



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Aprovechamiento de las propiedades
conservantes de las hojas de
Stromanthe jacquinii
(Marantaceae) para la elaboración de
recipientes biodegradables**

Laura Gómez Ríos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Medellín, Colombia

2023

Aprovechamiento de las propiedades conservantes de las hojas de *Stromanthe jacquinii* (Marantaceae) para la elaboración de recipientes biodegradables

Laura Gómez Ríos

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Magíster en Ciencias – Biotecnología

Director (a):

PhD. Tatiana Lobo Echeverri

Codirector (a):

Magister Olga Inés Montoya Campuzano

Línea de Investigación:

Productos naturales

Grupo de Investigación:

Química de los productos naturales

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Medellín, Colombia

2023

Agradecimientos

Agradezco infinitamente a mi madre por estar presente incondicionalmente, por su amor y por motivarme a iniciar este camino, sin ella, esta tesis no habría sido posible. A mi padre, por su disposición y cariño durante este proceso. Sus conocimientos del campo y su admirable trabajo en el cultivo de las hojas de bijao fueron el motor para gestar la idea de este proyecto.

Quiero agradecer especialmente a la profesora Tatiana Lobo Echeverri, por sus valiosísimas enseñanzas para mi formación académica y humana, por su preocupación y apoyo en mis momentos difíciles. También, deseo agradecer a la profesora Olga Inés Montoya Campuzano por estar dispuesta a resolver mis inquietudes con paciencia, por su buena disposición y su constante preocupación por los asuntos tanto académicos como personales. A ellas, muchas gracias por creer en mí, motivarme, apostar por esta tesis y, sobre todo, por hacer más feliz y valioso mi paso por la maestría.

A mis amigos, por su confianza en mí, sus palabras de aliento y su interés por mi trabajo. Gracias a ellos por tantos momentos alegres durante estos años, que sin duda fueron una recarga de energía para continuar con este proyecto.

Al Tecnoparque Nodo Rionegro-Línea de Biotecnología del SENA, por permitirme el uso de sus instalaciones y equipos, por la ayuda con materiales y, sobre todo, por el acompañamiento, principalmente de Ledys Sadirly Copete Pertuz, quien con su ejemplo de constancia, compromiso y excelente calidad humana sentaron las bases para formarme como investigadora.

Al Banco de la república, a la Universidad Nacional de Colombia y al Área Curricular de Biotecnología por el soporte financiero para la ejecución de este proyecto y a Minciencias por la beca “Jóvenes talento”.

Resumen

Aprovechamiento de las propiedades conservantes de las hojas de *Stromanthe jacquinii* (Marantaceae) para la elaboración de recipientes biodegradables

Stromanthe jacquinii es una de las especies conocidas como bijao, sus hojas son importantes en la cultura culinaria colombiana debido a que tradicionalmente se les han conferido propiedades que permiten conservar y mejorar la calidad sensorial de los alimentos, por lo que son empleadas para envolver alimentos. Por ello, el objetivo principal fue validar el conocimiento tradicional, evaluando la actividad antimicrobiana y la composición fitoquímica de *S. jacquinii* para su aprovechamiento en la elaboración de un recipiente biodegradable con potencial conservante. Luego de ensayar varios métodos de extracción, el extracto etanólico por percolación fue el más promisorio, principalmente sobre *Botrytis cinerea* (13,9% a 4000ppm) y *Salmonella* sp. (8,1mm al 10%p/v). Siguiendo fraccionamiento biodirigido, la fracción de mediana polaridad inhibió *Fusarium oxysporum* a 500 ppm (50,6%). Por medio de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con patrones, se identificaron y cuantificaron, el ácido clorogénico, ácido rosmarínico y ácido carnósico, sugiriendo su influencia en la bioactividad. Se comprobó el efecto inhibitorio del ácido clorogénico sobre *F. oxysporum* (47,42% 500 ppm). También se detectaron orientina, ácido vanílico y kaempferol por UHPLC-MS/MS en el extracto etanólico. Luego de la evaluación y caracterización, se elaboró un recipiente con la fibra de *S. jacquinii*, usando 50% p/p fibra/almidón, reforzada con almidón de papa (9% p/v agua destilada), carboximetilcelulosa (30% p/p almidón) y glicerol (30% p/p almidón). Los resultados validan el potencial de *S. jacquinii* como alternativa promisoria para el manejo de microorganismos lo cual le confiere un potencial conservante al ser propuesto como material de empaque biodegradable.

Palabras clave: Actividad antimicrobiana, fitoquímica, biodegradable, fibra, almidón

Abstract

Harnessing the preservative properties of the leaves of *Stromanthe jacquinii* (Marantaceae) for the elaboration of biodegradable containers

