

UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica poliácido láctico (PLA) y polietileno (PE) para la conservación de frutas**

**Fanny Lissette Ariza Corredor**

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería

Bogotá, Colombia

2022

# **Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica poliácido láctico (PLA) y polietileno (PE) para la conservación de frutas**

**Fanny Lissette Ariza Corredor**

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:  
**Magister en Ingeniería – Materiales y Procesos**

Director:

Ph.D. Cesar Augusto Sierra Ávila

Codirector:

Ph.D. Diego Mauricio Alzate Sánchez

Línea de Investigación:

Materiales Poliméricos

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación en macromoléculas

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería

Bogotá, Colombia

2022

*A quienes nos inspiraron sin saberlo.*

*A mi familia y amigos que con paciencia y amor me apoyaron durante todo el proceso. Gracias!*

*A los herma, con la esperanza que algún día sea inspiración para ellos.*

*¡Los amo!*



## Declaración de obra original

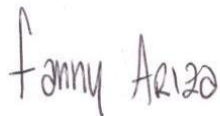
Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



---

Fanny Lissette Ariza Corredor

26/08/2022

## Agradecimientos

Agradezco al profesor Cesar Sierra por la oportunidad y la confianza depositada para pertenecer al grupo de investigación en macromoléculas; su conocimiento, guía y enseñanzas hicieron parte fundamental no solo del desarrollo de este proyecto, sino de mi carrera profesional. También agradezco a Diego Alzate, al profesor León y mis compañeros del grupo de investigación quienes me apoyaron y ayudaron durante el proceso.

Agradezco a Andrea, Jeisson, Vanesa, Anyi, Julián, Néstor y Laura, quienes como amigos y profesionales me acompañaron, me aguantaron y me dieron herramientas para, a pesar de la pandemia y los problemas técnicos, finalizar esta maestría con éxito. Tengo la esperanza de contar con ustedes el resto de mi vida, ya que conmigo pueden contar cuando lo requieran.

A mi tía Gladys, mi tía Adriana, mi padrino y a Carlos quienes, sin saberlo, hicieron gran parte de este proceso. Y a los pilares de mi vida: mi mamá y mis hermanos Martín y Jacobo, por inspirarme cada día a ser una mejor versión de mí.

¡MUCHAS GRACIAS!

# Resumen

## **Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica poliácido láctico (PLA) y polietileno (PE) para la conservación de frutas**

Durante décadas la industria de los empaques para frutas ha estado liderada por el uso de polietileno de alta densidad (HDPE) dada su alta resistencia mecánica, resistencia química, resistencia térmica e hidrofobicidad. Los altos requerimientos mundiales en términos de conservación y transporte de alimentos, como también medio ambientales, han hecho que esta industria se esté desarrollando en dos áreas de investigación: la primera en el mejoramiento de los materiales actuales con el fin de generar empaques para alimentos con nuevas capacidades como los empaques inteligentes o con atmósfera modificada; y de otro lado el desarrollo y la transición de materiales no biodegradables a matrices poliméricas renovables como el poliácido láctico (PLA).

Teniendo en cuenta lo anterior, este proyecto presenta el desarrollo de dos materiales prometedores para su uso como empaques para frutas, uno de base HDPE con propiedades antifúngicas, y otro corresponde a una matriz de PLA reforzada con celulosa acetilada. En ambos casos las matrices poliméricas incluyen aditivos de origen natural específicamente biomasa residual.

Debido a la reconocida característica de higroscopia de los polímeros biodegradables, las películas de PLA desarrolladas incluyen celulosa acetilada (cell-acet) como un aditivo para modificar la propiedad mencionada, su estabilidad térmica y las propiedades de barrera a los gases. Para esto, se llevó a cabo una reacción de acetilación sobre la celulosa, incrementando su hidrofobicidad y consecuentemente, su compatibilidad con la matriz polimérica. Posteriormente, mediante un proceso de extrusión entre PLA y la cell-acet se

## 8 Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica poliácido láctico (PLA) y polietileno (PE) para la conservación de frutas

obtuvieron películas que presentaron problemas de dispersión, por lo cual fue necesario la adición de un agente compatibilizante (comp), el cual consiste en una mezcla de derivados del ácido oleico y palmítico, con lo cual se obtuvo una película homogénea. Esta película final de PLA/cell-acet/comp tuvo 23  $\mu\text{m}$  de espesor, y presentó una temperatura de degradación cercana a 322,5 °C, además de la disminución en su cristalinidad, un ángulo de contacto de cerca de 80° y con propiedades mecánicas ligeramente mejoradas.

Por su parte, la película flexible de HDPE, tuvo como aditivo un extracto de aceite de coco hidrolizado (HCO). Este aditivo se obtuvo previamente al someter el aceite de coco a hidrólisis a alta presión para así llegar a una mezcla de ácidos grasos libres con alta concentración de ácido láurico. Este último, reconocido agente antimicrobiano contra varios problemas fitosanitarios de las frutas tropicales especialmente aquellas pertenecientes al *Colletotrichum tamarilloi*, y que en nuestros trabajos previos (usando ácido láurico comercial puro) ha demostrado alargar el tiempo de vida en anaquel para el tomate de árbol en dos semanas. Este producto de HCO, sin ninguna purificación adicional, fue utilizado como aditivo en el HDPE durante el proceso de extrusión, obteniendo películas de 84  $\mu\text{m}$  de espesor cuyas propiedades térmicas, mecánicas y de permeabilidad fueron analizadas. Estudios *in vitro* e *in vivo* demostraron que la película de HDPE con producto de HCO al 5 %w/w tiene propiedades antifúngicas ante el hongo *C. tamarilloi* y este empaque aumenta la vida útil del tomate de árbol hasta en tres semanas.

**Palabras Claves:** Empaque para frutas, HDPE, PLA, aceite de coco, celulosa



# Abstract

## **Use of biomass as additive for the generation of PLA and PE polymer-based films for fruit preservation**

The fruit food packaging industry has been led worldwide by the use of high-density polyethylene (HDPE) due to its high weight (mechanical) resistance, its thermal resistance, and its resistance to water and several chemicals. Worldwide food preservation, transportation, and environmental care requirements have driven this industry towards two wide research areas. One is the improvement of the used materials to generate food packaging with new capabilities such as smart packaging, controlled atmosphere packaging, among others; the other area responds to the transition from nonbiodegradable materials to environmentally friendly materials such as polylactic acid (PLA).

Taking the above into account, this project presents the development of two promising materials for food packaging. One HDPE based with antifungal properties and the other PLA based reinforced with acetylated cellulose, in both cases the polymeric matrices include biorenewable additives.

Due to the recognized hydrophilicity of biodegradable polymers, the developed PLA films include acetylated cellulose (cell-acet) as an additive to modify the mentioned property, its thermostability, and gas-barrier properties. To achieve this, an acetylation reaction was carried out on the cellulose, increasing its hydrophobicity and, consequently, its compatibility with the polymeric matrix. Subsequently, through an extrusion process between PLA and cell-acet a film was obtained, however, this film presented dispersion problems. A compatibilizing agent (comp), which consists of a mixture of oleic and palmitic acid derivatives, was needed to improve the homogeneity of films. The final film of PLA/cell-acet/comp was 23  $\mu\text{m}$  thick and presented a degradation temperature close to 322,5 °C, in

**10** Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica poliácido láctico (PLA) y polietileno (PE) para la conservación de frutas

---

addition to a decrease in its crystallinity, a contact angle of about 80°, and slightly improved mechanical properties.

In the second project, we developed a HDPE flexible film with an extract of hydrolyzed coconut oil (HCO) as an additive. This additive was previously obtained by putting coconut oil to high-pressure hydrolysis in order to obtain a mixture of free fatty acids, primarily including lauric acid, a recognized antimicrobial agent against several phytosanitary problems of tropical fruits, especially those belonging to *Colletotrichum tamarilloi*. This HCO product was used, without any purification process, as an additive in HDPE during the extrusion process, obtaining 84 µm thick films whose thermal, mechanical, and permeability properties were analyzed. *In vitro* and *in vivo* studies showed that the HDPE/HCO 5% film has antifungal activity against *C. tamarilloi* fungus, and this packaging increases the shelf life of the tree tomato up to three weeks.

**Keywords:** Fruit packaging, HDPE, PLA, coconut oil, cellulose.

# Contenido

	Pág.
1. Películas de PLA con cell-acet .....	24
1.1 Materiales .....	24
1.2 Métodos .....	25
1.2.1 Acetilación.....	25
1.2.2 Generación de películas.....	25
1.3 Caracterización .....	26
1.3.1 Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) .....	26
1.3.2 Resonancia Magnética Nuclear (RMN) .....	26
1.3.3 Cristalinidad de cell-acet DRX.....	26
1.3.4 Comportamiento térmico: TGA.....	26
1.3.5 Hidrofobicidad .....	27
1.3.6 Apariencia de los empaques .....	27
1.3.7 Estereoscopía .....	27
1.3.8 Propiedades mecánicas .....	27
1.3.9 Análisis termogravimétrico (TGA).....	27
1.3.10 Comportamiento térmico: DSC.....	28
1.3.11 Permeabilidad .....	28
1.4 Resultados y Análisis: Generación de aditivo .....	29
1.5 Resultados y Análisis: Caracterización de las películas .....	36
1.5.1 Apariencia de los empaques .....	36

## 12 Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica PLA y PE para la conservación de frutas

---

1.5.2	Hidrofobicidad .....	38
1.5.3	Propiedades mecánicas .....	39
1.5.4	Comportamiento térmico .....	41
1.5.5	Permeabilidad .....	42
2.	Películas de PE con productos de hidrólisis .....	44
2.1	Materiales .....	44
2.2	Métodos .....	44
2.2.1	Hidrólisis .....	45
2.2.2	Generación de películas.....	45
2.3	Caracterización .....	45
2.3.1	Cromatografía de gases acoplado a masas (GC-MS) .....	46
2.3.2	Pruebas antimicrobianas: Determinación de ICM.....	46
2.3.3	Apariencia de los empaques .....	46
2.3.4	FT-IR.....	46
2.3.5	Pruebas antimicrobianas: Difusión en agar .....	47
2.3.6	Propiedades mecánicas .....	47
2.3.7	Análisis termogravimétrico (TGA).....	47
2.3.8	Comportamiento térmico: DSC.....	47
2.3.9	Permeabilidad .....	48
2.3.10	Pruebas antimicrobianas: <i>in vivo</i> .....	48
2.4	Resultados y Análisis .....	49
2.4.1	Generación de aditivo .....	49
2.4.2	Pruebas antimicrobianas: ICM .....	50
2.4.3	Apariencia de los empaques .....	52
2.4.4	Pruebas antimicrobianas: Difusión en agar .....	53
2.4.5	Propiedades mecánicas .....	54
2.4.6	Comportamiento térmico .....	55

---

2.4.7	Permeabilidad .....	56
2.4.8	Pruebas <i>in vivo</i> .....	57
2.4.9	HCO post - extrusión.....	60
3.	Conclusiones y perspectivas .....	62
3.1	Conclusiones.....	62
3.2	Perspectivas.....	63
3.3	Producción académica .....	64
	Bibliografía .....	66

## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 1.</b> Reacción de acetilación de celulosa. ....	29
<b>Figura 2.</b> 50 mg de celulosa prístina (izq) y 50 mg de celulosa acetilada (der.). ....	29
<b>Figura 3.</b> FTIR de celulosa prístina (negra) y acetilada (roja).....	30
<b>Figura 4.</b> A. Estructura de celulosa acetilada. B. CP/MAS C <sup>13</sup> - NMR de celulosa prístina (Cell) y celulosa acetilada a 3 horas y 24 horas.....	31
<b>Figura 5.</b> DRX de celulosa prístina (negra) y acetilada (roja). ....	32
<b>Figura 6.</b> Curvas de TGA y DTGA de celulosa prístina (negra) y acetilada (roja).....	34
<b>Figura 7.</b> Cambio del ángulo de contacto para la cell-acet respecto al grado de sustitución dada la acetilación.....	35
<b>Figura 8.</b> Detalle de transparencia, obtención y defectos de películas de PLA obtenidas por solvent casting. ....	36
<b>Figura 9.</b> Detalle de defectos de las películas de PLA/cell-acet obtenidas por extrusión previo (A) y posterior (C) a la adición de la molienda de la cell-acet (B). ....	37
<b>Figura 10.</b> Detalle de película de PLA/cell-acet/comp obtenida por extrusión. ....	37
<b>Figura 11.</b> Estereoscopia superficial de películas de PLA (PLA-1), PLA/cell-acet (PLA-2) y PLA/cell-acet/comp. (PLA-3). ....	38
<b>Figura 12.</b> Angulo de contacto de películas extruidas de PLA, PLA/cell-acet, y PLA/cell-acet/comp.....	39
<b>Figura 13.</b> Curvas de esfuerzo – deformación de películas de base PLA. ....	40
<b>Figura 14.</b> Curvas TGA de cell-acet, PLA y PLA/cell-acet.....	41
<b>Figura 15.</b> WVTR y Q <sub>O2</sub> de películas extruidas de base polimérica de PLA. ....	43
<b>Figura 16.</b> Cromatograma aceite de coco (rojo), ácido láurico comercial (negro) y HCO (azul). Identificación de picos: A = metil octanoato, B = metil decanoato, C = metil laurato, D = metil tetradecanoato y E = metil hexadecanoato (izq.) y detalle del HCO (der.).....	50
<b>Figura 17.</b> Detalle de la película de HDPE/HCO 10%. ....	52
<b>Figura 18.</b> FTIR de películas extruidas de HDPE y HDPE/HCO a 3, 5 y 10 %w/w . ....	53

---

<b>Figura 19.</b> Diagrama esfuerzo - deformación de películas de HDPE, HDPE/HCO 3% y HDPE/HCO 5%.....	55
<b>Figura 20.</b> TGA de HCO y películas de HDPE y HDPE/HCO como aditivo.....	56
<b>Figura 21.</b> Tomate de árbol rojo al almacenado en bolsa de HDPE y tomate de árbol amarillo almacenado en bolsa de HDPE/HCO 10 %w/w sin inoculación de esporas al final de la cuarta semana.....	60
<b>Figura 22.</b> Cromatograma de HCO, y extractos soxhlet de las películas HDPE/HCO 3% y HDPE/HCO 5%. Identificación de picos: A = metil octanoato, B = metil decanoato, C = metil laurato, D = metil tetradecanoato y E = metil hexadecanoato.....	61

## Lista de tablas

	<u>Pág.</u>
<b>Tabla 1.</b> Resumen de análisis de cristalinidad de celulosa prístina (cell) y celulosa acetilada (cell-acet). .....	33
<b>Tabla 2.</b> Dimensiones de películas base PLA obtenidas por extrusión.....	39
<b>Tabla 3.</b> Características térmicas de películas extruidas de PLA y PLA/cell-acet.....	42
<b>Tabla 4.</b> ICM del HCO sobre los hongos analizados. ....	51
<b>Tabla 5.</b> Inhibición de los hongos frente a la presencia de películas de HDPE y HDPE/HCO. ....	54
<b>Tabla 6.</b> Dimensiones de películas de base HDPE. ....	55
<b>Tabla 7.</b> WVTR y $Q_{O_2}$ de película de HDPE y HDPE/HCO.....	57
<b>Tabla 8.</b> Resultados de ensayos in vivo del tomate de árbol amarillo ante películas de HDPE y HDPE/HCO.....	58
<b>Tabla 9.</b> Resultados de ensayos in vivo del tomate de árbol rojo ante películas de HDPE y HDPE/HCO. ....	59
<b>Tabla 10.</b> Presencia de <i>C. tamarilloi</i> en los tomates de árbol empacados en las películas de HDPE y HDPE/HCO.....	60



## Lista de abreviaturas

CO	Aceite de coco
cell	Celulosa
cell-acet	Celulosa acetilada
Q <sub>O2</sub>	Coefficiente de permeabilidad al oxígeno
comp	Compatibilizante
IMC	Concentración mínima inhibitoria
GC-MS	Cromatografía de gases acoplado a masas
DRX	Difracción de rayos x
$\Delta H_m$	Entalpía de fusión
FT-IR	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
%C	Grado de cristalinidad
DS	Grado de sustitución
$I_x$	Valor de integración para el plano seleccionado
$n_x$	Número de carbonos de cada grupo químico
PLA	Poliácido láctico
HDPE	Polietileno de alta densidad
HCO	Producto hidrolizado de aceite de coco
RMN	Resonancia magnética nuclear
$T_m$	Temperatura de fusión
$T_g$	Temperatura de transición vítrea
WVTR	Transmisión del vapor de agua

## Introducción

Previo a la segunda revolución industrial, los alimentos necesitaban poco o nada de empaque debido a que los productos naturales eran consumidos durante los días siguientes a su recolección.<sup>1</sup> Sin embargo, los cambios en la sociedad que se presentaron posteriormente trajeron consigo avances tecnológicos en diversas áreas, incluyendo los empaques para alimentos naturales con el objetivo de preservar su calidad e incrementar la vida útil de estos durante los procesos de almacenamiento y transporte.<sup>2</sup> Acorde con la necesidad de preservar productos alimenticios, se han usado diversos materiales para la fabricación de empaques, dentro de los cuales se encuentran el cartón, el vidrio, los metales y los plásticos.<sup>3</sup>

A pesar que los plásticos fueron descubiertos en el siglo XIX, solo fueron usados para la fabricación de empaques de alimentos a mediados del siglo XX.<sup>1</sup> Los empaques funcionan como una barrera al oxígeno, aromas y humedad en los alimentos. Además, previenen su contaminación y los protegen ante daños físicos, así como también proporcionan a los consumidores información importante del producto tales como su origen y las condiciones óptimas de almacenamiento.<sup>4</sup> Adicionalmente, muchos empaques pueden tener un efecto en el incremento de la vida útil de los alimentos, lo cual conlleva a la reducción en el desecho de los mismos.

En la industria alimenticia, el uso de polímeros de origen petroquímico tiene gran relevancia puesto que tienen múltiples aplicaciones dada su resistencia, durabilidad y bajo costo, siendo los más utilizados para la fabricación de empaques.<sup>5</sup> Así, por ejemplo, para el empackado de frutas se utiliza el polietileno (PE), no solo por la capacidad de envolver fácilmente los alimentos, sino también por los bajos costos de producción debido a la automatización en el proceso de fabricación.<sup>6</sup> Además, el PE genera películas claras, permitiendo la fácil inspección del contenido.<sup>7</sup> Otros polímeros como el polietileno

---

tereftalato (PET), cloruro de polivinilo (PVC), poliestireno (PS) y el polipropileno (PP) son también altamente usados en la industria de empaques para alimentos.<sup>5,8</sup>

En contraste con su versatilidad y bajo costo, los problemas generados por la industria plástica a nivel mundial son de gran preocupación debido a la contaminación medioambiental.<sup>9-12</sup> La gestión de los residuos plásticos ha sido ineficiente por el incremento desbordado en su utilización; las estadísticas indican que una tercera parte de los desechos son vertidos a la naturaleza causando serios problemas de contaminación terrestre, marina y de agua dulce.<sup>13</sup> Derivado de esta situación, la contaminación se ha convertido en un problema de salud pública, debido a que en los alimentos de ingesta humana se ha identificado contaminación por residuos de microplásticos, cuyas consecuencias en células humanas incluyen la hipersensibilidad citotóxica (alergias), el estrés oxidativo y la muerte celular, entre otras.<sup>14,15</sup> En consecuencia, con el fin de mitigar estos impactos, es necesaria la búsqueda de nuevos materiales que puedan reemplazar estos polímeros para el empaque de alimentos.<sup>16,17</sup>

Con el fin de reducir los problemas ambientales a causa de la producción de plásticos convencionales de origen petroquímico, se han propuesto diversas alternativas como lo es la producción de bioplásticos y polímeros biodegradables, donde el mayor representante de estos últimos es el polímero ácido láctico (PLA).<sup>18</sup> Polímero biodegradable, termoestable y termorresistente, obtenido por la polimerización de ácido láctico, el cual ha sido estudiado para el manejo de alimentos, la manufactura aditiva y en aplicaciones farmacéuticas.<sup>19</sup> De acuerdo con la conferencia *European Bioplastics* del 2018, se espera que el consumo de los bioplásticos aumente durante los próximos 5 años en un 36% y, por ende, el consumo de PLA aumente debido a las fuertes inversiones que han realizado países como China, Estados Unidos, España y Alemania para la instalación de plantas de producción.<sup>20</sup> El principal uso que tiene el PLA corresponde a su utilización en empaques y envases; en la última década diferentes empresas como *NatureWorks* y *Taghleef* han generado resinas de PLA que tiene diversas aplicaciones en el sector de empaques de verduras y frutas.<sup>21</sup> Sin embargo, el uso de este polímero puede ser limitado debido a inconvenientes en sus propiedades mecánicas e hidrofílicas, y es por esto que suele ser modificado con mezclas de polímeros, refuerzos, rellenos o plastificantes que cambian sus

propiedades de barrera, la temperatura requerida para extrusión y sus características higroscópicas.<sup>22-26</sup>

De otro lado, la celulosa (cell) es el biopolímero más abundante en el planeta y se encuentra almacenada en plantas, algas, hongos y microorganismos; su estructura es independiente de la fuente donde se adquiere.<sup>27,28</sup> Investigadores como Ghasemi y Nguyen<sup>29-32</sup> han demostrado que utilizar como refuerzo la celulosa en matrices poliméricas basadas en PLA logra variar las propiedades mecánicas, de permeabilidad y la cristalinidad del PLA.

