,95	11,87	11,54	
	D1	0,11	0,12	0,19	0,2	0,33	0,29	0,19	0,22	0,14	0,24	0,3	0,22	8,01	7,85	7,59	9,97	12,92	14,09	14,09	9,97	13,05	12,87	11,02	
10-4	D2	0,19	0,1	0,14	0,37	0,2	0,37	0,22	0,14	0,24	0,3	0,22	8,06	7,82	7,55	14,1	13,06	14,05	14,05	12,96	9,99	12,9	12,9	10,92	
	D3	0,24	0,3	0,12	0,22	0,32	0,3	0,24	0,2	0,1	0,24	0,18	0,24	8,02	7,8	7,56	10,01	12,98	14,08	12,98	10,01	12,95	12,84	10,96	
	x	0,18	0,17	0,15	0,26	0,28	0,32	0,22	0,2	0,18	0,25	0,23	0,24	9,96	9,07	8,91	14	15,96	16,04	15,96	14	14,92	13,94	10,08	
10-5	D1	0,15	0,18	0,02	0,2	0,4	0,18	0,17	0,21	0,18	0,24	0,3	0,36	9,06	9,06	9,05	14,05	15,98	15,96	15,98	14,05	14,96	14	9,93	
	D2	0,12	0,02	0,11	0,32	0,24	0,2	0,12	0,25	0,2	0,27	0,36	0,26	10,08	9,06	9,05	13,99	16,06	15,99	16,06	13,99	14,99	14,06	10,09	
	D3	0,13	0,01	0,06	0,2	0,39	0,17	0,2	0,16	0,17	0,25	0,22	0,27	10,07	9,03	9,08	14,01	16,06	15,99	16,06	14,01	14,96	14	10,03	
10-5	x	0,13	0,07	0,06	0,24	0,34	0,18	0,16	0,21	0,18	0,25	0,29	0,3	10,04	9,05	9,01	14,01	16	16	16	14,01	14,96	14	10,03	
	D1	0,19	0,26	0,27	0,44	0,36	0,3	0,3	0,21	0,29	0,36	0,21	0,1	10,01	9,08	8,81	15,98	15,41	15,98	15,41	20,08	20,08	18,91	17,96	
	D2	0,22	0,26	0,16	0,44	0,39	0,34	0,16	0,23	0,11	0,3	0,24	0,27	10,02	8,99	8,84	13,99	15,51	16,06	16,06	13,99	20,06	20,06	19,02	18,1
10-5	D3	0,13	0,14	0,13	0,47	0,32	0,33	0,28	0,17	0,22	0,31	0,11	0,3	9,91	9,01	8,87	14,03	15,47	16	15,47	14,03	20,05	20,05	17,95	
	x	0,18	0,22	0,19	0,45	0,36	0,32	0,25	0,2	0,21	0,32	0,19	0,22	9,98	9,03	8,84	14,01	15,46	16,01	15,46	14,01	20,06	20,06	18,98	18

Fuente: Construcción propia

Tabla 4.
Actividad antimicrobiana Vs Agentes evaluados frente una cepa (*S. aureus*) (Distancia en mm)