Stromanthe jacquinii is one of the species commonly known as bijao. Its leaves are significantly important in the Colombian cuisine due to the traditional belief in its preserving properties and improvement of the sensory quality of food, therefore, using them to wrap traditional food. Consequently, the aim was to validate the traditional knowledge, by evaluating the antimicrobial activity and the phytochemical composition of *S. jacquinii* for its use in the elaboration of a biodegradable package with preservative potential. After trying different extraction methods, the ethanolic extract by percolation exhibited the most promising activity, mainly against *Botrytis cinerea* (13,9% a 4000ppm) and *Salmonella* sp. (8,1mm al 10%w/v). Following bioassay-guided fractionation, the medium polarity fraction inhibited *F. oxysporum* at 500 ppm (50,6%). Using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS), and high-performance liquid chromatography (HPLC) with compound standards, chlorogenic acid, rosmarinic acid, and carnosic acid were identified and quantified, suggesting its influence in the bioactivity. The inhibitory effect was evidenced for chlorogenic acid against *F. oxysporum* (47,42% 500 ppm). Orientin, vanillic acid and kaempferol were also detected in the ethanol-soluble extract by UHPLC-MS/MS. After bioevaluation and characterization, a package with the fiber of *S. jacquinii*, was elaborated by using 50% of fibre/starch, reinforced with a film made of potato starch (9% starch/distillate water), carboxymethylcellulose (30% CMC/starch), and glycerol (30% glycerol/starch). The results validate the potential of *S. jacquinii* as a promising alternative in the control of microorganisms with a preservative potential when proposed as a material for biodegradable packages.

Keywords: Antimicrobial activity, biodegradable, fiber, phytochemistry, starch

Contenido

	Pág.
Resumen	V
Lista de figuras	IX
Lista de tablas	XI
Introducción	12
Objetivos	15
1. Actividad antimicrobiana y composición fitoquímica de <i>Stromanthe jacquinii</i> 16	
1.1 Resumen	16
1.2 Introducción	17
1.3 Metodología	24
1.3.1 Colección y preservación del material vegetal	24
1.3.2 Preparación de los extractos	24
1.3.1 Evaluación y dosificación de la actividad antimicrobiana	25
1.3.1.1 Actividad antifúngica	25
1.3.1.2 Actividad antibacteriana	26
1.3.1.3 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos en bioensayos	27
1.3.2 Fraccionamiento biodirigido del extracto etanólico más promisorio	27
1.3.2.1 Caracterización del extracto etanólico	27
1.3.2.2 Fraccionamiento y caracterización fitoquímica de las fracciones más activas	28
1.3.2.3 Caracterización fitoquímica de la fracción con mayor potencial antimicrobiano	30
1.4 Resultados	32
1.4.1 Extracción y fraccionamiento biodirigido de <i>S. jacquinii</i>	32
1.4.2 Actividad biológica	34
1.4.2.1 Actividad antifúngica	34
1.4.2.2 Actividad antibacteriana	36
1.4.3 Caracterización fitoquímica del extracto etanólico E2 y las fracciones derivadas	38
1.4.4 Caracterización fitoquímica de la fracción más activa: F2-10	40
1.5 Discusión	44
2. Prototipo de recipiente biodegradable a partir de las hojas de <i>Stromanthe jacquinii</i> (Marantaceae)	56
2.1 Resumen	56
2.2 Introducción	57

Aprovechamiento de las propiedades conservantes de las hojas de *Stromanthe jacquinii* (Marantaceae) para la elaboración de recipientes biodegradables

2.3	Metodología	66
2.3.1	Elaboración de un recipiente biodegradable a partir de las hojas de <i>S. jacquinii</i> 626	66
2.3.2	Elaboración de un recipiente biodegradable a partir de la fibra de las hojas de <i>S. jacquinii</i>	65
2.3.3	Evaluación antifúngica de las láminas	70
2.3.4	Elaboración prototipo de recipiente.....	70
2.4	Resultados y discusión.....	71
2.4.1	Lámina hojas de <i>S. jacquinii</i>	71
2.4.2	Lámina de <i>S. jacquinii</i> reforzadas con un recubrimiento	71
2.4.3	Lámina de Fibra de <i>S. jacquinii</i>	74
2.4.4	Actividad antifúngica de las láminas de fibra de <i>S. jacquinii</i>	81
2.4.5	Prototipo de recipiente	82
3.	Conclusiones y recomendaciones.....	85
3.1	Conclusiones.....	85
3.2	Recomendaciones.....	86
4.	Bibliografía	88

Lista de figuras

Figura 1-1: Cultivo de hojas de bijao con diferentes especies vegetales.	18
Figura 2-1: Insectos asociados al cultivo.	18
Figura 3-1: Algunas especies vegetales asociadas al cultivo de bijao.	19
Figura 4-1: Algunas especies de aves asociadas al cultivo de bijao.	20
Figura 5-1: Extracción de las hojas de <i>S. jacquinii</i> por A) Soxhlet con Etanol B) Percolación con Etanol C) Soxhlet con Hexano D) Decocción.	25
Figura 6-1: Ensayo antibacteriano.	26
Figura 7-1: Fraccionamiento líquido de E2.	29
Figura 8-1: Cromatografía en columna a gradiente.	29
Figura 9-1: Extracción y fraccionamiento biodirigido de <i>S. jacquinii</i>	33
Figura 10-1: Actividad antifúngica de F2 frente a <i>F. oxysporum</i>	36
Figura 11-1: Actividad antibacteriana de la fracción F2 frente a A) <i>S. aureus</i> B) <i>L.</i> <i>monocytogenes</i>	37
Figura 12-1: Ensayo de bioautografía directa sobre <i>F. oxysporum</i> , para las fracciones derivadas de F2: F2-9, F2-10 y F2-11 y sus respectivos precipitados (F2-9 _p , F2-10 _p y F2- 11 _p).	39
Figura 13-1: Inhibición del crecimiento micelial de <i>F. oxysporum</i> de diferentes fracciones derivadas de F2 y sus precipitados respectivos obtenidos de <i>S. jacquinii</i> a 500 ppm.	40
Figura 14-1: Espectro de masa del ácido clorogénico.	41
Figura 15-1: Detección y cuantificación de ácido clorogénico en F2-10 por medio de HPLC.	42
Figura 16-1: Detección y cuantificación de ácido carnósico y ácido rosmarínico en F2-10 por medio de HPLC.	43
Figura 17-1: Número de especies en cada familia del orden Zingiberales en las que se ha reportado presencia de ácido vanílico, kaempferol y orientina.	48
Figura 18-2: Número de ácidos fenólicos en cada familia del orden Zingiberales.	49
Figura 19-1: Número de especies de algunos géneros de la familia Marantaceae que presentan los mismos compuestos que <i>S. jacquinii</i>	50
Figura 1-2: Recipiente biodegradable a partir de almidón y fibras vegetales.	62
Figura 2-2: Molde para elaboración recipiente con hojas <i>S. jacquinii</i>	63
Figura 3-2: Preparación de la solución de almidón a diferentes concentraciones.	64
Figura 4-2: Fragmentos de hojas de <i>S. jacquinii</i> con recubrimiento de almidón, gelatina y glicerol.	64
Figura 5-2: Preparación de la fibra de <i>S. jacquinii</i> por medio de decocción.	65
Figura 6-2: Tamizaje de la fibra inicial para obtener una fibra más fina.	66