Para resolver una de las limitaciones del PLA, y adicionalmente promover el cumplimiento de los objetivos de desarrollo impulsados por la Naciones Unidas desde 2015, se propone la generación de películas poliméricas de base biodegradable de PLA con celulosa acetilada (cell-acet) como aditivo, la cual cambiará sus propiedades de barrera ante agua y vapor de agua sin afectar en mayor medida la degradabilidad de la matriz original. Con el fin de lograr una incorporación estable entre el aditivo y la matriz, se utilizará celulosa de origen vegetal y se realizará una funcionalización para modificar su hidrofobicidad y por ende incrementar su compatibilidad con el PLA.<sup>30,33,34</sup>

El uso de aditivos en matrices poliméricas permite no solo la modificación de las propiedades físicas o mecánicas, sino también puede otorgar propiedades biológicas adicionales para un fin específico. En el área de empaques para alimentos, esto se denomina “empaques activos” la cual es un área de gran importancia e interés para la industria nacional ya que en Colombia dada su afortunada ubicación geográfica y su diversidad de climas, el cultivo y exportación de frutas exóticas ha venido en aumento durante los últimos años.<sup>35</sup> La alta demanda de frutas como la uchuva, gulupa, pitahaya y tomate de árbol ha requerido el control y mejoramiento de los procesos de cosecha y postcosecha para disminuir al máximo las pérdidas del producto, así como el cumplimiento de estándares de los clientes internacionales. Estos estándares, cubiertos en las buenas prácticas agrícolas (BPA), incluyen el control de agentes químicos o biológicos que puedan afectar la salud humana o que puedan aportar a la contaminación ambiental.<sup>36</sup>

Los avances de investigación en empaques activos para frutas son imperativos ya que una de las mayores afectaciones en los frutos de exportación corresponde a la *antracnosis*, la

cual es una enfermedad producida por el hongo del género *Colletotrichum* y afecta en una gran proporción a cultivos y frutos como el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*), reduciendo su calidad y el aprovechamiento de la totalidad de los frutos.<sup>37</sup> Por ende, la búsqueda de estrategias para el control de dichos patógenos es altamente necesaria.

Un ejemplo de los avances en investigación en empaques activos corresponde a la adición de ácido láurico a empaques de frutas el cual inhibe el crecimiento de hongos, incluyendo el *Colletotrichum tamarilloi*, aumentando con esto el tiempo de vida útil de los productos, Lo anterior, reportado en estudios previos desarrollados por el grupo de investigación en macromoléculas<sup>38</sup> y otros grupos alrededor del mundo.<sup>39,40</sup> Y aunque los trabajos antes mencionados se hicieron con ácido láurico comercial, el ácido láurico está en un porcentaje mayor al 30% en el aceite de coco, el cual es un subproducto de la agroindustria colombiana, principalmente en forma de triglicéridos, lo cual hace al aceite de coco una fuente económica y localmente disponible de ácido láurico para ser usado en la generación de empaques activos.<sup>41</sup> A partir de esto, el presente trabajo de investigación plantea también, la adición de la mezcla de los ácidos grasos libres provenientes de la hidrólisis del aceite de coco (incluyendo el ácido láurico y otros ácidos grasos de cadena media) a una matriz polimérica de PE de alta densidad (HDPE), en la que se busca obtener películas con un aditivo proveniente de material vegetal con propiedades antifúngicas.

De acuerdo con lo anterior, es importante resaltar que el objeto de estudio de la presente investigación es evaluar la aplicabilidad y producción de empaques hacia la industria agrícola donde se genera una película biodegradable de base polimérica PLA y aditivo de cell-acet, y un empaque de HDPE con producto de hidrólisis con alto contenido de ácido láurico como aditivo permitiendo reducir el crecimiento fúngico, demostrando así la posibilidad de aplicación en la industria agrícola como empaques de frutas.

## Objetivos

### Objetivo General

Desarrollar películas de poliácido láctico (PLA) y polietileno (PE) con celulosa acetilada (cell-acet) y un hidrolizado de aceite de coco (HCO) como aditivos, respectivamente, con propiedades ajustadas para su futuro uso como empaques en la agroindustria.

### Objetivos específicos

- Establecer una metodología para la funcionalización eficiente de celulosa, que permita el aumento de su hidrofobicidad.
- Obtener los ácidos grasos del aceite de coco mediante un proceso de hidrólisis.
- Generar películas de PLA con cell-acet como aditivo.
- Generar películas antifúngicas de PE con HCO como aditivo.
- Analizar la incidencia de la presencia de los aditivos en las películas de PLA y PE sobre sus propiedades de barrera y antifúngicas.

El presente documento está compuesto por tres capítulos, dos de los cuales explican la generación de los empaques y un capítulo final que expone las conclusiones y perspectivas finalizada la investigación.

El capítulo 1 describe los materiales, metodologías y caracterizaciones que se aplicaron para la generación de la biopelícula de base PLA, mientras el capítulo 2 lo describe para el empaque de base HDPE con propiedades antifúngicas.

Ambos empaques tienen como aditivos materiales de origen vegetal nacional, esto con el fin de hacer un aprovechamiento de residuos y generando así una aplicación exitosa de la economía circular y un aporte al cumplimiento de los objetivos de desarrollo sostenible planteados por la ONU.

# 1. Películas de PLA con cell-acet

Con relación al uso indiscriminado de empaques plásticos de origen petroquímico, se propone el uso del PLA, el cual puede ser de origen biológico o sintético, y debido a su biodegradabilidad representa una alternativa prometedora para la disminución de residuos no biodegradables que terminan afectando el medio ambiente.<sup>22,42</sup> El PLA es un termoplástico comúnmente utilizado en el sector de empaques dada su apariencia y economía. Sin embargo, el PLA no tiene las propiedades mecánicas y de barrera requeridas para su uso en cualquier alimento, especialmente en el empaque de frutas, debido a que presenta propiedades higroscópicas que causan degradación en la cadena polimérica y podría favorecer procesos fitosanitarios en las frutas, es por esto que requiere un aditivo que modifique sus propiedades, en este caso la celulosa acetilada (cell-acet).

En este capítulo se describen los materiales, métodos, caracterizaciones y resultados utilizados para obtener celulosa con aumento de hidrofobicidad y su aplicación como aditivo en películas de PLA como empaques para frutas.

En primera instancia, se da el desarrollo del primer objetivo específico que consistió en establecer una metodología para la funcionalización eficiente de celulosa, que permitiera el aumento de su hidrofobicidad. Posteriormente, se exponen los objetivos específicos, que corresponden a la generación de películas de PLA con la cell-acet como aditivo y el análisis sobre la incidencia del aditivo en las películas de PLA sobre sus propiedades de barrera.

## 1.1 Materiales

La celulosa utilizada es extraída de madera y fue comercialmente adquirida (bajo el nombre de “celulosa microcristalina”) de la empresa Profinas SAS (Cali, Colombia). Esta celulosa se usó sin tratamiento. Por su parte, la base polimérica de PLA fue adquirida de la empresa



Corbion, con referencia Luminy LX175. Previa a su utilización, los pellets fueron secados en horno por 24 horas a una temperatura de 90 °C.

En cuanto a los reactivos empleados como anhídrido acético, ácido cítrico y etanol, fueron adquiridos de Sigma Aldrich®.

## 1.2 Métodos

Para la utilización como aditivo, a la celulosa se le realizó un procedimiento de modificación con el fin de aumentar su hidrofobicidad y con esto su compatibilidad con el polímero PLA, este método correspondió a la acetilación catalizada por ácido cítrico.

### 1.2.1 Acetilación

Debido a la naturaleza hidrofílica de la celulosa dada por los grupos hidroxilo, se realizó una reacción de acetilación siguiendo el método aplicado por Ávila Ramírez y colaboradores,<sup>43</sup> el cual consistió en la adición de 20 g de celulosa, 12 g de ácido cítrico y 200 mL de anhídrido acético a un balón aforado con condensador de reflujo a 120 °C durante 24 horas y agitación magnética a 350 rpm. Finalizada la reacción, al sólido obtenido se le realizaron lavados con etanol y agua hasta pH neutro y se secó en horno a 60 °C durante 24 horas. El material seco fue utilizado en la extrusión y para los ensayos de caracterización como espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), resonancia magnética nuclear en estado sólido (RMN), difracción de rayos X (DRX) y ángulo de contacto.

### 1.2.2 Generación de películas

Para la generación de películas monocapa se utilizaron dos métodos. Inicialmente, se realizaron películas de PLA con y sin aditivo mediante la metodología de *solvent casting*. En esta, se utilizaron soluciones del polímero al 3 %w/w en cloroformo, y con aditivo de cell-acet al 1 %w/w para el segundo caso. Donde la mezcla PLA – cell-acet fue agitada por 3 horas, luego depositada en cajas de Petri de 10 cm de diámetro y finalmente secada por 24 horas a temperatura ambiente.

De otro lado, películas generadas por extrusión, fueron obtenidas en una extrusora BKLAB28 de único tornillo con un diámetro de 28 mm y una relación longitud diámetro de 28:1, a una

velocidad de tornillo de 40 rpm y tres zonas de calentamiento con temperaturas entre 190 y 220 °C. Para las películas con cell-acet como aditivo, los pellets de PLA y la cell-acet fueron mezclados de manera manual previo a su extrusión.

## **1.3 Caracterización**

Con el fin de comprobar los productos obtenidos en los procedimientos previamente descritos, se realizaron ensayos de caracterización presentados a continuación.

### **1.3.1 Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)**

La celulosa previa y posterior a su funcionalización fue caracterizada por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) para identificar los grupos funcionales presentes. El análisis FT-IR se realizó en un espectrómetro Shimadzu Prestige 21 (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan), entre 700 y 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Las muestras fueron mezcladas con KBr previamente seco en proporción 1:30 y se generaron pastillas a presión.

### **1.3.2 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)**

Se obtuvieron espectros RMN en estado sólido de la celulosa prístina y cell-acet en un espectrómetro Varían Unity Inova 300  $^1\text{H}$  Frecuencia: 300 MHz (7,05 Tesla).

### **1.3.3 Cristalinidad de cell-acet DRX**

Los ensayos de difracción de rayos x (DRX) se llevaron a cabo en un sistema Rigaku Miniflex 600, usando un rango de  $2\theta$  de 3° a 120° en modo de reflexión, con una fuente de Cu (600 W, 40 kV – 15 mA).

### **1.3.4 Comportamiento térmico: TGA**

Esta caracterización fue realizada a la cell-acet y a las películas de PLA con esta como aditivo, en un TGA 1 SF/1100/268TGA de Mettler Toledo, con muestras de entre 2 y 3.5 mg. Los ensayos fueron realizados bajo atmósfera de nitrógeno (50 mL/min), calentadas de 30 °C a 700 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/min.

### **1.3.5 Hidrofobicidad**

El cambio de hidrofobicidad de la celulosa antes y después de su acetilación fue evaluado por el método de la gota según la norma ASTM D7490,<sup>44</sup> donde se mide el ángulo de contacto de una gota de agua (10  $\mu$ L) que se deja caer a 20 mm sobre la superficie a evaluar, luego de 30 segundos de estabilización. Se generaron películas de celulosa mediante la dispersión de esta al 10 % en cloroformo y su posterior secado sobre un portaobjetos. Esta medición también se realizó sobre las películas de PLA con y sin aditivo.

### **1.3.6 Apariencia de los empaques**

El espesor de los empaques fue medido por quintuplicado en diferentes áreas de las muestras, usando un micrómetro digital Mitutoyo 293 (Kawasaki, Japón) con una resolución de 1  $\mu$ m.

### **1.3.7 Estereoscopía**

Se realizó un registro de la superficie de las películas obtenidas por extrusión, mediante un estereoscopio Nikon SMZ800, con una pantalla para la captura y dimensionamiento de imágenes DS-L3.

### **1.3.8 Propiedades mecánicas**

Las propiedades mecánicas de las películas fueron determinadas de acuerdo con la norma ASTM D 882, en una máquina universal de ensayos universales Shimadzu AG-IS, a temperatura ambiente, con una celda de carga de 5 kN, a una velocidad de desplazamiento de 25 mm/min. Las probetas utilizadas fueron de rectángulos de cada una de las películas de 100 mm x 10 mm. Además, se realizaron las curvas de esfuerzo – deformación promedio para cinco muestras de cada película.

### **1.3.9 Análisis termogravimétrico (TGA)**

Los análisis termogravimétricos se llevaron a cabo en un TGA 1 SF/1100/268TGA de Mettler Toledo, con muestras de entre 2 y 3,5 mg. Los ensayos fueron realizados bajo atmósfera de nitrógeno (50 mL/min), calentadas de 30 °C a 700 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/min.

### 1.3.10 Comportamiento térmico: DSC

Los DSC fueron obtenidos en un equipo Mettler Toledo DSC 1/500/2722, bajo atmósfera de nitrógeno (flujo de 50 mL/min) con un rango de temperatura entre 25 °C hasta 200 °C y con una rampa de calentamiento de 10 °C/min.

El cálculo del porcentaje de cristalinidad (%C) del material se realizó mediante la ecuación 1:

$$\%C = \frac{\Delta H_m}{w\Delta H_m^o} * 100 \text{ (Ecu 1)}$$

En donde  $\Delta H_m$  es la entalpía de fusión,  $w$  es el peso de la muestra de PLA y  $\Delta H_m^o$  es la entalpía de fusión teórica para el PLA 100% cristalino; 93,6 J/g.<sup>45</sup>

### 1.3.11 Permeabilidad

Se realizaron ensayos de permeabilidad ante el vapor de agua y el oxígeno siguiendo la metodología de Garavito y colaboradores<sup>46</sup> Para esto, se sellaron celdas de acero con las películas a probar, en el primer caso las películas contenían agua, mientras en el segundo se removió el oxígeno de su interior por arrastre con nitrógeno. Posteriormente, se determinaron los valores de permeabilidad a partir de las diferencias en masa y cantidad de oxígeno, respecto al tiempo y área de transferencia, respectivamente.

La determinación de la velocidad de transmisión del vapor de agua ( $WVTR$ ) se realizó aplicando la metodología de la ASTM E 96 - 95<sup>47</sup> aplicando la ecuación 2:

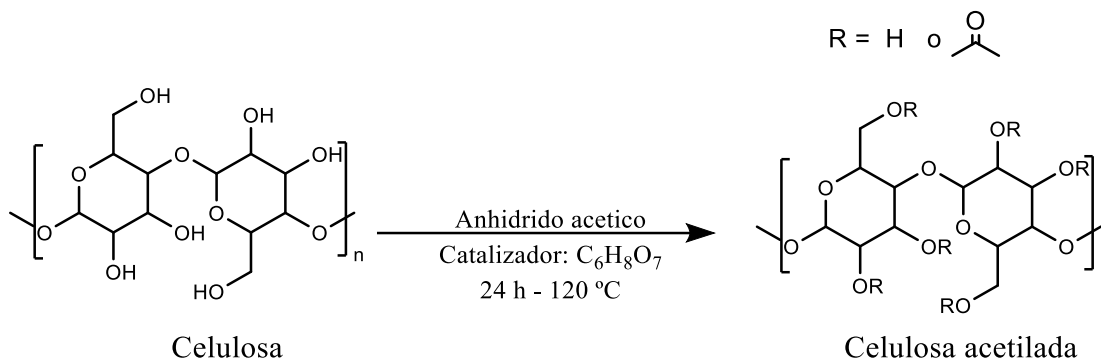
$$WVT = \frac{w}{t * A} \text{ (Ecu 2)}$$

Donde  $w$  corresponde al cambio en el peso del recipiente en gramos,  $t$  el tiempo transcurrido durante ese cambio en horas y  $A$  es el área del ensayo (apertura del recipiente) en metros cuadrados. Este ensayo se realizó a 38 °C y 55,5 % de humedad relativa.

De otro lado el aumento de la cantidad de oxígeno al interior de las celdas fue registrado mediante un analizador OpTech-O<sub>2</sub> Modelo P, a temperatura ambiente (20,5 °C promedio) y 49 % de humedad relativa. Con estos registros se estimó la velocidad de permeación del O<sub>2</sub> y se obtuvo el coeficiente de permeabilidad de cada muestra.

## 1.4 Resultados y Análisis: Generación de aditivo

Los ensayos realizados empleando la metodología de acetilación, permitieron evaluar la eficiencia en la sustitución de los grupos hidroxilos de la celulosa (Figura 1).



*Figura 1. Reacción de acetilación de celulosa.*

La acetilación del material por acción del anhídrido acético en presencia de ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ) a  $120\text{ }^\circ\text{C}$  por 24 horas, tuvo un rendimiento de un 92,2% en masa, y presentó un cambio en la apariencia tomando una tonalidad café-oscura (Figura 2).



*Figura 2. 50 mg de celulosa prístina (izq) y 50 mg de celulosa acetilada (der.).*

En un primer análisis del material mediante espectroscopia infrarroja (FT-IR, Figura 3), se detalla que la celulosa antes (---) y después de la reacción (---), presenta bandas asociadas al anillo de glucosa, como los estiramientos del grupo OH en la región de  $3372\text{ cm}^{-1}$  y de  $1642\text{ cm}^{-1}$ , además de la flexión CH para alifáticos en la región de  $2914\text{ cm}^{-1}$ . Lo que demuestra la estabilidad de la celulosa posterior a la reacción. Por otro lado, el espectro de la celulosa sometida a 24 horas de reacción (---) muestra dos señales características del éster generado, por un lado, el estiramiento del carbonilo ( $1741\text{ cm}^{-1}$ ) y también los estiramientos asimétricos y simétricos del mismo grupo funcional ( $1243\text{ cm}^{-1}$ ).<sup>43</sup> Cabe detallar que la celulosa prístina (---) no presentó estas últimas dos bandas, confirmando la acetilación.