<i>S. aureus</i>	AGENTE ANTIMICROBIANO																						
	TORONJIL			ALBACA			LAUREL			TOMILLO			ROMERO			CANELA			PROPOLEO				
	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C		
10-1	D1	0,02	0,05	0,03	0,13	0,18	0,25	0,16	0,05	0,08	0,17	0,19	0,18	0,17	2,93	2,94	2,89	5,03	4,45	4,39	4,97	4,53	4,25
	D2	0	0,16	0,05	0,26	0,06	0,27	0	0,05	0,13	0,22	0,29	0,12	0,22	2,92	2,89	2,81	5,03	4,47	4,57	4,96	4,55	4,3
	D3	0,11	0,09	0,05	0,22	0,23	0,22	0,03	0,14	0,13	0,24	0,29	0,28	0,24	3,01	2,84	2,82	4,91	4,47	4,41	4,95	4,63	4,21
10-2	x	0,04	0,1	0,04	0,2	0,16	0,25	0,06	0,08	0,11	0,21	0,26	0,19	0,21	2,95	2,89	2,84	4,99	4,46	4,46	4,96	4,57	4,25
	D1	0,1	0,24	0,28	0,26	0,06	0,18	0,19	0,01	0,06	0,13	0,12	0,12	0,01	3,79	3,7	3,59	4,99	4,94	4,39	8,11	7,89	6,85
	D2	0,2	0,19	0,16	0,14	0,01	0,12	0,01	0,01	0,17	0,11	0,22	0,11	0,22	3,84	3,7	3,6	4,88	4,97	4,42	8,03	7,83	6,75
10-3	D3	0,18	0,24	0,29	0,16	0,14	0,17	0,19	0,05	0,06	0,22	0,24	0,24	0,1	3,87	3,66	3,59	4,94	5,06	4,48	8,1	7,75	6,86
	x	0,16	0,22	0,24	0,19	0,07	0,16	0,13	0,02	0,1	0,15	0,19	0,15	0,09	3,83	3,69	3,59	4,94	4,99	4,43	8,08	7,82	6,82
	D1	0,15	0,25	0,18	0,35	0,37	0,27	0,2	0,24	0,16	0,32	0,26	0,32	0,2	6,84	6,43	5,99	7,9	7,68	7,36	9,73	9,74	9,52
10-4	D2	0,18	0,23	0,14	0,29	0,19	0,35	0,24	0,23	0,2	0,23	0,2	0,23	0,2	6,78	6,37	5,89	7,78	7,5	7,49	9,85	9,85	9,58
	D3	0,2	0,08	0,23	0,25	0,19	0,34	0,2	0,11	0,13	0,31	0,23	0,23	0,17	6,89	6,42	5,82	7,87	7,52	7,34	9,89	9,81	9,64
	x	0,18	0,19	0,18	0,3	0,25	0,32	0,21	0,19	0,16	0,29	0,23	0,23	0,23	6,84	6,41	5,9	7,85	7,57	7,4	9,82	9,8	9,58
10-5	D1	0,1	0,12	0,02	0,19	0,4	0,14	0,09	0,3	0,25	0,26	0,26	0,26	0,21	10,11	9,11	8,94	11,19	10,26	10,25	10,12	10,06	8,8
	D2	0,06	0,13	-0,01	0,26	0,29	0,12	0,16	0,28	0,26	0,29	0,3	0,24	0,24	10,12	9,14	9,01	11,11	10,27	10,18	10,23	10,2	8,91
	D3	0,22	-0,02	0,11	0,28	0,36	0,21	0,14	0,22	0,23	0,25	0,24	0,22	0,22	10,04	9,07	9,03	11,24	10,33	10,28	10,28	10,02	8,8
10-5	x	0,13	0,08	0,04	0,24	0,35	0,16	0,13	0,27	0,25	0,27	0,27	0,27	0,22	10,09	9,11	8,99	11,18	10,29	10,24	10,21	10,09	8,84
	D1	0,11	0,13	0,19	0,36	0,29	0,4	0,29	0,21	0,23	0,35	0,1	0,2	0,2	9,97	9,06	8,86	10,81	9,77	9,07	11,17	10,95	10,11
	D2	0,22	0,13	0,13	0,38	0,35	0,35	0,19	0,19	0,27	0,3	0,18	0,32	0,32	10,06	9,11	8,75	10,93	9,76	9,18	11,17	10,91	10,16
10-5	D3	0,28	0,14	0,28	0,41	0,28	0,38	0,22	0,24	0,11	0,38	0,22	0,23	0,23	9,99	9,09	8,89	10,81	9,81	9,09	11,08	10,95	10,1
	x	0,2	0,13	0,2	0,38	0,31	0,38	0,23	0,21	0,2	0,34	0,17	0,25	0,25	10,01	9,09	8,83	10,85	9,78	9,11	11,14	10,94	10,12

Fuente: Construcción propia

Tabla 5.
Actividad antimicrobiana Vs Agentes evaluados frente una cepa (*B cinérea*) (Distancia en mm)