Figura 7-2: Elaboración solución Almidón, carboximetilcelulosa y glicerol para refuerzo de la fibra.	66
Figura 8-2: Procesamiento de la fibra y la solución de almidón, CMC y glicerol.	67
Figura 9-2: Escalado de la elaboración de la lámina de fibra de <i>S. jacquinii</i>	69
Figura 10-2: Bioautografía directa de las láminas de <i>S. jacquinii</i> sobre <i>F. oxysporum</i>	70
Figura 11-2: Moldes para la elaboración del prototipo de recipiente.	70
Figura 12-2: Recipiente elaborado con láminas de las hojas de <i>S. jacquinii</i>	71
Figura 13-2: Láminas de almidón. a. 1% b. 5% c. y d. 9%.	71
Figura 14-2: Películas preparadas con almidón al 5%.	72
Figura 15-2: Película de almidón, gelatina y glicerol sobre las hojas de <i>S. jacquinii</i>	73
Figura 16-2: Hojas de achira recubiertas con almidón y gelatina.	73
Figura 17-2: Fibras de <i>S. jacquinii</i> a. Gruesa b. Fina.	75
Figura 18-2: Lámina de fibra gruesa de <i>S. jacquinii</i>	75
Figura 19-2: Lámina de fibra gruesa de <i>S. jacquinii</i>	76
Figura 20-2: Lámina con 50% de fibra gruesa secada a 50°C.	77
Figura 21-2: Lámina con 50 %p/p fibra/almidón secada a 50 °C con alta humedad.	78
Figura 22-2: Lámina con 50% p/p fibra/almidón secadas a a) Temperatura ambiente b) 50° C.	79
Figura 23-2: Lámina de fibra secadas a temperatura ambiente.	80
Figura 24-2: Evaluación antifúngica de la lámina con 50%p/p fibra/almidón sobre <i>F. oxysporum</i>	81
Figura 25-2: Recipiente elaborado a partir de la fibra de <i>S. jacquinii</i>	82
Figura 26-2: Fresas en un empaque de icopor y plástico frente a fresas empacadas en el recipiente de fibra de <i>S. jacquinii</i>	84

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1 : Actividad antimicrobiana de los compuestos presentes en las hojas de algunas plantas del género <i>Stromanthe</i>	21
Tabla 2-1: Fitoquímica y actividad antimicrobiana de algunas especies de la familia Marantaceae.	22
Tabla 3-1: Gradiente de solventes empleados en la cromatografía de columna.	30
Tabla 4-1: Gradiente de la fase móvil.	31
Tabla 5-1: Inhibición del crecimiento micelial y radio de crecimiento de <i>F. oxysporum</i> , <i>C. gloeosporioides</i> , <i>B. cinerea</i> sobre extractos obtenidos de <i>S. jacquinii</i> a 4000 ppm.	34
Tabla 6-1: Inhibición del crecimiento micelial y radio de crecimiento de <i>F. oxysporum</i> , <i>C. gloeosporioides</i> , <i>B. cinerea</i> sobre fracciones obtenidas del extracto E2 de <i>S. jacquinii</i> a 4000 ppm	35
Tabla 7-1: Inhibición del crecimiento micelial de la fracción soluble en diclorometano (F2) obtenida de <i>S. jacquinii</i> a diferentes concentraciones.	35
Tabla 8-1: Actividad antibacteriana de extractos <i>S. jacquinii</i> al 10% p/v frente a bacterias.	36
Tabla 9-1: Actividad antibacteriana de fracciones de E2 obtenidas de <i>S. jacquinii</i> al 10% p/v frente a bacterias.	37
Tabla 10-1: Compuestos propuestos para el extracto etanólico detectados mediante UHPLC-MS/MS.	38
Tabla 11-1: Actividad antimicrobiana de especies del orden Zingiberales usadas como empaque de alimentos.	45
Tabla 12-1: Actividad antimicrobiana de los compuestos propuestos para el extracto etanólico de <i>S. jacquinii</i>	52
Tabla 1-2: Preparación solución de almidón.	63
Tabla 2-2: Condiciones de preparación de la lámina de fibra de <i>S. jacquinii</i>	83