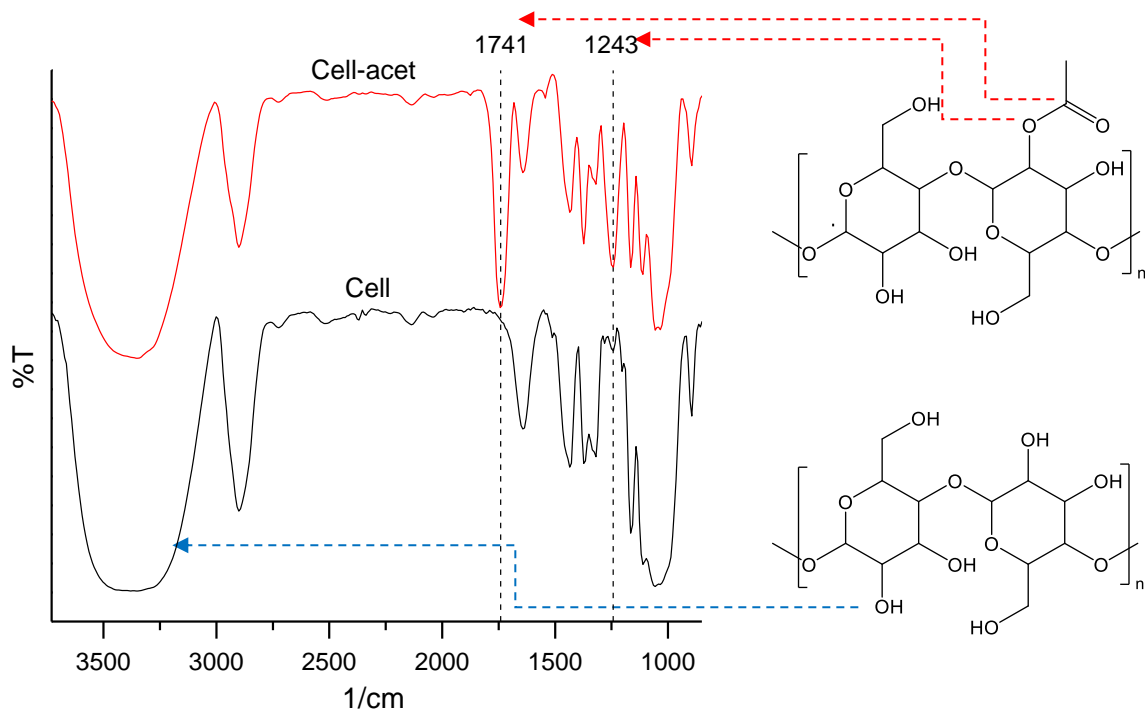
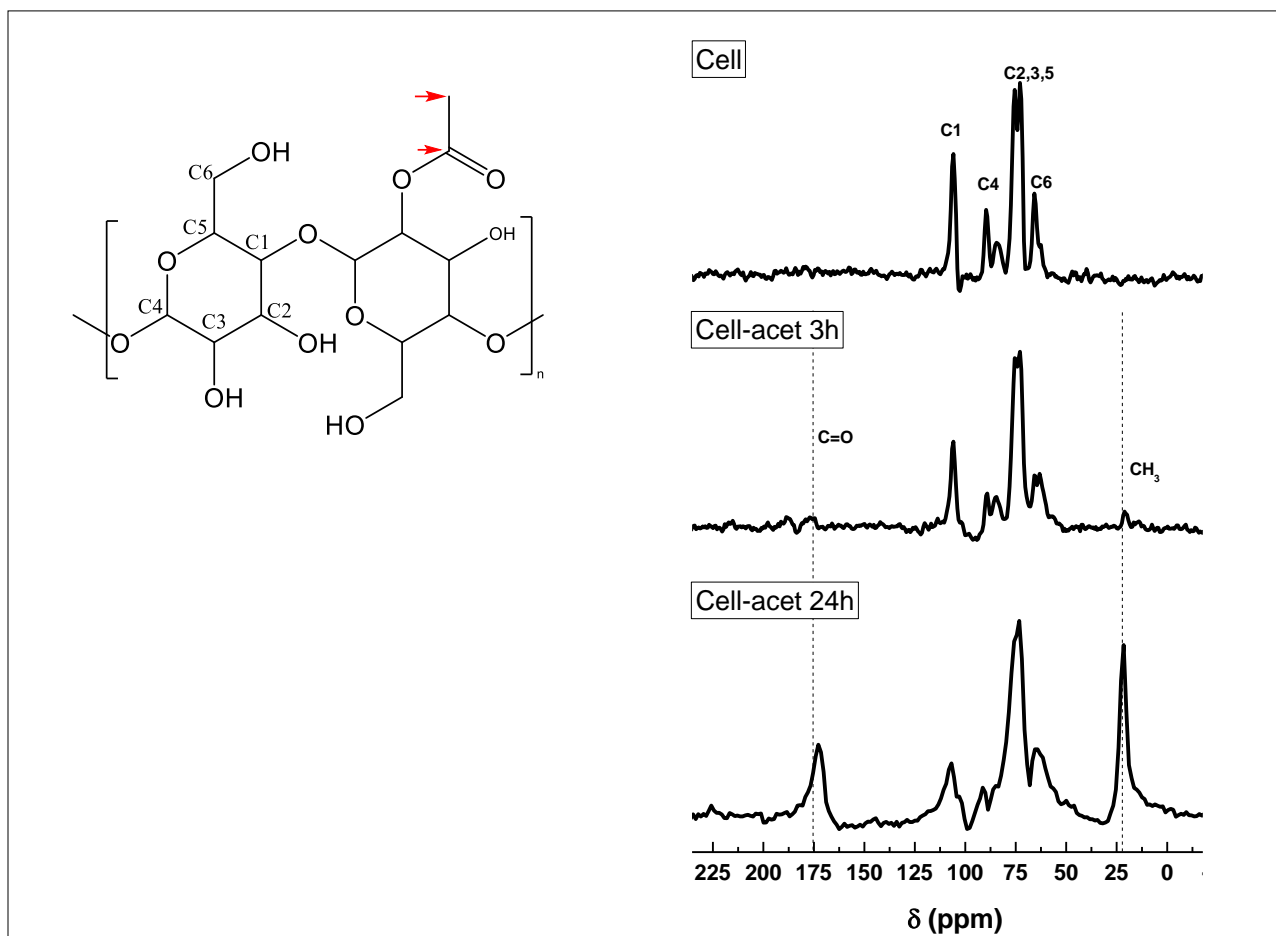


Figura 3. FTIR de celulosa prístina (negra) y acetilada (roja).

Con el fin de hacer una mejor caracterización de la cell-acet, el material obtenido se caracterizó empleando CP/MAS C<sup>13</sup>-NMR definida para muestras en estado sólido y derivadas de la celulosa.<sup>48</sup> En la Figura 4, se muestra tanto la resonancia de la celulosa y la cell-acet, y cómo se relacionan ambas moléculas. Para caracterizar ambos sistemas las señales de carbono C<sub>1</sub> ( $\delta$ :105 ppm), C<sub>4</sub> ( $\delta$ :87 ppm), C<sub>2-5</sub> ( $\delta$ :75 ppm) y C<sub>6</sub> ( $\delta$ :64 ppm) están asociados al anillo de la molécula de glucosa (Figura 4). Como se detalla en la resonancia de la cell-acet, la presencia de dos señales adicionales confirma el éxito de la reacción. Por un lado, la señal sobre el cambio químico de  $\delta$ :175 ppm corresponde al carbono del grupo C=O (carbonilo conjugado), mientras la señal asociada al carbono del metilo lateral del acetato se observa sobre  $\delta$ :23 ppm, señales detalladas en investigaciones previas que confirman la acetilación del material.<sup>49,50</sup>



**Figura 4.** A. Estructura de celulosa acetilada. B. CP/MAS  $\text{C}^{13}$ -NMR de celulosa prístina (Cell) y celulosa acetilada a 3 horas y 24 horas.

Un factor importante que determina el comportamiento mecánico y químico de la celulosa funcionalizada corresponde al grado de acetilación, el cual puede ser determinado relativo a la celulosa prístina mediante los datos obtenidos en el NMR, para obtener este valor se emplearon los cambios químicos de  $\delta$ :175 ppm y  $\delta$ :23 ppm y la ecuación 3:

$$DS_{NRM} = \left( \frac{n_{cell} \cdot I_{acet}}{n_{acet} \cdot I_{cell}} \right) \quad (\text{Ecu 3})$$

donde  $n_{cell}$  y  $n_{acet}$  corresponden a el número de carbonos de cada grupo químico ( $n_{cell}$ : 6 y  $n_{acet}$ :2), y  $I_{acet}$  y  $I_{cell}$  son los valores de integración de dichos 6 carbonos para el anillo de glucosa y 2 para el grupo acetato señalado en la Figura 4A. Basados en lo anterior, la cell-acet presentó un grado de sustitución ( $DS$ , *degree of substitution*) de 0,18 a 3 h de reacción y un considerable aumento a 1,24 para las 24 h. Estos valores obtenidos de  $DS$  a diferentes

tiempos demuestran que en efecto la celulosa es acetilada progresivamente de manera estable y sin cambios químicos en la estructura principal del polímero. Además, dichos *DS* son altos en relación a los reportados en diferentes investigaciones previas, los cuales oscilan entre 0,20 y 1,40,<sup>51</sup> lo que ofrece un indicio sobre el posible aporte al aumento de la hidrofobicidad del PLA cuando esta es mezclada con la cell-acet para la posterior formación de los empaques.

En un segundo análisis desarrollado para determinar el comportamiento cristalográfico de la cell-acet, se obtuvo el perfil de difracción de dicho material, el cual se comparó con la celulosa pura.

En la Figura 5, se muestran los DRX de las dos muestras. Por un lado, la celulosa pura (----) muestra los tres picos asociados a celulosa cristalina con  $2\Theta$ :  $22,7^\circ$  (002),  $15^\circ$  (101) y  $34,8^\circ$  (040), siendo los ángulos de difracción esperados para una celulosa tipo I.<sup>52</sup> Basado en lo anterior, en la misma figura se observa que el patrón de difracción de la cell-acet (---), la cual no presenta cambios en sus señales y por ende en su identidad en los planos del material.

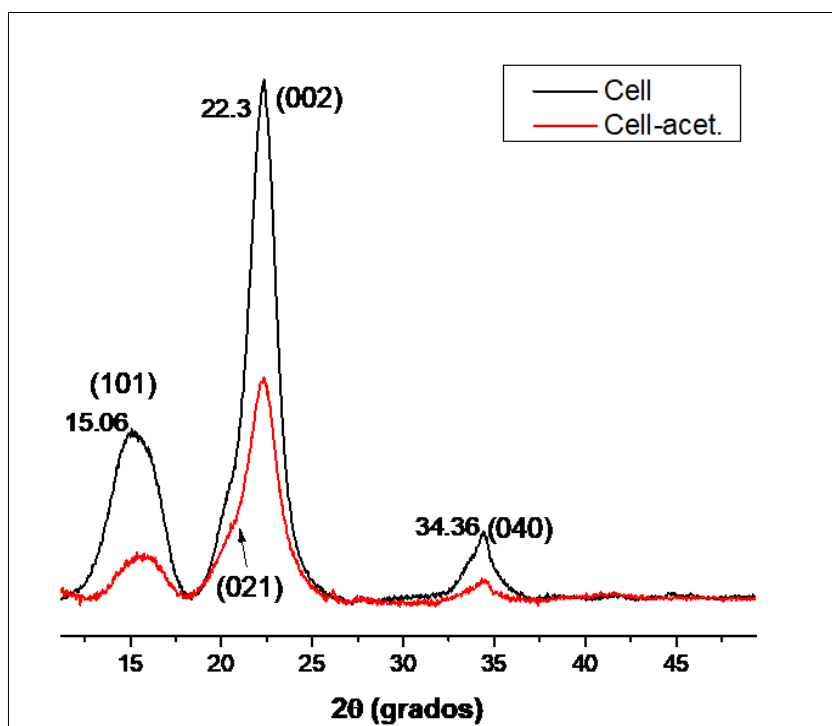


Figura 5. DRX de celulosa prístina (negra) y acetilada (roja).



Lo anterior, corroborando la estabilidad estructural de la celulosa, e indicando que la reacción en primera medida se da sobre los dominios amorfos de la celulosa, los cuales son más susceptibles a funcionalización.<sup>53</sup> Aunque el arreglo cristalino de la celulosa no se ve afectado, existen regiones donde coexisten dominios amorfos que al adquirir mayor movimiento con el grupo éster, afecta las fuerzas de puentes de hidrógeno tanto *intra* como *intermoleculares* entre lamelas de celulosa, obteniendo así un menor grado de cristalinidad (%C) en la cell-acet (Tabla 1). El grado de cristalinidad fue calculado por la ecuación de Segal (Ecu 4),<sup>54</sup> donde  $I_{002}$  es la máxima intensidad del plano 002 en  $22^\circ$  ( $2\theta$ ) e  $I_{am}$  corresponde a la intensidad mínima entre los picos (002) y (101).

$$\%C = \frac{[I_{002} - I_{am}]}{I_{002}} * 100 \quad (Ecu 4)$$

**Tabla 1.** Resumen de análisis de cristalinidad de celulosa prístina (cell) y celulosa acetilada (cell-acet).

Muestra	$2\theta_{002}$	$I_{002}$	$I_{am}$	%C	FWHM ( $2\theta$ )	Tamaño Cristal (nm)
cell	22,34	148,14	48,28	67,41	1,74	8,27
cell- acet	22,34	63,06	25,00	60,35	1,87	7,70

En la tabla anterior se evidencia que los cambios en la cristalinidad repercuten en el tamaño de cristal de la celulosa, siendo los acetilados de menor tamaño que los de la celulosa pura; este tamaño de cristal fue calculado por la ecuación de Scherrer (Ecu 5),

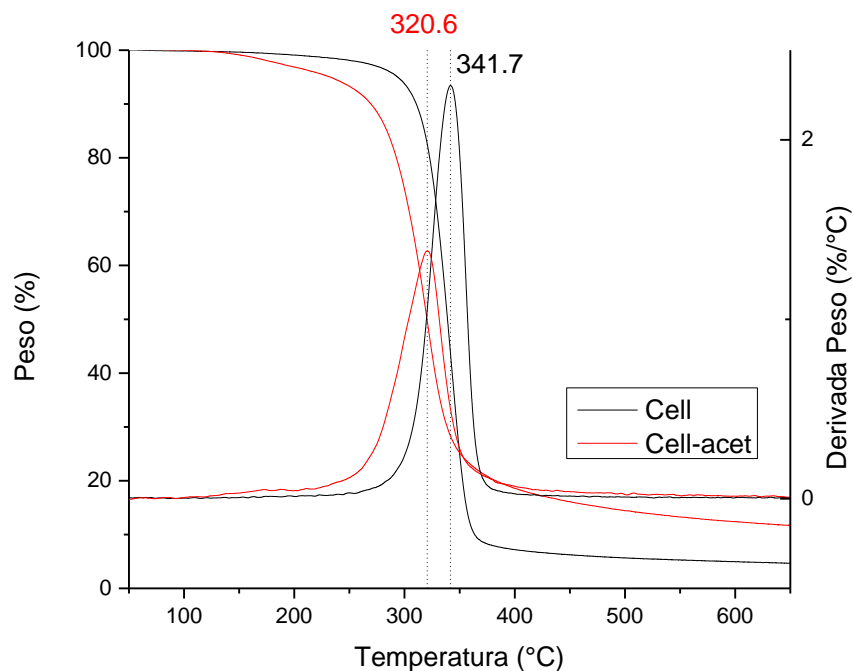
$$Tamaño\ de\ cristal = \frac{0,94 * \lambda}{\beta * \cos \theta} \quad (Ecu 5)$$

Donde  $\lambda$  es la longitud de onda del haz de rayos X ( $1,54 \text{ \AA}$ ),  $\beta$  corresponde al ancho total a medio máximo del pico seleccionado (FWHM) y  $\theta$  es el ángulo  $2\theta$  del pico seleccionado.

De los resultados de *DS*, *%C* y *tamaño de cristal*, se hace notorio que la cell-acet al presentar un alto número de grupos éster expuestos y menores zonas cristalinas, permitiría una mayor afinidad con las cadenas del PLA, y un tratamiento mecánico y térmico menos dispendioso en la técnica de extrusión. Para determinar la viabilidad térmica, mecánica e hidrofobicidad se realizaron análisis de TGA, ángulo de contacto y ensayos mecánicos.

### 34 Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica PLA y PE para la conservación de frutas

Las curvas termogravimétricas de la celulosa pura (---) y cell-acet (---) son señaladas en la Figura 6. Se observa que la celulosa pura inicia su descomposición ( $T_d$ ) a los 149,8°C y tiene una máxima temperatura de descomposición ( $T_{max}$ ) de 341°C. Mientras que la cell-acet tiene un  $T_d$ : 205,5°C y  $T_{max}$ :320,6 °C. La cell-acet evidentemente modificó su estabilidad térmica con la funcionalización, indicando que con la incorporación de grupos acetato se adquiere una mayor movilidad de las moléculas, tal vez debido a un menor número de interacciones intercadena, como puentes de hidrogeno. Lo cual hace que la cell-acet requiera menos energía que la celulosa pura para su descomposición. Este decrecimiento de la estabilidad térmica también se demuestra al detallar que a los valores de  $T_{max}$ , la cell-acet pierde un 4,4% más de masa que la celulosa pura, siendo sus porcentajes de masa perdida de 49,0% y 44,56% respectivamente.

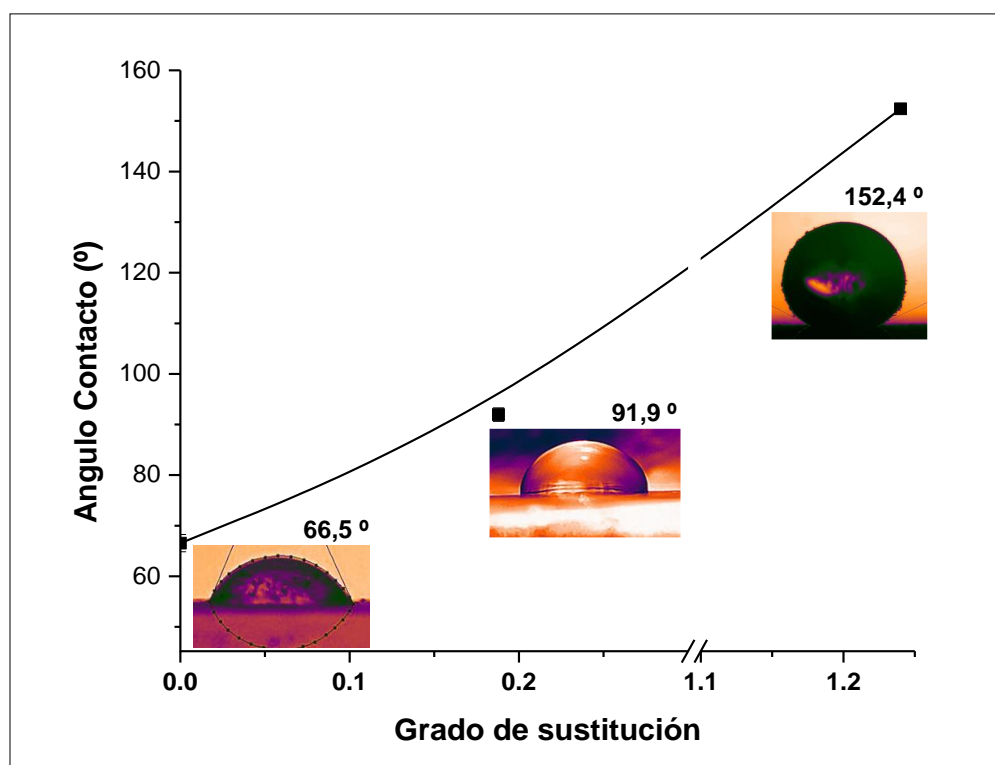


**Figura 6.** Curvas de TGA y DTGA de celulosa prístina (negra) y acetilada (roja).

Cabe resaltar que aunque la cell-acet disminuye su estabilidad térmica, el valor de  $T_d$  no se encuentra próximo al valor de procesamiento por extrusión del PLA (180°C). Y por ende adicionar cell-acet a PLA durante la extrusión, este aditivo no se descompondrá y mantendrá sus propiedades fisicoquímicas.

Para efectos de estudiar la hidrofobicidad de la celulosa antes y después de la acetilación, el ángulo de contacto generado entre la superficie de la celulosa y la gota de agua fue medido.