<i>B. cinérea</i>	AGENTE ANTIMICROBIANO																					
	TORONJIL			ALBACA			LAUREL			TOMILLO			ROMERO			CANELA			PROPOLEO			
Tempe- ratura	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	22 °C	35 °C	44,5 °C	
10-1	D1	0,12	0,12	0,04	0,05	0,12	0,08	0,15	0,17	0,23	0,24	0,16	0,16	5,01	4,53	4,28	3	2,9	2,89	5	4,44	4,44
	D2	0,03	0,1	0,09	0,05	0,16	0,09	0,26	0,13	0,23	0,25	0,18	0,22	4,94	4,57	4,27	2,92	2,88	2,83	5	4,54	4,55
	D3	0,1	0,08	0,11	0,06	0,1	0,03	0,17	0,15	0,17	0,28	0,25	0,24	5,01	4,56	4,2	3,03	2,86	2,77	4,96	4,46	4,41
10-2	x	0,08	0,1	0,08	0,05	0,13	0,06	0,19	0,15	0,21	0,26	0,2	0,2	4,99	4,55	4,25	2,98	2,88	2,83	4,98	4,48	4,46
	D1	0,16	0,03	0,1	0,14	0,2	0,26	0,2	0,05	0,13	0,21	0,19	0,03	10,06	9,91	9,22	3,9	3,72	3,61	4,97	5,02	4,44
	D2	0,01	0,08	0,16	0,16	0,21	0,2	0,19	0,07	0,15	0,14	0,2	0,15	9,99	9,83	9,1	3,92	3,75	3,58	4,9	4,97	4,43
10-3	D3	0,2	0,03	0,06	0,18	0,22	0,24	0,16	0,07	0,1	0,19	0,19	0,08	10	9,8	9,22	3,95	3,69	3,59	4,93	5,01	4,49
	x	0,12	0,04	0,1	0,16	0,21	0,23	0,18	0,06	0,13	0,18	0,19	0,08	10,02	9,85	9,18	3,92	3,72	3,59	4,93	5	4,45
	D1	0,2	0,25	0,18	0,13	0,19	0,19	0,28	0,35	0,28	0,27	0,28	0,2	11,32	11,25	10,2	7,42	7,09	6,77	11	10,37	8,71
10-4	D2	0,23	0,19	0,22	0,19	0,17	0,14	0,33	0,2	0,36	0,27	0,21	0,31	11,45	11,36	10,3	7,4	7,11	6,74	10,94	10,21	8,73
	D3	0,22	0,16	0,12	0,22	0,19	0,18	0,24	0,26	0,32	0,28	0,21	0,21	11,4	11,36	10,2	7,48	7,12	6,69	10,96	10,24	8,67
	x	0,22	0,2	0,17	0,18	0,18	0,17	0,28	0,27	0,32	0,27	0,23	0,24	11,39	11,32	10,2	7,43	7,11	6,73	10,97	10,27	8,7
10-5	D1	0,13	0,26	0,22	0,13	0,15	0,02	0,2	0,4	0,16	0,25	0,28	0,29	12,52	12	9,44	10,04	9,09	8,93	13,62	13,11	12,13
	D2	0,14	0,27	0,23	0,09	0,08	0,05	0,29	0,27	0,16	0,28	0,33	0,25	12,6	12,1	9,42	10,1	9,1	9,03	13,54	13,13	12,12
	D3	0,17	0,19	0,2	0,18	0,01	0,09	0,24	0,38	0,19	0,25	0,23	0,25	12,64	12,04	9,45	10,06	9,05	9,06	13,62	13,2	12,14
10-5	x	0,15	0,24	0,22	0,13	0,07	0,05	0,24	0,35	0,17	0,26	0,28	0,26	12,58	12,05	9,44	10,06	9,08	9	13,59	13,14	12,13
	D1	0,15	0,2	0,23	0,4	0,33	0,35	0,3	0,21	0,26	0,36	0,16	0,15	9,99	9,07	8,84	13,4	12,5	11,54	15,63	14,93	14,04
	D2	0,22	0,2	0,15	0,41	0,37	0,35	0,18	0,21	0,19	0,3	0,21	0,3	10,04	9,05	8,8	13,5	12,6	11,59	15,62	14,97	14,13
10-5	D3	0,21	0,14	0,21	0,44	0,3	0,36	0,25	0,21	0,17	0,35	0,17	0,27	9,95	9,05	8,88	13,41	12,6	11,56	15,57	14,98	14,03
	x	0,19	0,18	0,19	0,42	0,33	0,35	0,24	0,21	0,21	0,33	0,18	0,24	9,99	9,06	8,84	13,43	12,6	11,56	15,6	14,96	14,06

Fuente: Construcción propia

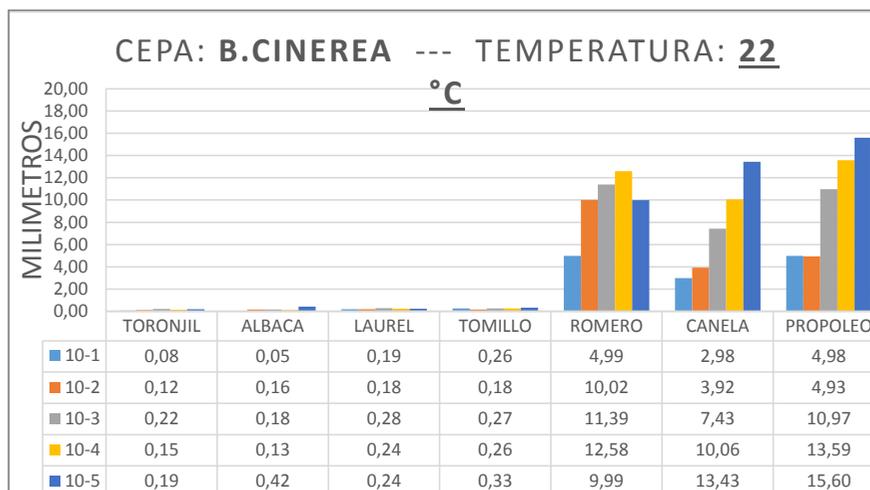


Figura 5. Comparativo del comportamiento antimicrobiano para una cepa *B. Cinerea* y temperatura especificada

Fuente: Construcción propia

Validación estadística

Tabla 6.