Introducción

Un total de 136 tipos de hojas de plantas, entre helechos, monocotiledóneas y dicotiledóneas se utilizan para envolver alimentos tradicionales de la gastronomía colombiana (Montaño Montaño et al., 2020). Algunas de esas hojas son conocidas comúnmente como bijao o biao y pertenecen a las familias Marantaceae, Heliconiaceae o Musaceae, del orden Zingiberales. Tradicionalmente se les han atribuido características prometedoras a las hojas de bijao. Se manifiesta que al usar dichas hojas para envolver alimentos le confiere a los mismos, propiedades que mejoran su calidad sensorial, como el sabor y olor característicos de las hojas; además que poseen propiedades conservantes y sobre todo que son materiales biodegradables usados como empaque. Esta última importante porque en el mundo, hay una sobreproducción de empaques no biodegradables, que al no ser reciclados se acumulan en la biosfera, conllevando a una alta contaminación ambiental y a su vez una muerte masiva de especies marinas y terrestres.

Como una alternativa a esos empaques no biodegradables, se han identificado varias propuestas, entre ellas la fabricación de platos biodegradables a partir de hojas de plátano (Sevillano et al., 2018). Esta industria está emergiendo cada vez con más fuerza en la búsqueda de alternativas sustentables con menor impacto en el medio ambiente. Sin embargo, estos estudios son abordados desde el punto de vista de la elaboración y de la comercialización del recipiente, desde la óptica del diseño y la ingeniería, sin tener en cuenta la especie vegetal que se está estudiando. Por ello, se puede estar dejando de lado el valor agregado que podría tener un recipiente derivado de productos naturales, considerando el contenido de metabolitos secundarios que pueden ser promisorios que pueden aportar propiedades biológicas al empaque, como son los compuestos antimicrobianos.

La caracterización química y validación de la actividad biológica de las especies usadas como empaques, contribuye a la estandarización de procesos de extracción y a direccionar

el uso de productos derivados de estas hojas como formulaciones de antimicrobianos derivados de especies de bijao. Esto es pertinente debido a que, en la industria alimentaria, los antimicrobianos químicos más empleados son los nitratos, los benzoatos y el cloruro de sodio, que debido a una dosis inadecuada pueden llegar a causar cáncer, problemas respiratorios y mutagenicidad o el ácido acético, ácido propiónico y ácido sórbico que causan diarreas, alergias, vómitos y dolores de cabeza. Con base a lo anterior es necesario buscar otras maneras de prevenir las intoxicaciones alimentarias sin afectar la salud de los consumidores (Arana & Naccha, 2017). Con respecto a las intoxicaciones alimentarias, ellas constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad y un significativo obstáculo para el desarrollo socioeconómico en todo el mundo. Según la organización mundial de la salud (OMS), se atribuyeron 18 millones de AVAD (años de vida ajustados por discapacidad) a los agentes etiológicos de enfermedades diarreicas transmitidas por los alimentos (ETA), en especial a la bacteria *Salmonella enterica* no tifoidea y *Escherichia coli* enteropatógena (Who, 2015). Sumándose a lo anterior un tercio de los alimentos producidos se pierde o desperdicia cada año debido a la alteración o el deterioro microbiano según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO) (Motelica et al., 2020).

Stromanthe jacquinii (Roem. & Schult.) H. Kenn. & Nicolson, es una de las especies usadas para envolver alimentos, a las cuales se les conoce comúnmente como bijao, pertenece a la familia Marantaceae y se distribuye desde Nicaragua hasta Ecuador, en Colombia crece en 15 de los 32 departamentos entre los 80 a los 1800 m.s.n.m (Cogollo et al., 2007). Hasta la fecha no se conocen reportes químicos ni biológicos que validen el conocimiento tradicional acerca de su potencial antimicrobiano, aunque existen reportes en el género *Stromanthe* sobre la presencia de flavonas glicosiladas, antocianinas, monoterpenos y otros compuestos fenólicos que pueden ser un indicio de su actividad microbiológica.

En esta investigación, el objetivo fue validar el potencial antimicrobiano de los extractos y fracciones de *S. jacquinii*, como un indicador de su potencial conservante para así elaborar un recipiente biodegradable aprovechando la capacidad de las hojas de *S. jacquinii* para preservar alimentos e inhibir el desarrollo microbiano.

Se realizaron extracciones con diferentes métodos (soxhlet, percolación y decocción) y diferentes solventes (etanol, hexano y diclorometano), se obtuvieron varios extractos y se evaluó su actividad antimicrobiana. El extracto más promisorio se caracterizó

presuntivamente por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se realizó un fraccionamiento biodirigido con el extracto más promisorio, donde se obtuvieron varias fracciones. Se evaluaron las fracciones sobre el microorganismo en la que presentaron mejor bioactividad y se caracterizaron las fracciones activas por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, cromatografía líquida de ultra-alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas (UHPLC-MS/MS) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) usando estándares de los compuestos detectados en la espectrometría de masas.

Se emplearon diferentes metodologías en la fabricación del recipiente, se elaboró el recipiente directamente a partir de las hojas de *S. jacquinii*, en otra se cubrieron las hojas con una película de almidón de papá, gelatina y glicerol y como última opción la fibra de las hojas de *S. jacquinii* se reforzó con una solución de almidón, carboximetilcelulosa y glicerol.