En el caso de la celulosa sin ningún tratamiento, esta absorbe rápidamente la gota de agua, presentando un ángulo temporal de  $66,5^\circ$ . Por otro lado, las muestras cell-acet retienen por más tiempo el agua en la superficie, y presentan un aumento progresivo en su hidrofobicidad de acuerdo al grado de sustitución (DS), pasando de  $91,9^\circ$  (DS 0,188) a  $152,4^\circ$  (DS 1,24). Con lo cual se comprueba un alto grado de hidrofobicidad de la cell-acet con respecto al material inicial, celulosa pura.



*Figura 7. Cambio del ángulo de contacto para la cell-acet respecto al grado de sustitución dada la acetilación.*

Es de detallar que con el aumento en los grupos acetato sobre la superficie de la celulosa, las interacciones de puente de hidrógeno dadas entre los grupos  $-OH$  y el agua han disminuido, debido a que los grupos metilo del acetato irrumpen dichas fuerzas, disminuyéndolas y por ende aumentando la hidrofobicidad, lo cual es evidenciado en sus ángulos de contacto.

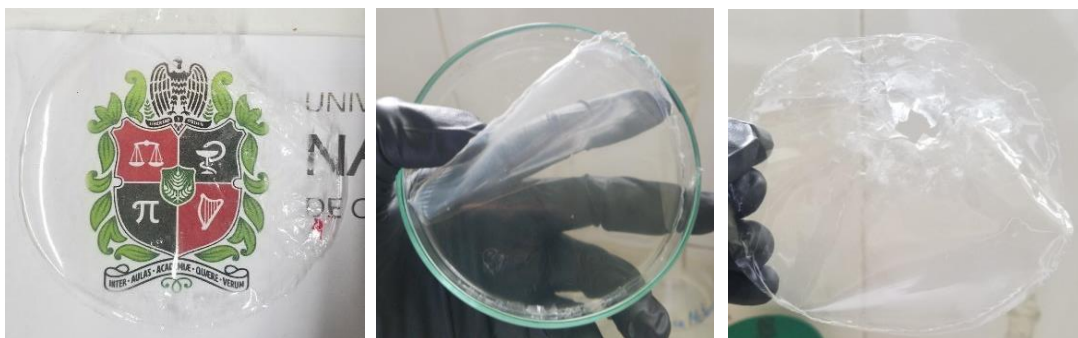
Basado en los resultados referentes al aditivo cell-acet, se decidió evaluar el efecto que genera este en las propiedades mecánicas y de barrera en películas de PLA.

## 1.5 Resultados y Análisis: Caracterización de las películas

En esta sección se describen los análisis realizados a los ensayos de caracterización de las películas obtenidas.

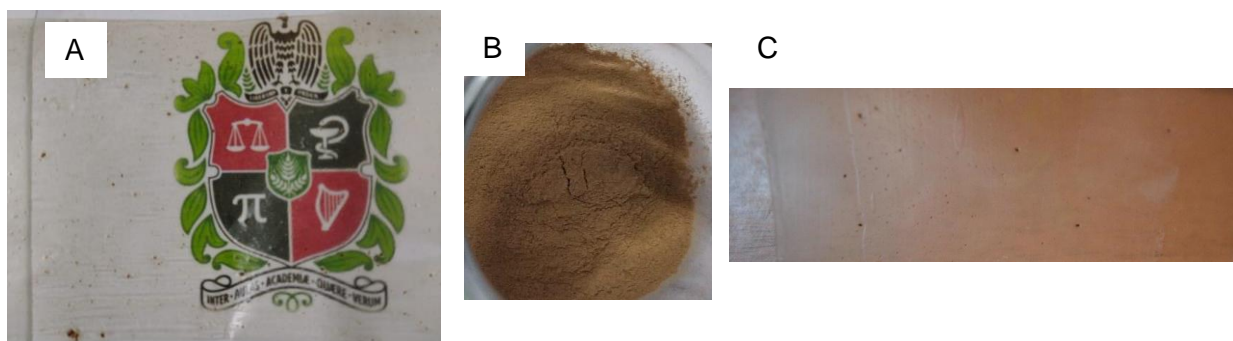
### 1.5.1 Apariencia de los empaques

En una primera aproximación y teniendo en cuenta el poco material polimérico necesario para las pruebas, las películas de PLA fueron generadas por el método de *solvent casting*. Obteniendo películas de 10 cm de diámetro y un calibre variable (entre  $0,2 \pm 0,35$  mm, Figura 8). En estas películas, el calibre se ve afectado con la masa de pellets disueltos en cloroformo teniendo una relación entre el 3 y el 5 % w/w. Además de esto, las películas con mayor masa presentan menor homogeneidad, mostrando la presencia de burbujas u “olas” en la superficie, posiblemente debido a una mayor viscosidad de la solución preparada.



*Figura 8. Detalle de transparencia, obtención y defectos de películas de PLA obtenidas por solvent casting.*

Sin embargo, dada la baja reproducibilidad que tuvieron las películas de PLA por *solvent casting*, se decidió pasar inmediatamente a la formación de películas por el método de extrusión. Las películas de solo PLA extruidas presentaron espesores de  $19,7 \mu\text{m} \pm 2,5 \mu\text{m}$ , mientras que, las películas PLA/cell-acet a un 3% (w/w) inicialmente obtenidas, presentaron aglomerados del aditivo, lo que llevaba a espesores variables que llegaron hasta  $41,4 \pm 3,8 \mu\text{m}$ . Teniendo en cuenta variados problemas durante la extrusión de las películas PLA/cell-acet al 5% (w/w), se decidió solo trabajar por extrusión al 3% (w/w). Por lo tanto, todos los resultados en adelante mostrado son de PLA/cell-acet a un 3 % (w/w).



**Figura 9.** Detalle de defectos de las películas de PLA/cell-acet obtenidas por extrusión previo (A) y posterior (C) a la adición de la molienda de la cell-acet (B).

Debido al problema antes mencionado, a la cell-acet se le realizó un procedimiento de molienda previo a la extrusión. Este proceso se llevó a cabo usando un mortero de laboratorio hasta que el material tuviera apariencia de polvo homogéneo. Y aunque este proceso de molienda del aditivo disminuyó el tamaño y cantidad de las aglomeraciones, estas aún fueron visualmente evidentes (Figura 9). Por lo tanto, y para dar solución a esto, se planteó el uso de un agente compatibilizante (comp) en muy baja proporción (0,5 % w/w) el cual correspondió a Makropol F; mezcla de esteres derivados del ácido oleico y palmítico, aditivo para empaques de gulupa desarrollado por Gutiérrez en el grupo de investigación en macromoléculas.<sup>55</sup> Efectivamente, la presencia de este compatibilizante ayudó a obtener películas de espesor homogéneo ( $23,0 \pm 2,9 \mu\text{m}$ ), eliminó las aglomeraciones del aditivo y también eliminó las rasgaduras producidas durante la rotación del tornillo dentro de la extrusora (Figura 10).



**Figura 10.** Detalle de película de PLA/cell-acet/comp obtenida por extrusión.

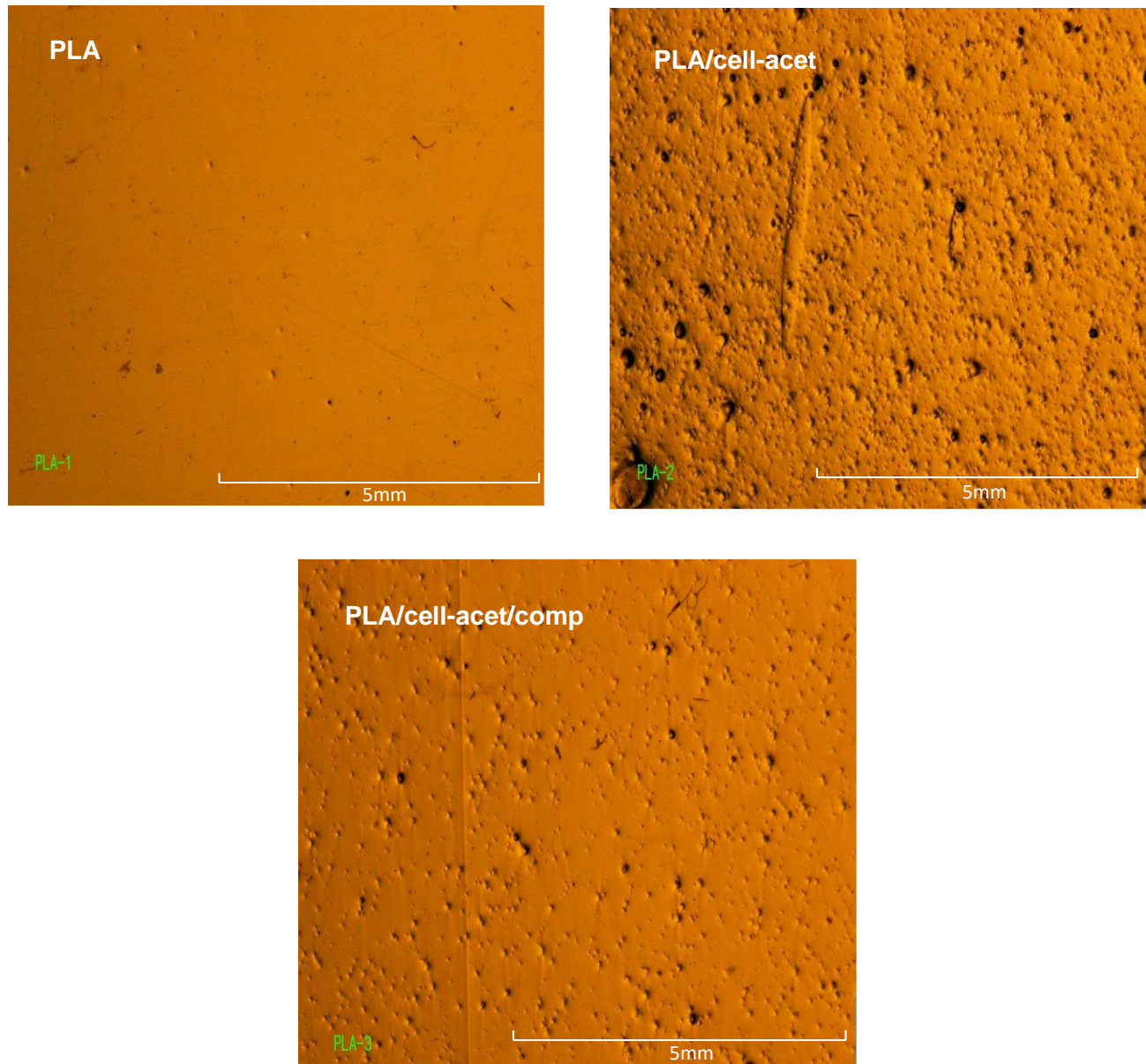
Las imágenes estereoscópicas de las películas muestran el cambio de la superficie del material cuando se incluye la cell-acet con y sin el compatibilizante en el PLA. Una cantidad de imperfecciones son detalladas en las espectroscopias de las películas con la incorporación de cell-acet (Figura 11), y una vez se incorpora el compatibilizante estas imperfecciones son



**38** Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica PLA y PE para la conservación de frutas

---

disminuidas mejorando la interfaz entre el PLA y la cell-acet, arrojando una superficie con menor rugosidad.



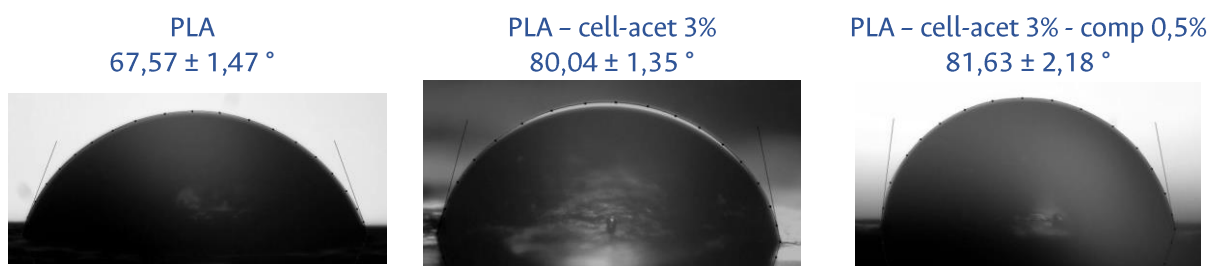
*Figura 11. Estereoscopia superficial de películas de PLA (PLA-1), PLA/cell-acet (PLA-2) y PLA/cell-acet/comp. (PLA-3).*

### 1.5.2 Hidrofobicidad

Dentro de las pruebas realizadas a las películas extruidas, se incluyó la medición del ángulo de contacto con el fin de determinar si existe o no un cambio en la hidrofobicidad de la matriz

polimérica de PLA. Efecto altamente deseado en este trabajo, ya que, al aumentar la hidrofobicidad de un empaque de PLA, este empaque tendría un mayor tiempo de vida en uso, antes de empezar su proceso de biodegradación y en consecuencia la pérdida de sus propiedades mecánicas. Como se observa en la Figura 12, la película de PLA sin ningún tipo de aditivo exhibe un ángulo de  $67,57^\circ$ , quedando dentro del rango reportado por varios autores<sup>56</sup> (entre  $60$  y  $85^\circ$ ). Si bien se espera que el ángulo de contacto sea el mismo para un mismo material, la dispersión en resultados y su amplio rango esta dado por la rugosidad del material y algunas veces el equipo y la metodología empleada. Ya que muchos autores usan equipos “home-made” y no reportan el tiempo de estabilización (tiempo entre la deposición de la gota y la toma de la imagen).

De otro lado, la adición de cell-acet aumenta considerablemente el ángulo de contacto en cerca de  $12,5^\circ$ , mientras que la adición de compatibilizante no muestra un efecto representativo en la hidrofobicidad.



**Figura 12.** Angulo de contacto de películas extruidas de PLA, PLA/cell-acet, y PLA/cell-acet/comp.

### 1.5.3 Propiedades mecánicas

Las tres películas, PLA, PLA/cell-acet y PLA/cell-acet/comp, fueron evaluadas respecto a los cambios de esfuerzo y deformación, sus dimensiones se encuentran resumidas en la Tabla 2 y las curvas obtenidas se muestran en la Figura 13.

**Tabla 2.** Dimensiones de películas base PLA obtenidas por extrusión.

Película	Espesor ( $\mu\text{m}$ )	Área ( $\text{mm}^2$ )	Esfuerzo a la ruptura (MPa)	Deformación a la ruptura (%)	Módulo de Young (GPa)
PLA	$19,7 \pm 2,5$	0,197	110	9,8	4,0
PLA/cell-acet	$41,4 \pm 3,8$	0,414	55	2,8	2,6
PLA/cell-acet/comp	$23,0 \pm 2,9$	0,230	113	11,0	4,0

Al analizar los resultados de la película de PLA se puede observar que el material presenta un comportamiento elástico con un módulo de Young de 4,0 GPa, posteriormente pasa a un estado plástico hasta su ruptura antes de llegar al 10 % de su deformación. En el caso de PLA/cell-acet se evidencia que las propiedades mecánicas fueron altamente afectadas ya que no presenta el comportamiento plástico rompiéndose antes del 3 % de deformación a esfuerzo de 57,3 MPa (Figura 13). Esta alteración en la resistencia mecánica puede ser consecuencia de la poca homogeneidad y las imperfecciones presentadas en la película.

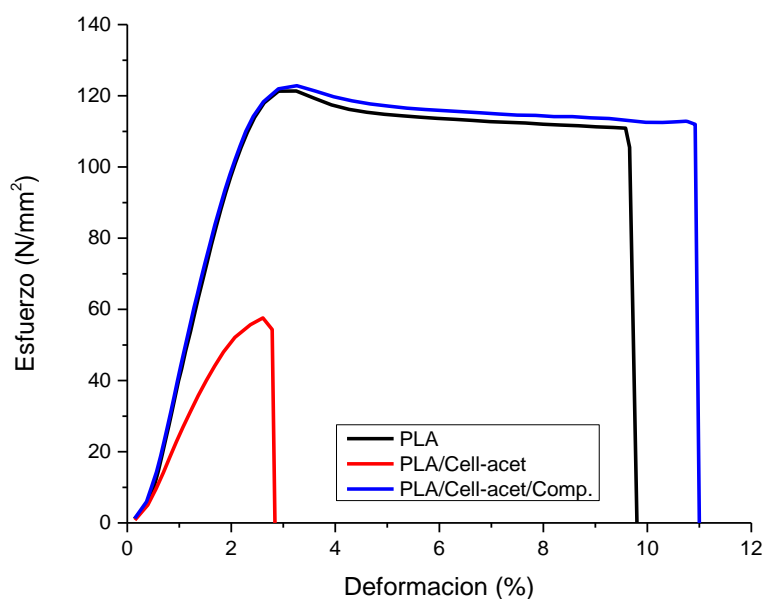


Figura 13. Curvas de esfuerzo – deformación de películas de base PLA.

Finalmente, la presencia del compatibilizante en la película PLA/cell-acet/comp retorna las propiedades mecánicas presentadas por la película de PLA, teniendo una resistencia al esfuerzo máximo cercano a 120 MPa, un módulo de Young de 4,0 GPa y presentado la ruptura en el 11 % de la deformación. Es importante resaltar que las propiedades del PLA/cell-acet/comp son similares contra el PLA comercial, lo cual era lo buscado en este trabajo. Ya que uno de los retos del grupo de investigación de macromoléculas de la Universidad Nacional de Colombia es llegar a materiales biodegradables que sustituyan al polietileno de baja densidad en empaques para la agroindustria. Así que obtener una película de PLA biodegradable e hidrofóbica con similares propiedades mecánicas al PLA es altamente deseable. Así que para llegar al módulo elástico del LDPE (0.3 GPa) y una deformación superior al 100 %, ideal para su aplicación en empaque de alimentos,<sup>57</sup> implica el uso de



mezclas de PLA/cell-acet/comp con otros polímeros biodegradables más flexibles como el PHBV.

Si bien las propiedades mecánicas de la película de PLA no mejoraron con la presencia de la cell-acet como aditivo, alternativas como la adición del compatibilizante, logró mejorar la dispersión y la distribución de la cell-acet y así aumentar el porcentaje de deformación de la película.

#### 1.5.4 Comportamiento térmico

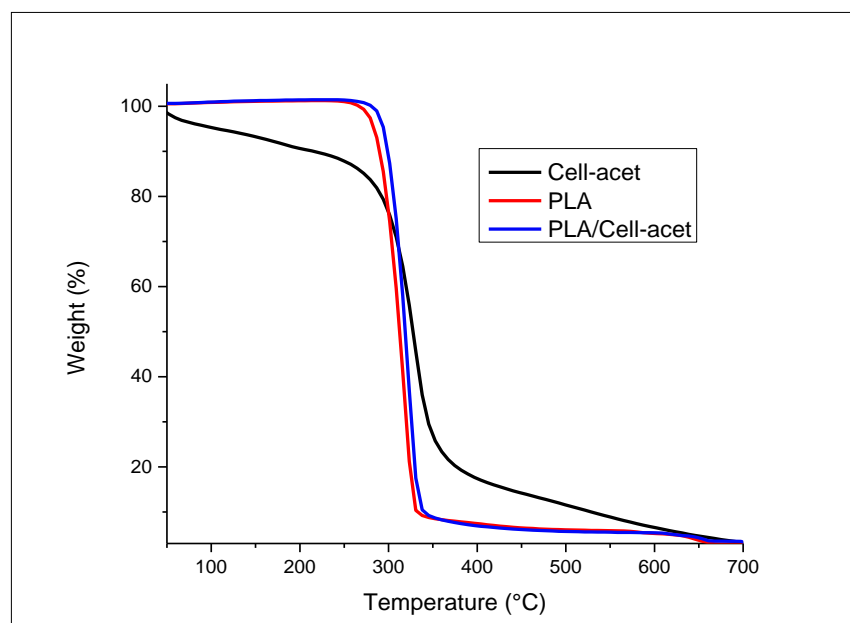


Figura 14. Curvas TGA de cell-acet, PLA y PLA/cell-acet.