Análisis de varianza de un factor para la cepa E.Coli

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
TORONJIL	5	0,71	0,14	0		
ALBACA	5	1,31	0,26	0,01		
LAUREL	5	0,83	0,17	0		
TOMILLO	5	1,29	0,26	0		
ROMERO	5	35,05	7,01	11,01		
CANELA	5	55,99	11,2	33,15		
PROPOLEO	5	64,94	12,99	29,65		
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	984,6	6	164,1	15,6	0,0000001	2,45
Dentro de los grupos	295,3	28	10,5			
Total	1279,9	34				

Fuente: Construcción propia

Tabla 7.
Prueba de Tukey para la cepa *E.Coli*.

Honestly-Significant-Difference (HSD):6,4778							
	TORONJIL	ALBACA	LAUREL	TOMILLO	ROMERO	CANELA	PROPOLEO
TORONJIL		0,12	0,02	0,12	6,87	11,06	12,85
ALBACA			0,1	0	6,75	10,94	12,73
LAUREL				0,09	6,84	11,03	12,82
TOMILLO					6,75	10,94	12,73
ROMERO						4,19	5,98
CANELA							1,79
PROPOLEO							

Fuente: Construcción propia

Según se observa en los tres casos presentados, es evidente como los aceites esenciales romero y canela, junto al extracto etanólico de propóleo ofrecen la mayor actividad antimicrobiana medida, dadas las variaciones de temperatura y dilución en relación a las cepas evaluadas.

Medición del tiempo de vida útil: Mediante el uso de métodos de microbiología predictiva y específicamente del modelo secundario de la ecuación de Arrhenius, a una temperatura de almacenamiento de 16°C, se obtuvieron los valores de (μ) para cada uno de los dos grupos evaluados, dicho valor se entiende como la razón de crecimiento del microorganismo *B. cinérea* en unidades de Ln (UFC/g*h), dado que el valor de carga máxima permitida en las fresas para el parámetro de Mohos y levaduras es de 3000 UFC/g, se estimó una vida útil para las frutas protegidas con el Bioempaque de 11 días, respecto al tiempo estimado de 7.5 días para las frutas almacenadas sin el uso del Bioempaque, es decir un aumento del 46% en el tiempo de vida útil para las frutas del genero *Fragaria* en relación al microorganismo *B. cinérea*.

(Tabla 8). El aumento en la vida útil de las fresas como resultado del uso del Bioempaque activo genera también la posibilidad para la realización de análisis de viabilidad para su uso en diferentes productos perecederos o no como método de conservación generando impacto a nivel económico debido a la disminución en la perdida de productos por devolución e impacto ambiental por proveer una alternativa de conservación natural disminuyen el uso de empaques sintético.

Conclusiones

Es posible elaborar Bioempaques a partir de almidones nativos debido a que de las 6 materias primas evaluados 4 presentan cierto porcentaje de rendimiento de almidón aprovechable para el desarrollo de esta investigación.

Es posible aprovechar almidón proveniente de fuentes naturales que no hacen parte de la alimentación convencional, como Bioempaques Los agentes antimicrobianos que presenta mejor actividad antimicrobiana ante cepas de

Tabla 8.
Cuadro comparativo del tiempo de vida útil en relación al Bioempaque.

	SIN el uso del BIOEMPAQUE	CON el uso del BIOEMPAQUE
μ =	0.04441533 Ln (UFC / g*h)	0.02987228 Ln (UFC / g*h)
Vida Útil=	7,5 Días	11 Días

Fuente: Construcción propia

Microorganismos indicadores de calidad son la Canela y el Romero, y el extracto etanólico de propóleo.

Los modelos predictivos ayudan a pronosticar el grado de crecimiento o sobrevivencia de microorganismos indicadores de calidad ayudando a determinar la fecha de caducidad de un producto desde el punto de vista microbiológico.