Entre las limitaciones que se encontraron en el desarrollo del trabajo se encuentra que la caracterización química de las hojas se realizó mediante comparaciones entre los espectros de masas y las bases de datos lo cual no permite estar completamente seguro de los compuestos identificados. Sin embargo, algunos compuestos se lograron confirmar usando patrones. Adicionalmente, los compuestos precipitados de las fracciones activas presentaron problemas de solubilidad por lo que no se llegó a la estructura absoluta de estos por resonancia magnética nuclear.

Este estudio constituye la base para el desarrollo de formulaciones antimicrobianas útiles en la industria alimentaria con menos efectos negativos sobre la salud humana. Además, se muestra el potencial de las fibras y otras fuentes naturales para la creación de materiales de empaque biodegradables y con características que permitan conservar los alimentos. El aprovechamiento de las hojas de *S. jacquinii* ayudan al reconocimiento y evocación de las tradiciones ancestrales y cotidianas de la cultura colombiana. Además, su uso extendido podría amplificar los servicios ecosistémicos de suministro que ofrece su cultivo, que incluyen los alimentos, agua, fuentes de energía, materiales de construcción o medicinas (Balvanera, 2012).

Objetivos

Objetivo general

Explorar las propiedades antimicrobianas de las hojas de bijao *Stromanthe jacquinii* para su aprovechamiento en la elaboración de un recipiente biodegradable con potencial conservante.

Objetivos específicos

- Obtener extractos y fracciones de la hoja de bijao bajo diferentes métodos a escala de laboratorio.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos sobre algunas cepas de bacterias causantes de intoxicaciones alimentarias.
- Caracterizar fitoquímicamente el extracto con mayor potencial antimicrobiano con el fin de estandarizarlo.
- Elaborar un prototipo de recipiente empleando las hojas de bijao.

1. Actividad antimicrobiana y composición fitoquímica de *Stromanthe jacquinii*.

1.1 Resumen

Stromanthe jacquinii (Marantaceae) es una de las especies cuyas hojas llamadas Bijao, son usadas para envolver alimentos, aprovechando su dureza y capacidad aislante de la temperatura. Esta es una de las especies usadas como envoltura de alimentos, menos estudiada y con potencial biológico y químico. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue validar el potencial de las hojas en la conservación de alimentos explorando la capacidad inhibitoria de sus extractos, sobre algunos microorganismos causantes de intoxicaciones o alteración alimentaria. Para ello, se realizaron extracciones usando Soxhlet con hexano y etanol, además de percolación con etanol y por decocción con agua, los cuales se evaluaron sobre las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus* y los hongos *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum gloesporioides*. Se observó la actividad más promisorio con el extracto etanólico obtenido por percolación, principalmente sobre *B. cinerea* (13,9% a 4000ppm) y *Salmonella* sp. (8,1mm al 10% p/v). Se detectaron en este extracto, orientina, ácido vanílico y kaempferol por cromatografía líquida de ultra-alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas (UHPLC-MS/MS). Luego del fraccionamiento biodirigido del extracto se obtuvo 3 fracciones de diferente polaridad, presentando la fracción de mediana polaridad (F2), mayor actividad inhibitoria contra *F. oxysporum* (32,1% a 4000 ppm) y *Salmonella* sp. (17,7mm al 10% p/v). Esta fracción fue subsecuentemente fraccionada por cromatografía de columna obteniendo 13 subfracciones, de las cuales la fracción F2-10 presentó mayor actividad inhibitoria contra *F. oxysporum* (50,6 % a 500 ppm). En F2-10 se detectaron compuestos fenólicos como el ácido clorogénico por GC-MS, los cuales se cuantificaron por HPLC usando patrones, identificándose a su vez, ácido rosmarínico y ácido carnósico. El ácido clorogénico inhibió el crecimiento de *F. oxysporum* (47,42% a 500 ppm). Los compuestos biológicamente activos presentes en *S. jacquinii* validan su uso tradicional, lo que sugiere que esta especie podrían ser una nueva fuente de

agentes antimicrobianos y/o la base para el desarrollo de empaques biodegradables con características conservantes.

Palabras clave: Antibacteriano, antifúngico, alteración alimentaria, Biao, Bijao.

1.2 Introducción

Las hojas conocidas comúnmente en Colombia como Biao/Bijao son plantas de varias especies de la familia Marantaceae de los géneros *Calathea* y *Stromanthe* (Díaz Piedrahita, 2012) y de la familia Heliconiaceae (Esperanza et al., 2006) del género *Heliconia*. Estas hojas tienen una importancia socioeconómica en el empaque, transporte y conservación de alimentos y desde épocas pasadas han sido usadas por los habitantes de América, cuando necesitaban desplazarse de un lugar a otro tras largos desplazamientos a pie (Guerra Gómez, 2018). También, los indígenas las usaban para cubrir sus viviendas durante las lluvias y para guardar comestibles y sal según lo reportan cronistas entre el siglo XVI y XVIII (Díaz Piedrahita, 2012). En la actualidad, hacen parte de la tradición, el legado cultural y el sentido de pertenencia por el territorio latinoamericano (Higuera-Mora et al., 2020). Dentro de la cultura culinaria colombiana, las hojas de bijao se usan como envoltura del bocadillo (Castellanos et al., 2011; Vergara et al., 2018), la panela (de Oro Torres, 2003), el pescado, alimentos tradicionales (los tamales, fiambres o envueltos, fritangas, bollos etc.), el quesito antioqueño, la carne, las harinas y los dulces típicos como alfandoques, melcochas, panelitas, entre otros (Díaz Piedrahita, 2012). Tradicionalmente, se manifiesta que el uso de las hojas de bijao para envolver alimentos le confiere a los mismos, mayor durabilidad y propiedades que mejoran su calidad sensorial (Cortez Solis, 2006; de Oro Torres, 2003). En el caso del pescado se evidencia que, al cubrirlo con estas hojas de bijao, se comportan como aislante de la temperatura exterior (Cortez Solis, 2006). Por otro lado, en la panela hay mayor durabilidad cuando se emplean las hojas de bijao como empaque (de Oro Torres, 2003).