Mediante las curvas de TGA presentadas en la Figura 14 se evaluó el comportamiento térmico dada la presencia de cell-acet en la película PLA/cell-acet. La película de PLA inicia su pérdida de masa a 250,4 °C y alcanza su máximo a 317,8 °C. Este pico aumenta en la película PLA/cell-acet hasta un pico máximo en 322,5 °C, mostrando con esto un mejoramiento en la termo estabilidad de la película de PLA. Adicionalmente, la ausencia de más picos de descomposición confirma una correcta compatibilidad entre la matriz polimérica y la cell-acet como aditivo.

Por otro lado, a partir de las curvas de DSC adquiridas, se tomaron los datos de temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), temperatura de fusión ( $T_m$ ), entalpía de fusión ( $\Delta H_m$ ) y grado de

cristalinidad (%C) resumidos en la Tabla 3. La película de PLA sola mostró un valor de  $T_g$  de 62,6 °C, mientras que la adición de cell-acet y compatibilizante resultó en una ligera disminución de este valor a 59,3 y 61,0 °C, respectivamente. Los valores de  $T_g$  sugieren que la adición de la cell-acet no afecta los movimientos rotacionales y traslacionales de la cadena del PLA, manteniéndose como material vítreo a temperatura ambiente. Del mismo modo, la  $T_m$  para la película de PLA obtenida fue 149,72 °C y esta tuvo un cambio de alrededor de 1 °C al agregar la cell-acet, este cambio plantea una compatibilidad entre la matriz y el aditivo. En cuanto al grado de cristalinidad (%C), la adición de celulosa acetilada disminuyó considerablemente la cristalinidad del PLA., lo cual se puede apreciar en la Tabla 3 y en la gráfica de TGA (Figura 14) donde se observa un desplazamiento hacia la izquierda observando la reducción en las temperaturas de degradación y en su temperatura de  $T_g$ .

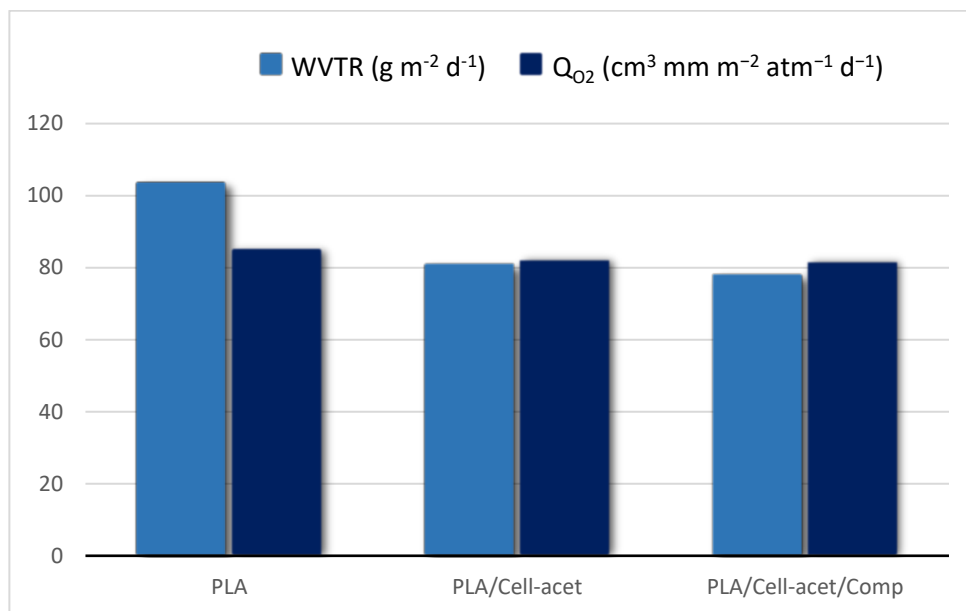
**Tabla 3.** Características térmicas de películas extruidas de PLA y PLA/cell-acet

MUESTRA	%C	$T_g$	$T_m$	$\Delta H_m$ (J/g)
PLA	55,3	62,62	149,72	51,77
PLA/cell-acet	33,6	59,30	151,05	31,45
PLA/cell-acet/comp	34,3	61,00	148,67	32,14

### 1.5.5 Permeabilidad

Uno de los requerimientos más importantes de los empaques para alimentos, consiste en controlar a discreción la entrada de humedad y oxígeno desde el exterior hacia el alimento empacado. Teniendo en cuenta que para nuestro caso se piensa usar estos empaques flexibles en frutas frescas, se busca que la velocidad de transmisión de vapor de humedad (WVTR, *water vapor transmission rate*) y la permeabilidad al oxígeno ( $Q_{O_2}$ ) sean lo menor posibles.

Los resultados de los ensayos (Figura 15) muestran una disminución considerable de la WVTR y una disminución representativa en el coeficiente de permeabilidad al oxígeno ( $Q_{O_2}$ ). Lo cual puede ser ocasionado a la estructura generada en la película cuando la cell-acet es utilizada como aditivo, provocando un “camino tortuoso” para la difusión de las moléculas de gas.<sup>59</sup> Por otra parte, la adición del compatibilizante presenta un ligero cambio en la WVTR, pero no en la  $Q_{O_2}$ .



**Figura 15.** WVTR y  $Q_{O_2}$  de películas extruidas de base polimérica de PLA.

Con estos resultados se demuestra que se logró una exitosa modificación de la celulosa incrementando su hidrofobicidad y haciéndola compatible con el PLA. También se evidencia que es posible la obtención de películas extruidas PLA/cell-acet, aunque estas presentan problemas de dispersión y distribución del aditivo. Sin embargo, también se demostró que el uso de un compatibilizante en cantidad muy baja permite obtener películas con alta homogeneidad. Todo lo anterior, convierte a la película PLA/cell-acet/comp como un material promisorio para la generación de empaques biodegradables en la industria de alimentos frescos.

## 2. Películas de PE con productos de hidrólisis

Este capítulo describe las actividades realizadas para el cumplimiento de los objetivos específicos número dos, cuatro y parte del cinco. El objetivo dos corresponde a la obtención de los ácidos grasos del aceite de coco mediante un proceso de hidrólisis no catalítica a altas presiones y altas temperaturas denominado Colgate-Emery<sup>60</sup>; el cuarto corresponde a la generación de películas antifúngicas de PE con ácidos grasos obtenidos del aceite de coco como aditivo; y la parte del objetivo cinco que se describe corresponde a el análisis de la incidencia sobre la presencia del aditivo en las películas de PE sobre sus propiedades de barrera y antifúngicas.

### 2.1 Materiales

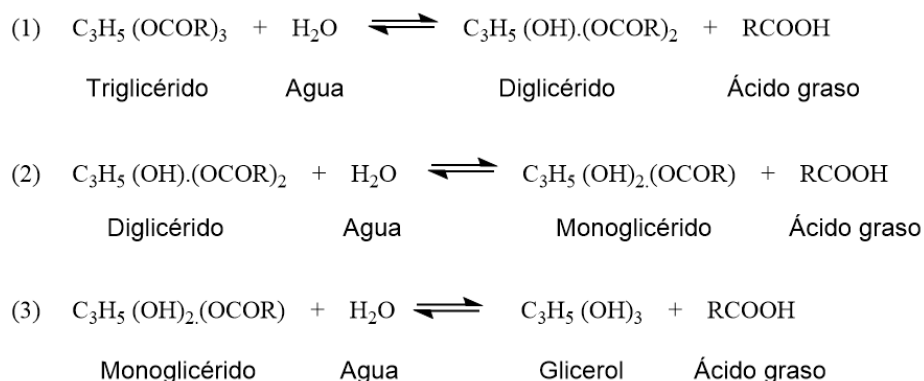
El aceite de coco fue adquirido comercialmente (Tacay S.A., Villavicencio, Colombia), obtenido mediante prensado en frío del fruto de palma *Cocos Nucífera*. El HDPE corresponde a la referencia Tricolene HDF06950 de Tricon Energy (Texas, USA). Los reactivos utilizados como hidróxido de potasio, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, trifluoruro de boro (BF<sub>3</sub>), cloruro de sodio, así como los solventes etanol, metanol y hexano fueron adquiridos de Sigma Aldrich®. La cepa de hongo *Colletotrichum tamarilloi* fue adquirida del laboratorio de fisiología vegetal del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia. Las pruebas de actividad biológica se llevaron a cabo en agar de dextrosa de patata (PDA) y caldo de cultivo Sabouraud, de Sigma Aldrich®.

### 2.2 Métodos

En primera instancia, se realizó una reacción de hidrólisis a alta presión en el aceite de coco para obtener sus ácidos grasos libres, los cuales van a actuar sin ningún proceso adicional de purificación como agentes antimicrobianos en las posteriormente generadas películas de HDPE.

## 2.2.1 Hidrólisis

Se llevó a cabo una hidrólisis a alta presión, proceso conocido como *Colgate-Emery*,<sup>61,62</sup> en un reactor cerrado donde se adiciona aceite de coco y agua en proporción 1:4. Este reactor se colocó en el horno precalentado a 220 °C por dos horas. El producto obtenido presentó dos fases, la inferior que corresponde mayoritariamente a glicerina y la superior que contiene una mezcla de ácidos grasos libres o aceite de coco hidrolizado (HCO). El Esquema 1 detalla la reacción dada entre los triglicéridos del aceite de coco y el agua dentro del reactor dada en tres pasos.



*Esquema 1. Pasos de reacción de los triglicéridos con el agua durante el proceso Colgate-Emery.*

## 2.2.2 Generación de películas

Películas monocapa de HDPE con y sin aditivo HCO antifúngico fueron obtenidas en una extrusora BKLAB28 de único tornillo con un diámetro de 28 mm y una relación longitud diámetro de 28:1, a una velocidad de tornillo de 57,6 rpm y tres zonas de calentamiento con temperaturas entre 230 y 260 °C. Inicialmente se obtuvo un rollo de película utilizando pellets de HDPE y HCO al 10 % w/w mezclándolos de manera manual previamente a su extrusión. Esta película fue evaluada, triturada y utilizada como “masterbatch” para la generación de las películas antifúngicas con 3 y 5 % w/w de HCO. Los empaques antifúngicos fueron formados mediante sellado con calor, formando así las bolsas.

## 2.3 Caracterización

Con el fin de comprobar los productos obtenidos en los procedimientos previamente descritos, se realizaron ensayos de caracterización presentados a continuación.

### 2.3.1 Cromatografía de gases acoplado a masas (GC-MS)

El perfil de los ácidos grasos del aceite de coco y los productos de su hidrólisis, previamente esterificados con  $\text{BF}_3$ , fueron determinados mediante análisis de cromatografía de gases acoplado a masas (GC-MS) usando un equipo Agilent 19091s-433 con temperatura de la cámara de 40 °C, columna de 30 m x 250 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ , rampa de calentamiento iniciada a 100 °C durante 5 min, velocidad de calentamiento de 15 °C/min hasta 200 °C, luego de 3 °C/min hasta 250 °C para permanecer constante durante 5 min, y llegar finalmente a 300 °C usando una velocidad de 10 °C/min.

### 2.3.2 Pruebas antimicrobianas: Determinación de ICM

La determinación de concentración mínima inhibitoria (ICM) del HCO ante el hongo patógeno se evaluó mediante el bioensayo de microdilución en una caja de 96 pozos con una suspensión de esporas a una concentración de  $1 \times 10^5$  esporas/mL. El indicador utilizado para verificar la viabilidad celular es TTC (cloruro de tetrazolio). La lectura se realizó 24 y 48 horas después mediante el lector ELISA a una longitud de onda de 490 nm, y se determinó el porcentaje de inhibición por medio de la comparación con el control positivo (Benomy®). Los ensayos se realizaron por triplicado. Estos ensayos se hicieron en colaboración con el grupo de investigación en Química de productos Naturales Vegetales Bioactivos (QuiProNaB).

### 2.3.3 Apariencia de los empaques

El espesor de los empaques fue medido por quintuplicado en diferentes áreas de las muestras, usando un micrómetro digital Mitutoyo 293 (Kawasaki, Japón) con una resolución de 1  $\mu\text{m}$ .

### 2.3.4 FT-IR

Las películas poliméricas con y sin HCO fueron evaluadas por FT-IR en un espectrómetro Shimadzu Prestige 21 (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan), entre 700 y 4000  $\text{cm}^{-1}$  usando un accesorio ATR (reflectancia total atenuada).

### **2.3.5 Pruebas antimicrobianas: Difusión en agar**

La prueba de difusión se realizó en agar de dextrosa de patata para evaluar la actividad antimicrobiana de la película. Se vertieron 20 mL de agar en una placa de Petri, y se colocó en el centro un trozo de micelio del hongo a incubar de aproximadamente 1 cm de diámetro. Las muestras de las películas HDPE/HCO (6 cm<sup>2</sup>) fueron cortadas con tijeras estériles, desinfectadas por luz UV, y colocadas en la placa de Petri alrededor del micelio fúngico. La placa de Petri fue sellada e incubada a 27 °C durante 15 días. Después de este tiempo, se registró el crecimiento del hongo. Los ensayos se realizaron por triplicado y se repitieron cinco veces. Estos ensayos se hicieron en colaboración con el grupo de investigación QuiProNaB.

### **2.3.6 Propiedades mecánicas**

Las propiedades mecánicas de las películas fueron determinadas de acuerdo con la norma ASTM D 882, en una máquina universal de ensayos universales Shimadzu AG-IS, a temperatura ambiente, con una celda de carga de 5 kN, a una velocidad de desplazamiento de 25 mm/min. Las probetas utilizadas fueron de rectángulos de cada una de las películas de 100 mm x 15 mm. Además, se realizaron las curvas de esfuerzo – deformación promedio para cinco muestras de cada película.

### **2.3.7 Análisis termogravimétrico (TGA)**

Fue realizado a los productos de hidrólisis del aceite de coco (HCO) y las películas que lo incluían como aditivo, en un TGA 1 SF/1100/268TGA de Mettler Toledo, con muestras de entre 2 y 3,5 mg. Los ensayos fueron realizados bajo atmósfera de nitrógeno (N<sub>2</sub>), calentadas de 30 °C a 700 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/min.

### **2.3.8 Comportamiento térmico: DSC**

Los DSC fueron desarrollados en un equipo Mettler Toledo DSC 1/500/2722, bajo atmósfera de nitrógeno (flujo de 50 mL/min) con un rango de temperatura entre 25 °C hasta 200 °C y con una rampa de calentamiento de 10 °C/min.

### 2.3.9 Permeabilidad

Se realizaron ensayos de permeabilidad ante el vapor de agua y el dióxido de carbono siguiendo el método utilizado por Garavito y colaboradores.<sup>46</sup> Para esto, se sellaron celdas de acero con las películas a estudiar, en el primer caso las películas contenían agua, mientras en el segundo se removió el dióxido de carbono de su interior por arrastre con nitrógeno. Posteriormente, se determinaron los valores de permeabilidad a partir de las diferencias en masa y cantidad de dióxido de carbono, respecto al tiempo y área de transferencia, respectivamente. La determinación del WVTR (Ecu 7) se realizó aplicando la metodología reportada en la norma ASTM E 96 – 95.<sup>47</sup>

$$WVT = \frac{w}{t * A} \text{ (Ecu 7)}$$

Donde  $w$  corresponde al cambio en el peso del recipiente en gramos,  $t$  el tiempo transcurrido durante ese cambio en horas y  $A$  es el área del ensayo (apertura del recipiente) en metros cuadrados. Este ensayo se realizó a 38 °C y 55,5 % de humedad relativa.

De otro lado el aumento de la cantidad de oxígeno al interior de las celdas fue registrado mediante un analizador OpTech-O<sub>2</sub> Modelo P, a temperatura ambiente (20,5 °C promedio) y 49 % de humedad relativa, y con estos registros se estimó la velocidad de permeación del O<sub>2</sub> y se obtuvo el coeficiente de permeabilidad de cada muestra.

### 2.3.10 Pruebas antimicrobianas: *in vivo*

Para llevar a cabo esta prueba, se lavaron, desinfectaron e inocularon 12 tomates rojos y 12 amarillos por inyección de una solución de esporas de *C. tamarilloi* 2 x 10<sup>7</sup> CFU/mL. Se envasaron dos tomates en cada uno de los empaques de HDPE/HCO, se sellaron manualmente y se almacenaron a temperatura ambiente durante 21 días. El efecto antifúngico se evaluó semanalmente mediante inspección visual de la incidencia de hongos en el fruto. El experimento se realizó por triplicado.



### 2.3.11 HCO post – extrusión

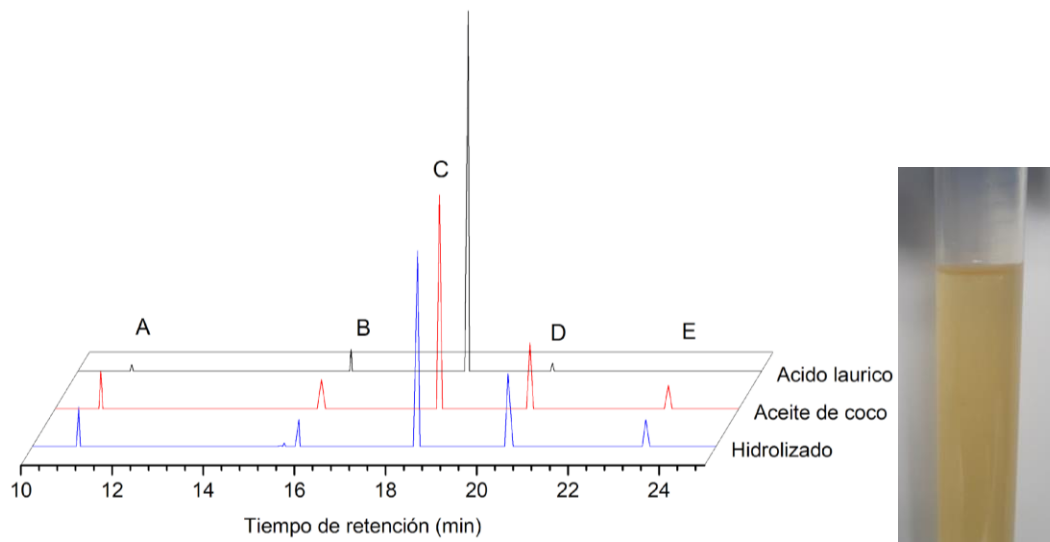
Con el fin de conocer la composición del HCO que permanece en la película posterior a la extrusión, se realizó una extracción Soxhlet y se obtuvo un perfil de cromatografía de gases. Donde, 1,1 g de empaque de HDPE/HCO fueron colocados en reflujo con hexano durante 24 horas a 80 °C, luego, el hexano fue removido por evaporación y el producto fue analizado por GC-MS.

## 2.4 Resultados y Análisis

### 2.4.1 Generación de aditivo

En este capítulo, se desarrolla la generación de un empaque flexible (bolsa) de base polimérica HDPE y HCO, con propiedades antifúngicas principalmente ante el hongo *C. tamarilloi*, especie generadora de la antracnosis en diversos frutos incluyendo el tomate de árbol. La actividad del empaque ante el hongo será dada por un aditivo de origen natural con alto contenido en ácido láurico. Para esto, inicialmente se realizaron ensayos de hidrólisis de aceite de coco, con el fin de obtener un producto con alto contenido en ácido láurico en forma de ácido graso libre, conocido como HCO. El procedimiento de hidrólisis que se utilizó correspondió a una reacción a alta presión, donde el agua a alta presión y alta temperatura actúa tanto reactivo como solvente, y la hidrólisis se completa sin necesidad de adicionar elementos que posteriormente deben ser retirados. Con el fin de corroborar la cantidad de ácido láurico en el HCO (Figura 16), así como la presencia de otros ácidos de cadena media, la Figura 16 muestra los cromatogramas obtenidos de un ácido láurico comercial (99 %), el aceite de coco y el HCO (previamente esterificados como se explica en la metodología).

El HCO corresponde a un material líquido amarillo translúcido (Figura 16), compuesto de 43,3 % de ácido láurico o dodecanóico (C12:0) el cual también contiene otros ácidos grasos libres de cadena media incluyendo el ácido octanóico (C8:0), el ácido decanóico (C10:0), el ácido tetradecanóico (C14:0) y el ácido hexadecanóico (C16:0).