Con la adición de aceites esenciales en el Bioplástico el tiempo de vida útil aumenta 46% debido a que los alimentos perecederos poseen un tiempo de vida útil que en promedio se encuentra entre 5 a 7 días pero con la utilización del bioplástico elaborado en esta investigación se prolonga a un tiempo de 11 días.

El uso de un Bioempaque con la presencia de almidones naturales, aceites esenciales naturales y otros extractos permite prolongar el tiempo de vida útil de los alimentos perecederos, en este caso frutas del genero *Fragaria*, en un 46 %.

La temperatura es una variable directamente proporcional al crecimiento microbiano y está directamente relacionada con condiciones de almacenamiento, factor extrínseco clave en la definición del tiempo de vida útil de las Fresas.

Los modelos predictivos para el cálculo del tiempo de vida útil permiten establecer de manera confiable valores ajustados al comportamiento observado, reduciendo el costo de operación asociado al proceso y tiempo relacionado con la toma y procesamiento de muestras en laboratorio permitiendo ofrecer resultados en menor tiempo que permitirán medir la trazabilidad en este y otros procesos dado que el modelo se parametrizo para ser aplicable a cualquier tipo de producto el cual solo requerirá de una toma de datos iniciales en el laboratorio.

Agradecimientos

Al Servicio Nacional de Aprendizaje SENA por la financiación de la presente investigación y brindar todos los espacios que permitieron el desarrollo de esta investigación principalmente agradecer al Doctor Emilio Navia Coordinador Grupo de Investigación, Innovación y Producción Académica Dirección de Formación Profesional, Doctor Carlos Barón Subdirector del Centro Nacional de Hotelería Turismo y Alimentos Distrito Capital, Doctor Bersarion Gómez Líder Sennova del CNHTYA, Ingeniero Diego León González Coordinador Académico Industrias Alimentarias CNHTYA. Al Semillero de Investigación IMAS conformado por aprendices de procesamiento de alimentos y control de calidad del centro Nacional de Hotelería Turismo y alimentos. José Fonseca, Víctor Cubillos, Leonardo Hernández, Sergio Pulido, Camilo Fontecha.

Referencias

- Acosta, A (2013). *Obtención y caracterización de almidones nativos colombianos para su evaluación como posibles alternativas en la industria alimentaria* (Tesis de Grado). Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias.
- Batuani, R. (2015). *Estudio de la obtención de plásticos biodegradables a partir del almidón de la papa por adición de agentes plastificantes* (Tesis de Grado). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz Bolivia.
- Beltrán, A., Ramos, M., Álvarez, M. (2010). Estudio de la vida útil de fresas (*fragaria vesca*) mediante tratamiento con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C). *Revista Tecnológica Espol*, 23(2), 14-24.

- Bucio, C. y Martínez, O. (2017). Actividad antibacteriana de un extracto acuoso de propóleo del municipio de rapuato, Guanajuato, México. *Agron. Mesoam.* 28(1), 223-227. doi:10.15517/am.v28i1.24253
- Cabeza, E. (2011). *Aplicación de la Microbiología Predictiva para la determinación de la vida útil de los alimentos* (Tesis doctoral). Universidad de Pamplona. Colombia.
- García, O., Pinzón, M. y Sánchez, L. (2013). Extracción y propiedades funcionales del almidón de yuca, *Manihot esculenta*, variedad ICA, como materia prima para la elaboración de películas comestibles. *@Limentech Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 11(1), 13-21.
- González, A., Kafarov, V. y Guzmán, A. (2009). Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de micro algas. *Prospectiva*, 7(2), 53-60.
- Hernández-Ochoa, L., Gonzales-Gonzales, A., Gutiérrez-Méndez, N., Muñoz-Castellanos, L.M. y Quintero-Ramos, A. (2011). Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. *Revista mexicana de ingeniería química*, 10(3), 455-463.
- Herrera, F. y García, R. (2006). Evaluación in vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 4(2), 13-19.
- Maguna, F., Romero, A., Garro, O. y Okulik, N. (2006). *Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. Comunicaciones científicas y Tecnológicas*. Recuperado de: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-057.pdf>
- Maldonado, A. (2012) *La complejidad de la problemática ambiental d los residuos plásticos: Una aproximación al análisis narrativo de política pública en Bogotá* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia
- Segura, D., Noguez, R. y Espín, G. (2007). Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables. *Biotecnología*, B14 (C23), 361-371.
- Tharanathan, R. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Critical. Review in Food Science and Technology*, 14, 71-78.
- Villada, H., Acosta, H. y Velasco, R. (2007). Biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables. *Temas agrarios*, 12(2), 5-13. doi: <https://doi.org/10.21897/rta.v12i2.652>