El cultivo de las hojas de bijao presenta un crecimiento vegetativo rápido y permanente que puede mantenerse a bajo costo en buenas condiciones por más de veinte años debido a su constante renovación (Figura 1-1) (del Aguila Torres, 2014). Cabe resaltar, que su cultivo está asociado con diferentes servicios ecosistémicos, tales como: protección de cuencas hídricas (Esperanza et al., 2006), regulación de la temperatura y el microclima, purificación del aire, suministro de materia orgánica, prevención de la erosión,

conservación del suelo, control de malezas y refugio de anfibios y artrópodos. Sumándose a lo anterior, las hojas de bijao crecen mejor en condiciones de semisombra, por lo tanto, su cultivo está asociado con otras especies vegetales que atraen aves, insectos y murciélagos (Figura 2-1, Figura 3-1, Figura 4-1) (Higuera-Mora et al., 2020) que ayudan a polinizar las plantas y de cultivos que se encuentran a su alrededor (Cogollo, et al., 2007).

Figura 1-1: Cultivo de hojas de bijao con diferentes especies vegetales.



Figura 2-1: Insectos asociados al cultivo.

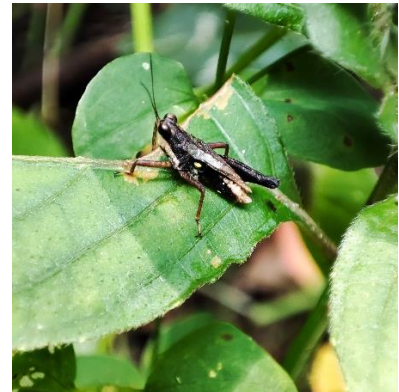


Figura 3-1: Algunas especies vegetales asociadas al cultivo de bijao.



Figura 4-1: Algunas especies de aves asociadas al cultivo de bijao.



Calathea lutea (Aubl.) Shult (Marantaceae) es una de las especies de bijao más conocida y estudiada y se ha reportado en la superficie de sus hojas la producción de una conspicua capa de cera que está relacionado a su potencial como aislante y/o conservante (Karl Egil et al., 1979) y una alta concentración de taninos y compuestos fenólicos como flavonoides (Aguirre M et al., 2010; Williams & Harborne, 1977). Por el contrario, *Stromanthe jacquinii* (Roem. & Schult.) H. Kenn. & Nicolson (Marantaceae), la cual es otras de las plantas cuyas hojas son usadas tradicionalmente para envolver alimentos (Cogollo et al., 2007) es una de las menos estudiadas. En Colombia, *S. jacquinii* crece en 15 de los 32 departamentos (Bernal et al., 2019) y se encuentra entre las especies con mayor éxito de propagación comparada con otras especies de la familia Marantaceae que están presentes en la jurisdicción de Corantioquia (conformada por 80 municipios del centro de Antioquia) (Cogollo et al., 2007).

En la especie *S. jacquinii* no existen reportes acerca de su composición química y actividad biológica, a pesar de su extendido uso a nivel tradicional. Sin embargo, en hojas de otras especies del género *Stromanthe* se han reportado flavonoides (flavonas glicosiladas y antocianinas), otros compuestos fenólicos y monoterpenos (Tabla 1-1) con propiedades antimicrobianas. (Cushnie & Lamb, 2005a; Górnaiak et al., 2019)

Tabla 1-1 : Actividad antimicrobiana de los compuestos presentes en las hojas de algunas plantas del género *Stromanthe*.

Especie vegetal	Compuestos en las hojas	Actividad antimicrobiana								Referencias
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. oxysporum</i>	
<i>Stromanthe amabilis</i>	Ácido clorogénico	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	(Abdullah et al., 2008; Kabir et al., 2014; Ling, Zhang, Wang, Mao, & Huang, 2013; G. Martínez et al., 2017; Pernin et al., 2018; Suárez-Quiroz et al., 2013; Sun et al., 2020; L. Zhang et al., 2022)
<i>Stromanthe spectabilis</i>	Iridoide	✓	✓			✓				(Ajiboye et al., 2017; Alvarado-Martinez et al., 2020; Aziz et al., 1998; Chiruvella et al., 2007; Maisch et al., 2022; Mendoza et al., 2016; Merh et al., 1986; Nguyen et al., 2015; Orlo et al., 2021; Osondu et al., 2022; Patra, 2012; Rodríguez Vaquero et al., 2007; Sato et al., 2000; Zaldivar & Ingram, 1999; Zhong et al., 2022; Zhumakanova et al., 2021)
	Glicósido de luteolina	✓	✓	✓		✓				
	Vitexina	✓	✓	✓				✓	✓	
	Ácido vanílico	✓	✓	✓	✓	✓	✓			
	Ácido siríngico	✓						✓		
	ácido protocatecuico	✓	✓	✓	✓	✓		✓		
<i>Stromanthe sanguinea</i>	Orientina	✓	✓							(Ali & Dixit, 2012; Boba et al., 2017; E Azzaz & H El-khateeb, 2010; Williams & Harborne, 1977; Zhong et al., 2022)
	Vitexina	✓	✓	✓				✓	✓	
	Isovitexina	✓	✓	✓				✓	✓	
	Isoorientina	✓	✓	✓						