**Figura 16.** Cromatograma aceite de coco (rojo), ácido láurico comercial (negro) y HCO (azul). Identificación de picos: A = metil octanoato, B = metil decanoato, C = metil laurato, D = metil tetradecanoato y E = metil hexadecanoato (izq.) y detalle del HCO (der.).


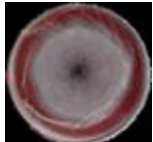

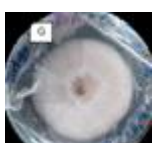
### 2.4.2 Pruebas antimicrobianas: ICM

La actividad antifúngica de los HCO (concentración del hidrolizado entre 1 – 0.25 mg/mL) fue evaluada mediante la metodología de microdilución en pozo y se enfrentó a *Colletotrichum tamarilloi*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*. Todas las cuales son cepas de hongos que afectan alimentos vegetales. En la Tabla 4, se muestran los resultados de los ICM para cada cepa.

En este ensayo se encontró una representativa inhibición del 100 % ante los hongos *F. oxysporum* y *F. equiseti*, mientras que ante la cepa *C. tamarilloi* esta es cercana al 70%, siendo más resistente al producto HCO. La especie *F. solani* no evidenció afectación en su crecimiento a pesar de que el HCO contiene alta cantidad de ácido láurico.

El HCO presenta mayor actividad en la inhibición del crecimiento de la cepa *C. tamarilloi* con una ICM de  $388,27 \pm 0,02$  ppm, correspondiente a 839  $\mu$ M en términos de ácido láurico. Las otras dos cepas *F. oxysporum* y *F. equiseti* requirieron de concentraciones de 1026 y 2000  $\mu$ M respectivamente.

Tabla 4. ICM del HCO sobre los hongos analizados.

Hongo	ICM
<i>Fusarium oxysporum</i> 	0,475 ± 0,03 mg/mL
<i>Fusarium equiseti</i> 	0,963 ± 0,02 mg/mL
<i>Fusarium solani</i> 	No presentó actividad.
<i>Colletotrichum tamarilloi</i> 	0,388 ± 0,02 mg/mL

Este efecto de la actividad antifúngica está centrado en la acción de los ácidos grasos libres más específicamente el del ácido láurico. Se ha reportado que su actividad está determinada por el contacto directo entre el hongo y el componente químico.<sup>38</sup> Pero análisis en proceso en el grupo de macromoléculas indican que la formación de una atmosfera saturada de ácido láurico dentro del empaques puede estar actuando como fuerte antifúngico. Se ha reportado que esta actividad es más evidente en medio acuoso con concentraciones de 250  $\mu\text{M}$  a 50 $\mu\text{M}$  de ácido láurico puro, a diferencia del medio sólido, donde los efectos de difusión son evidentes sobre un 74 y 84 % de inhibición.<sup>63</sup> Igualmente, basados en estos resultados se puede afirmar que la inhibición está mediada por efectos directos sobre el cuerpo del hongo y tal como lo han demostrado con otras cepas, los ácidos grasos libres reducen la germinación de las esporas en *A. niger*, crecimiento micelial y de conidios en *C. albicans* o llegar hasta la desintegración de la membrana plasmática celular.<sup>64</sup>

### 2.4.3 Apariencia de los empaques

Las películas extruidas presentan un ancho promedio de 20 cm, y un espesor de  $0,110 \pm 0,005$  mm, para el HDPE y  $0,08 \pm 0,0$  mm para las películas HDPE/HCO. Los HCO fueron adicionados en tres concentraciones en peso respecto al material virgen: 3 %, 5 % y 10 %. La Figura 17 detalla la película HDPE/HCO 10%, siendo una película totalmente traslúcida, propiedad importante en empaques de alimentos, con el fin de inspeccionar el contenido.



Figura 17. Detalle de la película de HDPE/HCO 10%.

Los espectros FT-IR de las películas con aditivo se compararon con la base polimérica de HDPE y se presentan en la Figura 18. Los espectros muestran unas bandas entre  $2900$  y  $2800$   $\text{cm}^{-1}$  dadas a las vibraciones de los estiramientos asimétricos de CH alifáticos. Así como una banda cercana a  $1400$   $\text{cm}^{-1}$  debido a las deformaciones de flexión y oscilación de los mismos grupos. En los espectros de las películas con aditivo se presenta una banda en  $1700$   $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la tensión del doble enlace del grupo carboxilo presente en los ácidos del HCO, mientras en la del polímero sólo, esta señal está ausente. Con esto podemos evidenciar la presencia de ácido grasos en las películas obtenidas.

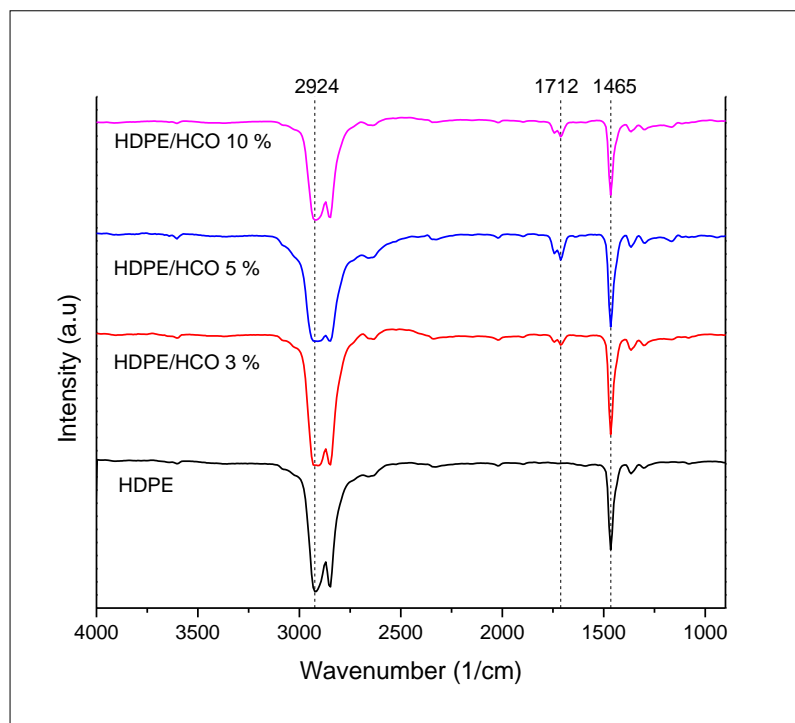


Figura 18. FTIR de películas extruidas de HDPE y HDPE/HCO a 3, 5 y 10 %w/w .

#### 2.4.4 Pruebas antimicrobianas: Difusión en agar

La actividad biológica presentada por los ácidos grasos libres en el HCO, principalmente el láurico, en el ensayo en medio acuoso, fue corroborado y contrastado por medio del método de difusión en medio sólido. Para este ensayo, el HCO (sin ninguna purificación o pretratamiento previo) fue extruido junto el HDPE a diferentes concentraciones (3, 5, 10 %w/w) que corresponden a valores cercanos al ICM presentado para *C. tamarilloi*. Estas películas, HDPE/HCO 3%, HDPE/HCO 5% y HDPE/HCO 10%, fueron enfrentadas al mismo grupo de hongos y se evaluó su efecto sobre el crecimiento diametral o cambios físicos en los discos de Petri. En las figuras del anexo A se detalla que los hongos crecen sobre el control de HDPE de forma radial y con una homogeneidad en su coloración micelial, igualmente se mantiene constante esta característica para la película HDPE 3%, siendo casi nulo el efecto inhibitorio. Por otro lado, como se señala en la Tabla 5, las películas HDPE/HCO 5%, mostraron un pardeamiento y debilitamiento en el crecimiento de las cepas *F. oxysporum* y *C. tamarilloi*, demostrando una inhibición parcial cercana al 80 %, mientras que para las especies *F. solani* y *F. equiseti* no existen cambios significativos.

**Tabla 5.** Inhibición de los hongos frente a la presencia de películas de HDPE y HDPE/HCO.

Película	<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Colletotrichum tamarilloi</i>
HDPE	x	x	x	X
HDPE/HCO 3 %	x	x	x	X
HDPE/HCO 5 %	x	x	✓ (<80 %)	✓ (<80 %)
HDPE/HCO 10 %	x	✓ (<20 %)	✓ (<80 %)	✓ (<90 %)

x = no presenta inhibición ✓ = Presenta inhibición

Una vez se evalúa las películas con la mayor concentración de aditivo (HDPE/HCO 10%) se observa inhibición en las cepas *F. oxysporum*, *F. equiseti* y *C. tamarilloi* con cambios diametrales como disminución y pardeamiento micelial. Es de detallar que el efecto que tiene el HCO sobre el *C. tamarilloi* es alto, sugiriendo un 90% o más de inhibición en su crecimiento, y como se observa en su respectiva imagen (anexo A) este patógeno está restringido al contacto con las películas. Este ensayo corrobora que la actividad inhibitoria es mediada por la presencia de ácidos grasos, como el láurico en el HCO, lo que puede incidir directamente en la prolongación de la vida útil de un fruto dentro del empaque. Además, diferentes estudios realizados con ácido láurico y *C. tamarilloi* han demostrado que existe una disminución en la esporulación y debilitamiento estructural de las hifas y ramificaciones de las mismas.<sup>65,66</sup> Estos resultados coinciden con las ICM previamente presentadas donde los microorganismos del género *Fusarium* se ven menos afectados por el HCO que el hongo *C. tamarilloi*.

### 2.4.5 Propiedades mecánicas

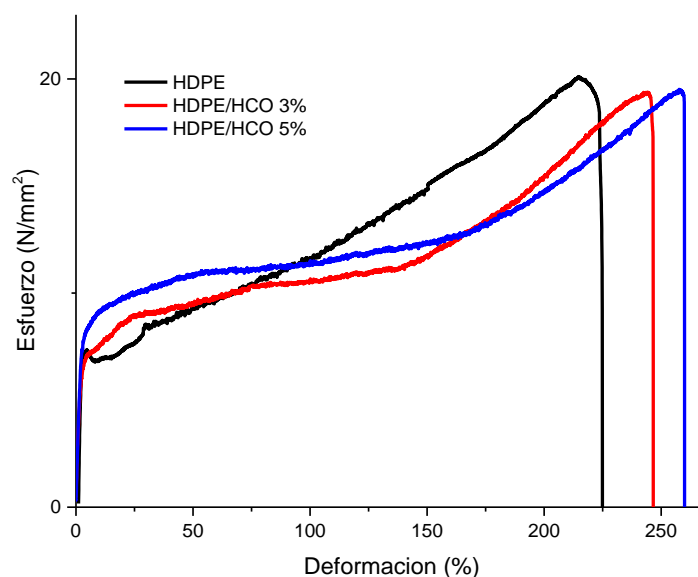
Las dimensiones de las películas analizadas se encuentran resumidas en la Tabla 6, mientras el diagrama de esfuerzo deformación corresponde a la Figura 19. Al observar las gráficas obtenidas para HDPE, HDPE/HCO 3% y HDPE/HCO 5%, se observa un comportamiento similar para estas, donde el esfuerzo máximo obtenido es el esfuerzo a la ruptura, comportamiento normal del HDPE. Adicional a esto se observa que este material tiene un comportamiento elástico, plástico y finalmente de ruptura, de igual manera siendo normal para HDPE. Desafortunadamente, no se reportan resultados para HDPE/HCO 10%, ya que al colocar altas proporciones de HCO en la extrusora, se evidencia un proceso

de descomposición térmico, lo que lleva a obtener muy poco material con características visuales que permita hacer todos los ensayos requeridos.

**Tabla 6.** Dimensiones de películas de base HDPE.

<i>Película</i>	<i>Espesor (mm)</i>	<i>Área (mm<sup>2</sup>)</i>	<i>Esfuerzo a la ruptura (MPa)</i>	<i>Deformación a la ruptura (%)</i>	<i>Módulo de Young (GPa)</i>
<b>HDPE</b>	0,110	1,65	19	225	417
<b>HDPE/HCO 3%</b>	0,070	1,05	19	246	267
<b>HDPE/HCO 5%</b>	0,088	1,32	19	260	290

Se puede concluir al observar la gráfica, que al adicionar el HCO en los diferentes porcentajes no se vio afectada la resistencia a la tensión máxima y la deformación en presencia del HCO aumentó de 225 a 275 %, es decir, el aditivo HCO tiene una función plastificante sobre la matriz HDPE.



**Figura 19.** Diagrama esfuerzo - deformación de películas de HDPE, HDPE/HCO 3% y HDPE/HCO 5%.

#### 2.4.6 Comportamiento térmico

La estabilidad térmica del HCO y su aplicación en películas de HDPE fue evaluada mediante análisis TGA (Figura 20). Donde la temperatura de descomposición de los materiales con HCO disminuyó dada la presencia del aditivo, iniciando los procesos de degradación a temperaturas más bajas que el material sin aditivo, pero sin llegar a la

temperatura de uso, es decir, esto no compromete su aplicación como empaque. Aunque como se indicó antes, al extruir empaques con el 10% de HCO, se observa una gran producción de vapores y la película obtenida presenta una coloración marrón oscura. Problema que se está solucionando en otro trabajo del grupo de macromoléculas, encapsulando los ácidos grasos en beta-ciclodextrina que esta siendo desarrollado por la estudiante Michell Camargo.

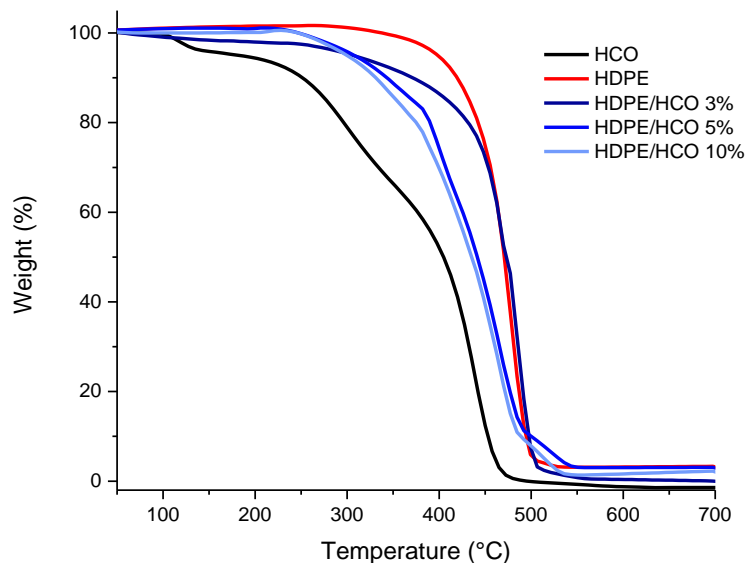


Figura 20. TGA de HCO y películas de HDPE y HDPE/HCO como aditivo.

Los resultados de los análisis DSC muestran que la incorporación de aditivos en las tres concentraciones usadas disminuye la temperatura de fusión según la cantidad de aditivo agregada, en el caso del HDPE/HCO 10% se vio una disminución de 479,8 a 462,8 °C. Con esto se comprueba que la adición de HDPE no afecta significativamente las propiedades térmicas del material.

### 2.4.7 Permeabilidad

Los resultados de permeabilidad ante agua y oxígeno del material (Tabla 7) muestran que las películas con aditivo en mayor concentración, HDPE/HCO 10%, presentan un aumento en la transmisión del vapor de agua de 2,61 g/m<sup>2</sup> día, comparadas con las películas de HDPE sin aditivo. Obteniendo con esto, películas que no acumulan ni condensan tanta agua en su interior comparadas con las de HDPE solo, lo cual es bueno para los alimentos almacenados ya que evitan la acumulación de humedad en el espacio de cabeza



previniendo la proliferación de microorganismos en su interior.<sup>67,68</sup> Tanto el polietileno de alta densidad como el de baja densidad son ampliamente usados dada su baja absorción de agua y que permiten que gases como CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> atraviesen fácilmente la pared del empaque. Por su parte, la permeabilidad al O<sub>2</sub> se mantuvo entre la película sin y con aditivo, manteniendo el beneficio de una baja permeabilidad, lo cual, en el caso de las frutas frescas es importante dado su proceso de respiración.

**Tabla 7.** WVTR y Q<sub>O2</sub> de película de HDPE y HDPE/HCO.

Película	WVTR (g/m <sup>2</sup> d)	Q <sub>O2</sub> (cm <sup>3</sup> mm/m <sup>2</sup> atm d)
HDPE	11,15	40,3
HDPE/HCO 10%	13,76	42,2

A partir de estos resultados se puede concluir que el material estudiado puede ser usado para almacenamiento de alimentos, aprovechando todas las propiedades del PE, pero además, beneficiándose de un poder antifúngico, lo cual lo cataloga como un empaque activo.

#### 2.4.8 Pruebas *in vivo*













Con el fin de evaluar la eficiencia inhibitoria de los empaques HDPE, HDPE/HCO 3%, HDPE/HCO 5% y HDPE/HCO 10% frente al hongo de mayor interés, el *C. tamarilloi*, se realizaron pruebas de almacenaje de tomate de árbol inoculado con esta cepa a 2x10<sup>7</sup> UFC/mL. Para este ensayo, como blanco se tomaron tomates limpios de variedad amarillo y rojo común sin inyección de hongo, y al finalizar la cuarta semana de almacenamiento se evaluó la estabilidad del fruto en cada uno de los empaques. Los resultados para el tomate amarillo y rojo se detallan en la Tabla 8 y 9 respectivamente. Las variedades de tomates fueron elegidas dado que la variedad amarilla común es la de mayor circulación a nivel nacional, mientras la variedad roja es la variedad de tipo exportación.

Referente al tomate amarillo se observa que el pardeamiento de la cascara se da sobre la segunda semana (HDPE/HCO 3%), tercera semana (HDPE/HCO 5%) y decima semana (HDPE/HCO 10%). Mostrando que el efecto retardante en el crecimiento de la cepa, actividad antifúngica, es dependiente de la concentración del HCO. El ensayo indica una vida útil de anaquel para este tipo de tomate cercano a las 3 semanas cuando se usa el

**58** Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica PLA y PE para la conservación de frutas

empaque HDPE/HCO 10%. Por su parte, para el empaque de solo HDPE, el pardeamiento, hundimiento y afectación del pedúnculo fue observado en la primera semana. Además, aunque el empaque HDPE/HCO 10% presenta la máxima concentración de HCO estudiada, esta no genera la muerte total del hongo y su presencia depende de la manipulación y limpieza en postcosecha.<sup>69</sup>













**Tabla 8.** Resultados de ensayos *in vivo* del tomate de árbol amarillo ante películas de HDPE y HDPE/HCO.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
HDPE			
HDPE/ HCO 3%			
HDPE/ HCO 5%			
HDPE/ HCO 10%			

Por otro lado, en el ensayo con tomate rojo, el cual es más resistente a la antracosis (enfermedad producida por el *C. tamarillo*),<sup>70,71</sup> los efectos de pardeamiento cercana a la punción se dan sobre la segunda semana (HDPE y HDPE/HCO 3%) aunque en menor

dimensión comparado con el tomate amarillo. Igualmente, tanto HDPE/HCO 5% como HDPE/HCO 10% mostraron estos signos solo hasta la tercera semana de almacenaje, siendo manchas menores y con el pedúnculo estable. Resaltando que, por esta sección de corte del fruto, pedúnculo, el hongo ingresa al fruto y su deterioro se da en un periodo muy corto. Con esto se concluye que dichas películas (HDPE/HCO 5% y 10%) en comparación al control extienden la vida de almacenamiento de este fruto durante dos semanas en presencia el hongo *C. tamarilloi*.

**Tabla 9.** Resultados de ensayos in vivo del tomate de árbol rojo ante películas de HDPE y HDPE/HCO.

	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
HDPE			
HDPE/ HCO 3%			
HDPE/ HCO 5%			
HDPE/ HCO 10%			

De igual manera, en un ensayo posterior se realizaron controles de ambos frutos desinfectados y sin inoculación de esporas empacados en HDPE y HDPE/HCO 10 %, los cuales no presentaron moho en sus tallos y sus bases hasta la cuarta semana, además se

resalta el grado de protección que genera el empaque para el fruto, permitiendo a éste tener una buena firmeza, brillo expuesto y un pedúnculo sin afecciones (Figura 21), aspectos importantes tomados como requisitos en la explotación de este fruto.



**Figura 21.** Tomate de árbol rojo al almacenado en bolsa de HDPE y tomate de árbol amarillo almacenado en bolsa de HDPE/HCO 10 %w/w sin inoculación de esporas al final de la cuarta semana.

Los resultados hallados en el ensayo *in vivo* anteriormente detallados, son resumidos en la Tabla 10, donde se muestra que hay una incidencia del genotipo y fenotipo del tomate rojo sobre la resistencia contra la cepa *C. tamarilloi*.

**Tabla 10.** Presencia de *C. tamarilloi* en los tomates de árbol empacados en las películas de HDPE y HDPE/HCO.

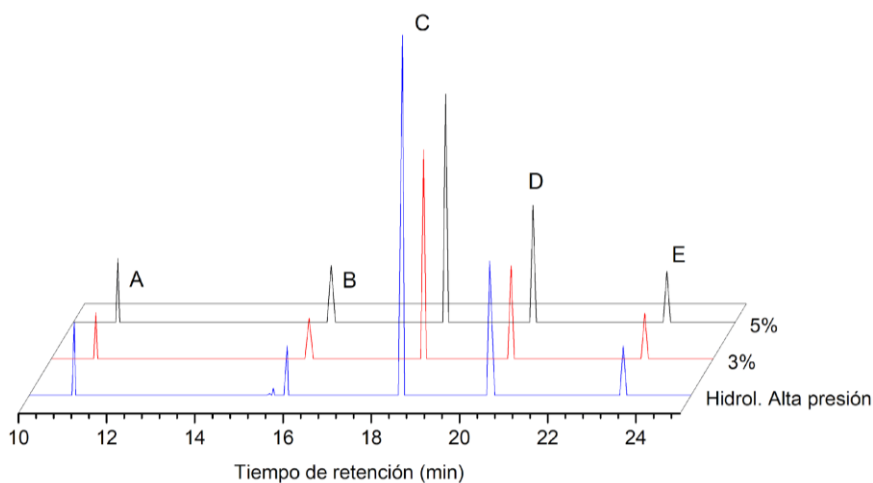
EMPAQUE	SEMANA 1		SEMANA 2		SEMANA 3	
	Amarillo	Rojo	Amarillo	Rojo	Amarillo	Rojo
HDPE	+	-	++	+	+++	++
HDPE/HCO 3%	-	-	++	+	+++	++
HDPE/HCO 5%	-	-	-	-	+	+
HDPE/HCO 10%	-	-	-	-	+	+

- sin crecimiento de hongo, + crecimiento de hongo <25%, ++ crecimiento de hongo >25% y <50%, +++ crecimiento de hongo >50%.

Con esto se evidencia que hay un alargamiento de la vida útil en ambas variedades de tomate de árbol al ser empacados en HDPE/HCO 5% y 10%, donde hasta la tercera semana se inician a ver indicios de afectación por el hongo.

#### 2.4.9 HCO post - extrusión

Finalmente, se realizó un experimento denominado de HCO post-extrusión, donde el HCO se extrajo de las películas HDPE/HCO extruidas mediante Soxhlet, tratadas con  $\text{BF}_3$  y posteriormente analizadas mediante GC-MS. Esto con el fin de confirmar que los ácidos grasos, especialmente el láurico, adicionados al HDPE, no sufrieron procesos de descomposición térmica durante la extrusión.



**Figura 22.** Cromatograma de HCO, y extractos soxhlet de las películas HDPE/HCO 3% y HDPE/HCO 5%. Identificación de picos: A = metil octanoato, B = metil decanoato, C = metil laurato, D = metil tetradecanoato y E = metil hexadecanoato.

La Figura 22 muestra los cromatogramas obtenidos para el HCO antes de la extrusión y también muestra los componentes extraídos por *soxhlet* al empaque HDPE/HCO 3% y HDPE/HCO 5% después de su extrusión (análisis que no se hizo para el HCO al 10%, por las razones antes expuestas). En ellos se logra ver que los compuestos presentes en el HCO son los mismos que se encuentran en el extracto de empaques HDPE/HCO 3% y HDPE/HCO 5% después de su extrusión. Con esto se puede concluir que ninguno de los ácidos grasos libres adicionados al HDPE mediante extrusión se modifican térmicamente durante este proceso y la presencia del ácido láurico sigue prevaleciendo ante el resto de los compuestos.

Dados los resultados presentados, es posible concluir que la película de HDPE/HCO con concentraciones de aditivo mayor al 5 %w/w es un prometedor material para un empaque activo flexible de frutas que son afectadas por el hongo *C. tamarilloi*.



## 3. Conclusiones y perspectivas

### 3.1 Conclusiones

La celulosa es el biopolímero más abundante en la naturaleza, cuya hidrofiliidad fue modificada mediante una reacción de acetilación, con un rendimiento del 92 % en masa. Esta celulosa modificada, denominada cell-acet presentó una disminución en su cristalinidad, disminución en su temperatura de descomposición y un aumento en el ángulo de contacto comparada con la celulosa sin tratar.

Cell-acet fue utilizada como aditivo en la generación de películas de PLA por extrusión. Sin embargo, estas presentaron problemas de homogeneidad lo que llevo al uso de un aditivo compatibilizante, obteniendo películas PLA/cell-acet/comp. Películas uniformes, con propiedades mecánicas superiores a la película de PLA/cell-acet y similares a las de la película de PLA. La permeabilidad de la película PLA/cell-acet/comp presentó una disminución tanto en la WVTR como en la  $Q_{O_2}$ , haciéndolo candidato para evaluación como empaque biodegradable de frutas frescas.

De otro lado, dado que el aceite de coco contiene ácido láurico en porcentajes cercanos al 43 %, se realizó la obtención de este ácido junto con otros ácidos grasos libres de cadena media mediante la hidrolisis no catalítica a alta presión del aceite de coco. Este producto denominado HCO fue evaluado ante los hongos patógenos *C. tamarilloi*, *F. equiseti*, *F. oxysporum* y *F. solani* presentando inhibición del crecimiento en los tres primeros, con ICM desde 839  $\mu$ M en términos de ácido láurico.

El producto antifúngico HCO fue colocado como aditivo al HDPE por extrusión, generando películas traslucidas de HDPE/HCO 3%, 5% y 10% las cuales fueron evaluadas ante los hongos patógenos previamente mencionados. Encontrando que la película HDPE/HCO 10% inhibe el crecimiento de tres de los hongos valorados. En cuanto a las propiedades mecánicas, térmicas y de permeabilidad de las películas se evidenció que la adición de HCO tiene un efecto plastificante sobre el polímero, aumentando su deformación en un 22%, disminuyendo levemente las temperaturas de degradación y fusión, y aumentando la WVTR a 13,8 g/m<sup>2</sup>/día, cambios que no afectan su utilidad como empaque para alimentos.

Finalmente, los ensayos *in vivo* donde se almacenaron tomates de árbol infectados con el hongo *C. tamarilloi* en empaques HDPE/HCO mostraron que la presencia de HCO en concentraciones superiores al 5 % w/w incrementaban la vida de almacenamiento de los frutos en dos semanas.

### **3.2 Perspectivas**

En cuanto al material de base polimérica de PLA:

Dado que uno de los principales atributos del PLA como material de empaque, corresponde a su biodegradabilidad, el grupo de macromoléculas junto con el grupo de química de hongos macromicetos colombianos, están estudiando la afectación sobre la degradabilidad o biodegradabilidad del material ante la presencia de la celulosa modificada, la cual afecta la hidrofiliidad del PLA.

Se propone mejorar los procesos de homogeneización de la celulosa en la matriz polimérica mediante el análisis de agentes compatibilizantes y su afectación en las propiedades del material.

Se debe realizar un análisis de la superficie y del interior de la película PLA/cell-acet con el fin de determinar la interacción y disposición de ambos.

Se plantea realizar un estudio para determinar las posibles frutas a empacar, a partir de la permeabilidad del material.

## 64 Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica PLA y PE para la conservación de frutas

---

En cuanto al empaque de base HDPE:

Se propone realizar ensayos *in vivo* en condiciones reales de manejo del fruto (sin desinfección), así como la evaluación de otros frutos afectados por la antracnosis.

Se plantea realizar una evaluación de migración de los ácidos grasos desde el empaque hacia el fruto.

Se debe buscar el proceso de estandarización e industrialización de los empaques antifúngicos.

Se podría evaluar la utilización del HCO como aditivo antifúngico en matrices poliméricas biodegradables.

### 3.3 Producción académica

El proyecto se presentó en:

34 congreso Latinoamericano de Química (CLAQ2020)



**34<sup>o</sup> CLAQ 2020**  
CONGRESO LATINOAMERICANO DE QUÍMICA  
CARTAGENA DE INDIAS - COLOMBIA

**Polymers**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA**

**Antifungal polymeric packaging of PE / hydrolyzed coconut oil for *Colletotrichum* control**

<sup>1</sup>Lissette Ariza, <sup>1</sup>Brayan A. Bohórquez, <sup>1</sup>Katheryn M. Camargo, <sup>1,a</sup>Mónica C. Ávila, <sup>1,b</sup>César A. Sierra

<sup>1</sup>Department of Chemistry, National University of Colombia - Bogotá

Contact: <sup>a</sup>mcavilam@unal.edu.co, <sup>b</sup>casieraa@unal.edu.co

Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos (CIBIA XIII) - 2022





## APROVECHAMIENTO DE BIOMASA COMO ADITIVO EN EMPAQUES PARA LA CONSERVACION DE ALIMENTOS PERECEDEROS

Lissette Ariza Corredor,<sup>1</sup> Diego Alzate Sánchez,<sup>2</sup> Cesar Sierra Ávila<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Colombia, Carrera 45 # 26-85, Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup> University of Illinois at Urbana-Champaign, 600 S Mathews Ave, Urbana, IL, EEUU.  
casierro@unal.edu.co, l.arizac@unal.edu.co

Parte del presente trabajo con modificaciones menores será publicado en una revista científica con el título de “Empaque de PE/hidrolizado de aceite de coco para el control de *Colletotrichum tamarilloi* durante el almacenamiento de tomate de árbol”

## Bibliografía

- (1) Berger, K. R. A Brief History of Packaging. *EDIS* **2003**, No. 17. <https://doi.org/10.32473/edis-ae206-2002>.
- (2) Emblem, A.; Emblem, H. *Packaging Technology: Fundamentals, Materials and Processes*; 2012. <https://doi.org/10.1533/9780857095701>.
- (3) Francis, F. J. *Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology - 2nd Ed.*; 1999.
- (4) White, A.; Lockyer, S. Removing Plastic Packaging from Fresh Produce – What's the Impact? *Nutr Bull* **2020**, *45* (1), 35–50. <https://doi.org/10.1111/nbu.12420>.
- (5) IMARC Group. Food Packaging Market. **2020**.
- (6) Drago, E.; Campardelli, R.; Pettinato, M.; Perego, P. Innovations in Smart Packaging Concepts for Food: An Extensive Review. *Foods* **2020**, *9* (11), 1628. <https://doi.org/10.3390/foods9111628>.
- (7) Ingeniería Agrícola. *Descripción de empaques para frutas y vegetales frescos*. <https://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/empaques.htm> (accessed 2021-05-14).
- (8) US EPA, O. Containers and Packaging: Product-Specific Data.
- (9) Redacción BIBO. Contaminación Por Plástico, Una Crisis Con Salida. *El Espectador*. 2019. <https://www.elespectador.com/ambiente/contaminacion-por-plastico-una-crisis-con-salida-article-873750/> (accessed 2021-05-14).
- (10) The Independent. *MPs call for tax on all single-use plastic packaging*. <https://www.independent.co.uk/climate-change/news/single-use-plastic-packaging-tax-mps-pollution-a9101466.html> (accessed 2021-05-22).
- (11) BBC News. *Greenpeace wants new taxes on plastic for Wales*. 2017. <https://www.bbc.com/news/uk-wales-politics-41231743> (accessed 2021-05-22).

- 
- (12) The Guardian. *The plastic backlash: what's behind our sudden rage – and will it make a difference?*  
<https://www.theguardian.com/environment/2018/nov/13/the-plastic-backlash-whats-behind-our-sudden-rage-and-will-it-make-a-difference> (accessed 2021-05-22).
- (13) United Nations Environment Programme. Marine Plastics. *IUCN Resources* **2013**, No. April, 1–28.
- (14) ONU Medio Ambiente. El Estado de Los Plásticos: Una Hoja de Ruta Para La Sostenibilidad. **2018**, 20.
- (15) Danopoulos, E.; Twiddy, M.; West, R.; Rotchell, J. M. A Rapid Review and Meta-Regression Analyses of the Toxicological Impacts of Microplastic Exposure in Human Cells. *J Hazard Mater* **2022**, *427*, 127861. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2021.127861>.
- (16) Shahnawaz, Mohd.; Sangale, M. K.; Ade, A. B. Plastic Waste Disposal and Reuse of Plastic Waste. *Bioremediation Technology for Plastic Waste* **2019**, 21–30. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-7492-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-13-7492-0_3).
- (17) IMARC Group. Global Flexible Packaging Market Research Report 2021-2026. **2020**.
- (18) Ortega Leyva, M. N. *PLA y bioplásticos comparados con los plásticos tradicionales*. Tecnología del Plástico. <https://www.plastico.com/temas/Ante-todo,-los-bioplásticos-son-plásticos+3089028> (accessed 2021-05-24).
- (19) Sinclair, R. G. The Case for Polylactic Acid as a Commodity Packaging Plastic. *Journal of Macromolecular Science - Pure and Applied Chemistry* **1996**, *33* (5), 585–597. <https://doi.org/10.1080/10601329608010880>.
- (20) *Crece el mercado mundial de bioplásticos*. European Bioplastics (EUBP). <https://www.mundopmmi.com/empaque/sustentabilidad/article/21206447/crece-el-mercado-mundial-de-bioplásticos> (accessed 2021-05-24).
- (21) Consonni, E. *PLA ¿Una alternativa sostenible?*  
<https://www.elempaque.com/temas/PLA-una-alternativa-sostenible+4090965> (accessed 2021-05-24).
- (22) Fortunati, E.; Luzi, F.; Yang, W.; Kenny, J. M.; Torre, L.; Puglia, D. *Bio-Based Nanocomposites in Food Packaging*; 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51271-8.00004-8>.

- (23) P., C.; R., H. Comportamiento Mecánico y Térmico de Mezclas de Ácido Poliláctico (PLA) Con Poliestireno (PS). 2016.
- (24) Elva, P. C. M. Modificación Estructural Del Polietiléntereftalato Con Ácido Poliláctico. Síntesis de Polímeros Biodegradables. 2012.
- (25) Suhey, P. H. J. Estudio de Propiedades y Compatibilidad de Mezclas Polipropileno (Pp), Ácido Poliláctico (Pla) y Nanopartículas de Óxido de Silicio (SiO<sub>2</sub> ), Mediante Extrusión y Mezclado Físico. 2014.
- (26) Resinex. *Tipos de polímeros*. <https://www.resinex.es/tipos-de-polimeros/pla.html> (accessed 2021-06-01).
- (27) Yi, T.; Zhao, H.; Mo, Q.; Pan, D.; Liu, Y.; Huang, L.; Xu, H.; Hu, B.; Song, H. *From Cellulose to Cellulose Nanofibrils—a Comprehensive Review of the Preparation and Modification of Cellulose Nanofibrils*; 2020; Vol. 13. <https://doi.org/10.3390/ma13225062>.
- (28) Muñoz Bartolomé, B. Síntesis y Caracterización de Nanocelulosas de Orígenes Diversos. **2018**, 116.
- (29) Ghasemi, S.; Behrooz, R.; Ghasemi, I.; Yassar, R. S.; Long, F. Development of Nanocellulose-Reinforced PLA Nanocomposite by Using Maleated PLA (PLA-g-MA). *Journal of Thermoplastic Composite Materials* **2018**, 31 (8), 1090–1101. <https://doi.org/10.1177/0892705717734600>.
- (30) Kian, L. K.; Saba, N.; Jawaid, M.; Sultan, M. T. H. A Review on Processing Techniques of Bast Fibers Nanocellulose and Its Polylactic Acid (PLA) Nanocomposites. *Int J Biol Macromol* **2019**, 121, 1314–1328. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.040>.
- (31) Szymańska-Chargot, M.; Chylińska, M.; Pieczywek, P. M.; Walkiewicz, A.; Pertile, G.; Frac, M.; Cieślak, K. J.; Zdunek, A. Evaluation of Nanocomposite Made of Polylactic Acid and Nanocellulose from Carrot Pomace Modified with Silver Nanoparticles. *Polymers (Basel)* **2020**, 12 (4). <https://doi.org/10.3390/POLYM12040812>.
- (32) Nguyen, T. C.; Ruksakulpiwat, C.; Ruksakulpiwat, Y. Effect of Cellulose Nanofibers from Cassava Pulp on Physical Properties of Poly(Lactic Acid) Biocomposites. *Journal of Thermoplastic Composite Materials* **2020**, 33 (8), 1094–1108. <https://doi.org/10.1177/0892705718820395>.

- 
- (33) Calvino, C.; Macke, N.; Kato, R.; Rowan, S. J. Development, Processing and Applications of Bio-Sourced Cellulose Nanocrystal Composites. *Prog Polym Sci* **2020**, *103*. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2020.101221>.
- (34) Follain, N.; Marais, M. F.; Montanari, S.; Vignon, M. R. Coupling onto Surface Carboxylated Cellulose Nanocrystals. *Polymer (Guildf)* **2010**, *51* (23), 5332–5344. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2010.09.001>.
- (35) Legiscomex.com. Exportación de Frutas Exóticas Colombianas. *Legiscomex.com* **2013**, *9*.
- (36) Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Gobierno de Colombia. *Mis Buenas Prácticas Agrícolas. Guía Para Agroempresarios*; 2009.
- (37) (SIPSA) Sistema de Información de Precios y Abastecimiento del Sector Agropecuario. Antracnosis, Importancia y Manejo Integrado En El Cultivo de Tomate de Árbol (*Cyphomandra Betaceae*). Prevención: La Mejor Alternativa. **2014**, 1–26.
- (38) Solano, R. J.; Sierra, C. A.; Ávila Murillo, M. Antifungal Activity of LDPE/Lauric Acid Films against *Colletotrichum Tamarilloi*. *Food Packag Shelf Life* **2020**, *24* (July 2019), 100495. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100495>.
- (39) Mora, O. Ácido Láurico: Componente Bioactivo Del Aceite De Palmiste. *Palmas* **2003**, *24* (1), 79–83.
- (40) Silalahi, J.; Yademetripermata; Putra, E. de L. Antibacterial Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* **2014**, *7* (SUPPL. 2), 90–94.
- (41) Nitbani, F. O.; Jumina; Siswanta, D.; Solikhah, E. N. Isolation and Antibacterial Activity Test of Lauric Acid from Crude Coconut Oil (*Cocos Nucifera L.*). *Procedia Chem* **2016**, *18* (Mcls 2015), 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.01.021>.
- (42) Asgher, M.; Qamar, S. A.; Bilal, M.; Iqbal, H. M. N. Bio-Based Active Food Packaging Materials: Sustainable Alternative to Conventional Petrochemical-Based Packaging Materials. *Food Research International* **2020**, *137* (August). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109625>.
- (43) Ávila Ramírez, J. A.; Gómez Hoyos, C.; Arroyo, S.; Cerrutti, P.; Foresti, M. L. Acetylation of Bacterial Cellulose Catalyzed by Citric Acid: Use of Reaction Conditions for Tailoring the Esterification Extent. *Carbohydr Polym* **2016**, *153*, 686–695. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.009>.