Adicionalmente, en otros géneros de la familia Marantaceae, se ha reportado la presencia de flavonoides, los cuales son ampliamente reconocidos como agentes antimicrobianos (Cushnie & Lamb, 2005a; Górnjak et al., 2019) y se encuentran presentes en la mayoría de las especies vegetales consignadas en la Tabla 2-1; como también, se encuentran compuestos como los ácidos fenólicos, principalmente el ácido vanílico y el ácido siríngico, con acción antifúngica y antibacteriana (Tabla 1-1). Debido a que las especies que se encuentran en la misma familia podrían tener similitudes en su composición fitoquímica, los reportes mencionados sugieren que la especie *S. jacquinii* podría tener actividad antimicrobiana.

Tabla 2-1: Fitoquímica y actividad antimicrobiana de algunas especies de la familia Marantaceae.

Especie vegetal	Actividad antimicrobiana	Fitoquímica	Referencias
<i>Calathea angustifolia</i>	NR	Flavonoides (mirecitina)	(A et al., 2022; Abdullah et al., 2008; O. O. Adeogun et al., 2017; BATE-SMITH, 1968; Daud et al., 2011; Gutierrez-Lugo et al., 2005; Igboasoiki et al., 2015; Lagnika et al., 2008; Li et al., 2015a; Merh et al., 1986; Mohd Daud, 2012; Oboh et al., 2016; A. Ojekale et al., 2007; Rahman et al., 2014; Rob et al., 2020; Ukwubile, 2017; Williams & Harborne, 1977)
<i>Calathea cylindrica</i>	NR	Flavonoides (quercetina)	
<i>Calathea insignis</i>	NR	Flavonoides (mirecitina)	
<i>Calathea Leitzei</i>	NR	Flavonoides (quercetina, kaempferol) Ácido fenólico (ácido sinápico, cafeico, p- cumárico y ferúlico)	
<i>Calathea lutea</i>	NR	Flavonoides (luteolina y apigenina)	
<i>Calathea undulata</i>	NR	Flavonoides (rutina)	
<i>Calathea variegata</i>	NR	Flavonoides (rutina)	
<i>Calathea warscewiczii</i>	NR	Flavonoides (rutina y mirecitina)	
<i>Ctenanthe kummeriana</i>	NR	Flavonoides (rutina y flavonas C- glicósidos)	
<i>Ctenanthe lubbersiana</i>	NR	Flavonoides (rutina)	
<i>Ctenanthe oppenheimiana</i>	NR	Flavonoides (flavonas C- glicósidos)	
<i>Donax grandis</i>	<i>S. aureus</i>	Esteroides Saponinas Taninos Esteroles	
<i>Ischnosiphon aruma</i>	NR	Flavonoides (cianidina)	
<i>Maranta arundinacea</i>	NR	Ácidos fenólicos (ácido vanílico, siríngico, protocatecuico, cafeico, p- cumárico, ferúlico, sinápico y p-Hidroxibenzoicos) Polifenoles (ácido clorogénico) Flavonoides (rutina y C-glicósido 3'- O Me luteolina)	
<i>Maranta depressa</i>	NR	Polifenoles (ácido clorogénico y rosmarínico) Flavonoides (rutina)	

Espece vegetal	Actividad antimicrobiana	Fitoquímica
<i>Maranta bicolor</i>	NR	Ácidos fenólicos (ácido vanílico, siríngico, gentísico) Polifenoles (ácido clorogénico) Flavonoides (luteolina, apigenina, kaempferol y quercetina)
<i>Maranta leuconeura</i>	NR	Polifenoles (ácido clorogénico y rosmarínico) Flavonoides (rutina, luteolina, apigenina y quercetina)
<i>Monotagma spicatum</i>	NR	Flavonoides (flavonas C- glicósidos)
<i>Marantochloa cuspidata</i>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>Salmonella typhi</i>	Alcaloides Antraquinonas Saponinas Taninos
<i>Megaphrynium macrostachyum</i>	<i>Fusarium oxisporum</i>	Alcaloides Saponinas Flavonoides Taninos Esteroides Terpenos
<i>Monotagma spicatum</i>	NR	Flavonoides (flavonas C- glicósidos)
<i>Monotagma densiflorum</i>	NR	Ácido fenólico (ácido vanílico, siríngico, protocatecuico, p-cumárico y p-Hidroxibenzoicos)
<i>Phrynium capitatum</i>	<i>E. coli</i>	Alcaloides Saponinas Flavonoides Taninos
<i>Pleiostachya pruinosa</i>	NR	Flavonoide (quercetina y peonidina) Ácido fenólico (ácido vanílico, siríngico y protocatecuico)
<i>Sarcophrynium macrophyllum</i>	NR	Flavonoides (flavonas C- glicósidos)
<i>Schumanianthes dichotomus</i>	NR	Ácido fenólico (ácido siríngico y sinápico)
<i>Schumanianthes virgatus</i>	NR	Ácido fenólico (ácido vanílico, siríngico, protocatecuico, p-cumárico, ferúlico y p-Hidroxibenzoicos)
<i>Thalia geniculata</i>	NR	Polifenoles (ácido rosmarínico) Esteroles (stigmaesterol y beta-sitoesterol)
<i>Thalia multiflora</i>	NR	Alcaloides Esteroides Flavonoides (isorhamnetina y quercetina) Cerámidas
<i>Thaumatococcus daniellii</i>	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Fusarium oxisporum</i>	Ácidos grasos (ácido esteárico, láurico, n-hexadecanoico) Alcaloides Saponinas Flavonoides Taninos Terpenos (escualeno) Esteroides Antraquinonas