- (44) ASTM. *Standard D7490--13 Standard Test Method for Measurement of the Surface Tension of Solid Coatings, Substrates and Pigments Using Contact Angle Measurements*; 2013.
- (45) Arnoult, M.; Dargent, E.; Mano, J. F. Mobile Amorphous Phase Fragility in Semi-Crystalline Polymers: Comparison of PET and PLLA. *Polymer (Guildf)* **2007**, *48* (4), 1012–1019. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2006.12.053>.
- (46) Garavito, J.; Mendoza, S. M.; Castellanos, D. A. Configuration of Biodegradable Equilibrium Modified Atmosphere Packages, Including a Moisture Absorber for Fresh Cape Gooseberry (*Physalis Peruviana* L.) Fruits. *J Food Eng* **2022**, *314*. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110761>.
- (47) Kumaran, M. K. Interlaboratory Comparison of the ASTM Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials (E 96-95). *J Test Eval* **1998**, *26* (2). <https://doi.org/10.1520/jte11977j>.
- (48) Larsson, T.; Hult, E.-L.; Wickholm, K.; Pettersson, E.; Iversen, T. *CP/MAS 13 C-NMR Spectroscopy Applied to Structure and Interaction Studies on Cellulose I*; 1999; Vol. 15. [www.elsevier.nl/locatersolmag](http://www.elsevier.nl/locatersolmag).
- (49) Zhao, G.; Wang, F.; Lang, X.; He, B.; Li, J.; Li, X. Facile One-Pot Fabrication of Cellulose Nanocrystals and Enzymatic Synthesis of Its Esterified Derivative in Mixed Ionic Liquids. *RSC Adv* **2017**, *7* (43), 27017–27023. <https://doi.org/10.1039/c7ra02570j>.
- (50) Ye, J.; Luo, S.; Huang, A.; Chen, J.; Liu, C.; McClements, D. J. Synthesis and Characterization of Citric Acid Esterified Rice Starch by Reactive Extrusion: A New Method of Producing Resistant Starch. *Food Hydrocoll* **2019**, *92*, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.064>.
- (51) Dong, F.; Yan, M.; Jin, C.; Li, S. Characterization of Type-II Acetylated Cellulose Nanocrystals with Various Degree of Substitution and Its Compatibility in PLA Films. *Polymers (Basel)* **2017**, *9* (8). <https://doi.org/10.3390/polym9080346>.
- (52) Park, S.; Baker, J. O.; Himmel, M. E.; Parilla, P. A.; Johnson, D. K. *Open Access RESEARCH Cellulose Crystallinity Index: Measurement Techniques and Their Impact on Interpreting Cellulase Performance*; 2010. <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/3/1/10>.
- (53) Almasi, H.; Ghanbarzadeh, B.; Dehghannia, J.; Pirsá, S.; Zandi, M. Heterogeneous Modification of Softwoods Cellulose Nanofibers with Oleic

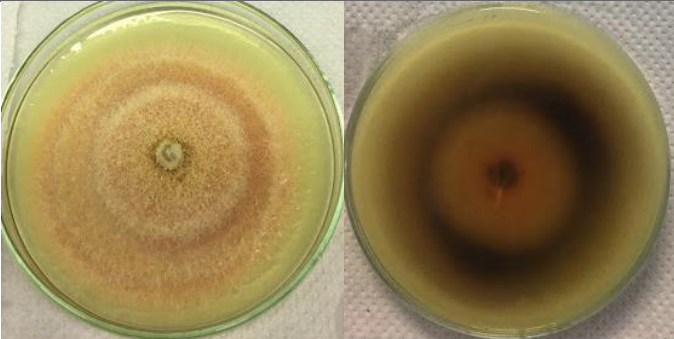
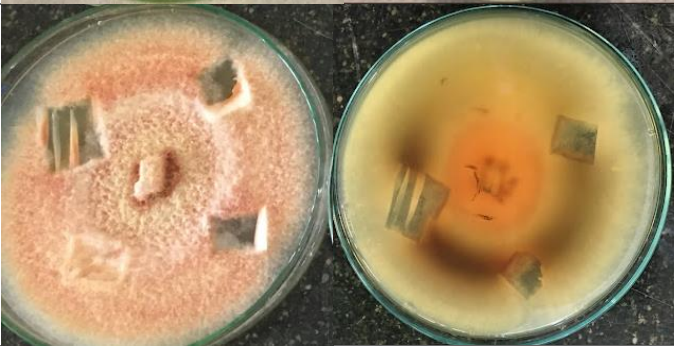
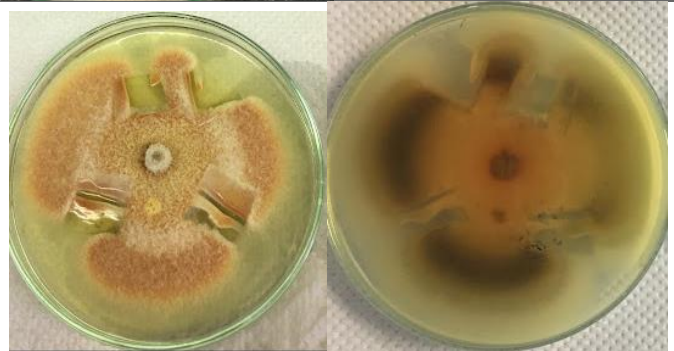

- Acid: Effect of Reaction Time and Oleic Acid Concentration. *Fibers and Polymers* **2015**, *16* (8), 1715–1722. <https://doi.org/10.1007/s12221-015-4294-1>.
- (54) Lease, J.; Kawano, T.; Andou, Y. Esterification of Cellulose with Long Fatty Acid Chain through Mechanochemical Method. *Polymers (Basel)* **2021**, *13* (24). <https://doi.org/10.3390/polym13244397>.
- (55) Gutiérrez Carranza, L. A. Desarrollo de Un Empaque Polimérico Con Propiedades Anti-Empañantes Apropiado Para La Comercialización de Gulupa(*Passiflora Edulis Sims Fo. Edulis*), 2010.
- (56) Galindo, S.; Ureña-Núñez, F. *Enhanced Surface Hydrophobicity of Poly(Lactic Acid) by Co 60 Gamma Ray Irradiation*; 2018; Vol. 64.
- (57) Allende Ponce, S. P.; Arriagada González, P. *Polietileno de Alta y Baja Densidad*; 2013.
- (58) Make it from. [https://www.makeitfrom.com/material-properties/Poly\(lactic-acid\)-PLA-Polylactide](https://www.makeitfrom.com/material-properties/Poly(lactic-acid)-PLA-Polylactide).
- (59) Sinha Ray, S.; Bousmina, M. Biodegradable Polymers and Their Layered Silicate Nanocomposites: In Greening the 21st Century Materials World. *Progress in Materials Science*. November 2005, pp 962–1079. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2005.05.002>.
- (60) Barnebey, H. L.; Company, B.-K.; Brown, A. C. *Continuous Fat Splitting Plants Using the Colgate-Emery Process*; 1948; Vol. 95.
- (61) Alenezi, R.; Baig, M.; Wang, J.; Santos, R.; Leeke, G. A. Continuous Flow Hydrolysis of Sunflower Oil for Biodiesel. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects* **2010**, *32* (5), 460–468. <https://doi.org/10.1080/15567030802612341>.
- (62) Istyami, A. N.; Soerawidjaja, T. H.; Prakoso, T. Mass Balances and Thermodynamics Study of Thermal Triglyceride Hydrolysis. In *MATEC Web of Conferences*; EDP Sciences, 2018; Vol. 156. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201815605013>.
- (63) Walters Walters, D. R. D. R.; Walker Walker, R. L. R. L.; Walker, K. C. K. C. W. *Lauric Acid Exhibits Antifungal Activity Against Plant Pathogenic Fungi*. [www.blackwell.de/synergy](http://www.blackwell.de/synergy).
- (64) Liang, C.; Gao, W.; Ge, T.; Tan, X.; Wang, J.; Liu, H.; Wang, Y.; Han, C.; Xu, Q.; Wang, Q. Lauric Acid Is a Potent Biological Control Agent That Damages

- the Cell Membrane of *Phytophthora Sojae*. *Front Microbiol* **2021**, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.666761>.
- (65) Damm, U.; Cannon, P. F.; Woudenberg, J. H. C.; Crous, P. W. The *Colletotrichum Acutatum* Species Complex. *Stud Mycol* **2012**, 73, 37–113. <https://doi.org/10.3114/sim0010>.
- (66) Padgett, T.; Han, I. Y.; Dawson', P. L. *Effect of Lauric Acid Addition on the Antimicrobial Efficacy and Water Permeability of Corn Zein Films Containing Nisin*; by Food Br Nutrition Press, Inc, 2000; Vol. 24.
- (67) Keller, P. E.; Kouzes, R. *Water Vapor Permeation in Plastics*; 2017. <http://www.ntis.gov/ordering.htm>.
- (68) Castellanos, D. A.; Herrera, A. O. Modified Atmosphere Packaging: Design and Optimization Strategies for Fresh Produce. In *Postharvest Handling*; InTech, 2017. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68498>.
- (69) DANE. *Insumos y Factores Asociados a La Producción Agropecuaria*. <http://www.catalunyaplants.com>.
- (70) Cámara de Comercio de Bogotá. *Programa de Apoyo Agrícola y Agroindustrial*; 2015.
- (71) Guillermo Ramírez-Gil, J.; Gil-Aguirre, A.; Morales-Osorio, J. G. *Etiology of Tree Tomato (Solanum Betaceum CAV.) Diseases Etiología de Enfermedades Del Cultivo de Tomate de Árbol (Solanum Betaceum CAV.)*; 2017; Vol. 32.

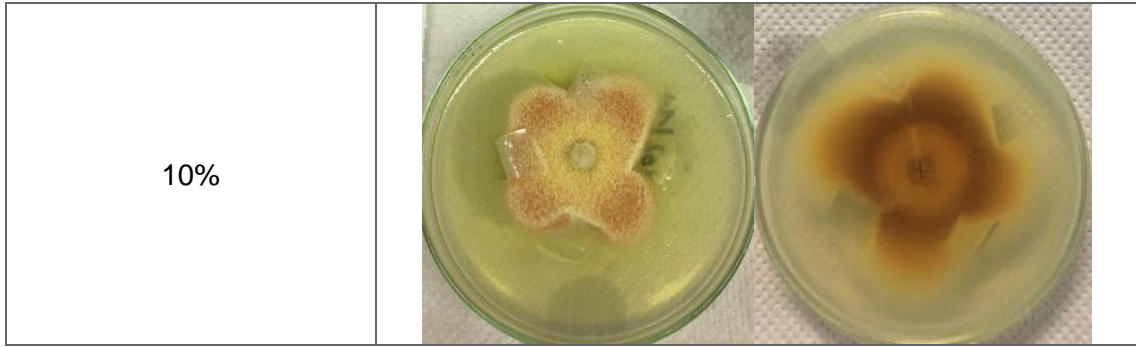


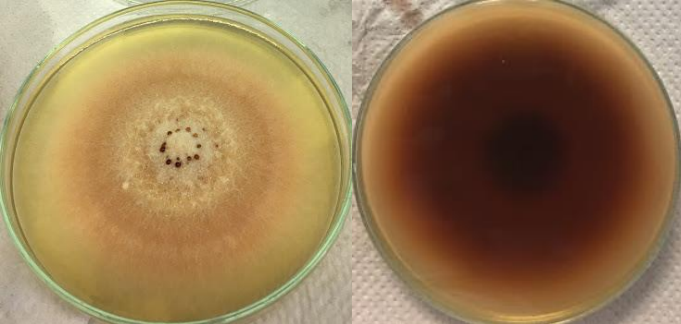

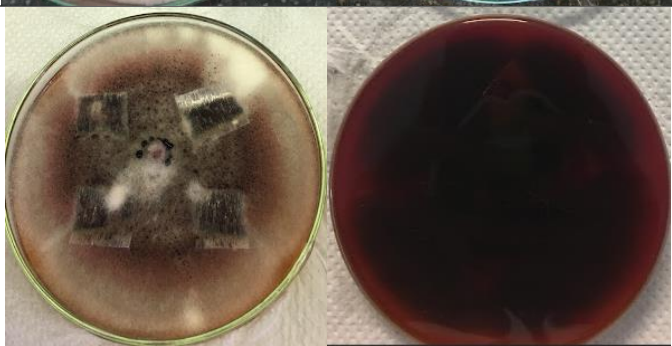
# ANEXO A

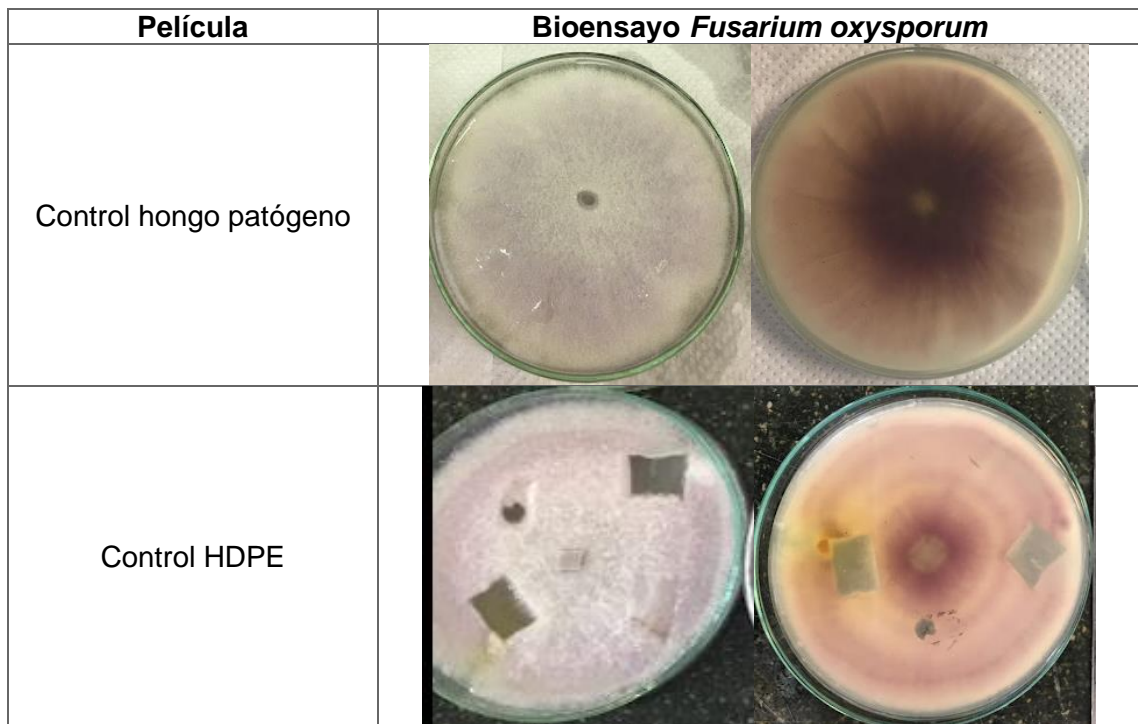
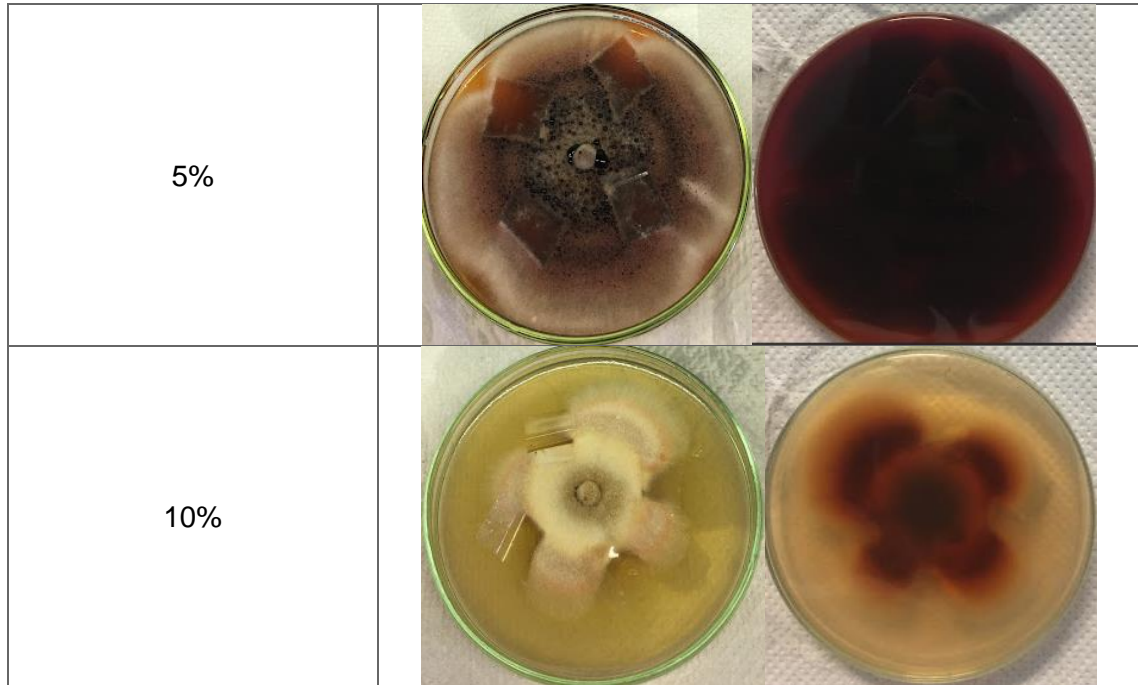
Fotografías del bioensayo de películas ante los hongos:

Película	Bioensayo <i>Fusarium solani</i>	
Control hongo patógeno		
Control HDPE		
3%		
5%		

**74** Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica PLA y PE para la conservación de frutas

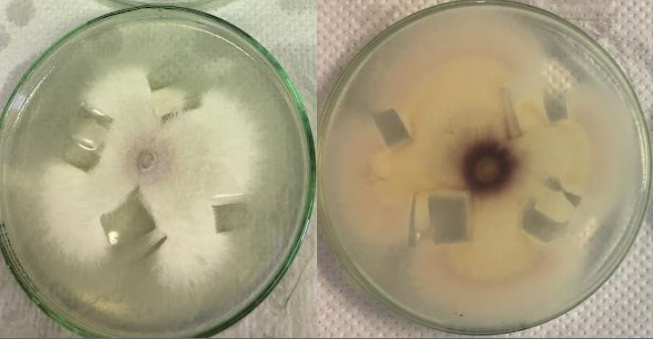
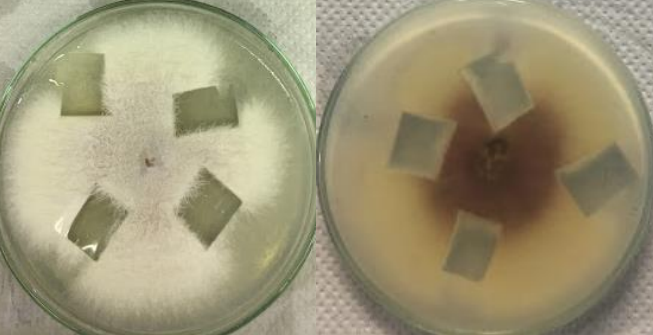
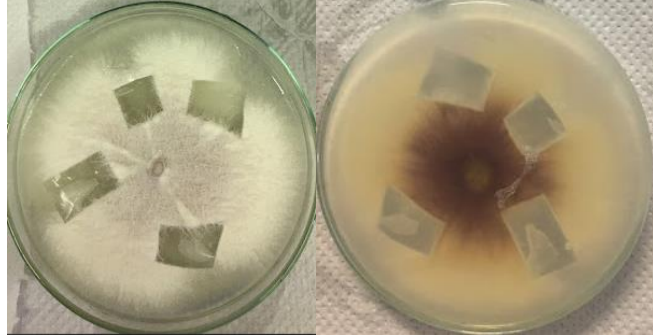


<b>Película</b>	<b>Bioensayo <i>Fusarium equiseti</i></b>
Control hongo patógeno	
Control HDPE	
3%	





**76** Aprovechamiento de biomasa como aditivo para la generación de películas de base polimérica PLA y PE para la conservación de frutas

3%	
5%	
10%	

Película	Bioensayo <i>Colletotrichum tamarilloi</i>
Control hongo patógeno	