NR: No reportado

Con base en lo anterior este estudio tuvo como objetivo validar el conocimiento tradicional y artesanal, investigando la composición química y la actividad antimicrobiana de sus hojas. Los resultados obtenidos pueden respaldar las propiedades conservantes que se le atribuyen, lo que alentaría el desarrollo de materiales de empaque biodegradables y antimicrobianos naturales basados sus hojas.

De tal forma, se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos de diferentes polaridades de las hojas de *S. jacquinii* frente a las bacterias *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* y los hongos fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea*. Asimismo, se evaluaron los diferentes métodos de extracción para potenciar el efecto conservante. Se estudió la composición fitoquímica del extracto/ fracción de *S. jacquinii* con mejor potencial antimicrobiano con el fin de identificar presuntivamente cuales compuestos retrasan la descomposición de los alimentos y conocer la estabilidad de esas hojas como base de una futura formulación y aplicación en empaques biodegradables.

1.3 Metodología

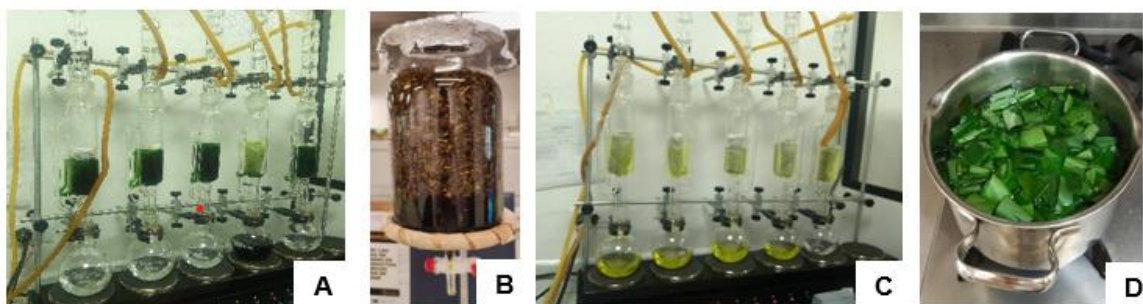
1.3.1 Colección y preservación del material vegetal

Se colectó *Stromanthe jacquinii* (Marantaceae) en un cultivo ubicado en 6°25'37.4"N 75°19'42.0"W, en el municipio de Barbosa, Antioquia, Colombia. Se recolectaron 5 Kg de hojas para el trabajo de laboratorio y se tomaron 2 muestras de herbario y se depositaron en el herbario de la Universidad Nacional de Colombia (MEDEL), como muestras testigo, con el fin, de la verificación de la identidad de la planta y legalización de los especímenes.

1.3.2 Preparación de los extractos

Se lavaron las hojas de la planta con agua destilada y se secaron a temperatura ambiente. Se molió el material vegetal, se sometió a la extracción por medio de diferentes técnicas (Figura 5-1) con el fin, de estandarizar el extracto de acuerdo con la actividad biológica más promisoría (Jones & Kinghorn, 2012).

Figura 5-1: Extracción de las hojas de *S. jacquinii* por A) Soxhlet con Etanol B) Percolación con Etanol C) Soxhlet con Hexano D) Decocción.



Un tamizaje inicial de la actividad biológica de una planta generalmente comienza con una extracción etanólica, dado que la mayoría de los componentes activos frente a microorganismos y que han sido identificados en las plantas son aromáticos o compuestos orgánicos saturados, además de ser el solvente ideal para romper la pared y membrana celular (Cowan, 1999), por ello, se realizó una extracción por soxhlet recirculando el etanol (E1) a 300 °C por 48 h, y por percolación con etanol (E2) al 96% v/v (1L x 200 g). Por otra parte, se realizó una extracción por soxhlet recirculando hexano (E3) a 300 °C durante 48 h con el fin de extraer la cera que recubre la superficie de las hojas y finalmente, se llevó a cabo una extracción acuosa (E4) por decocción, teniendo en cuenta la tradición culinaria de someter al calor los alimentos envueltos en hoja de bijao por medio de un baño María, lo cual podría liberar a los alimentos ciertos compuestos con propiedades conservantes. Finalmente, se secaron los extractos de solventes orgánicos por medio de un rotaevaporador (Heidolph) y el extracto acuoso se liofilizó en un equipo Lyph Lock 4.5 Labconco.

Se emplearon solventes orgánicos (Merck, Darmstadt, Germany) para todos los procesos de extracción y de fraccionamiento. Se conservaron los extractos vegetales secos a -20 °C hasta su evaluación biológica.

1.3.1 Evaluación y dosificación de la actividad antimicrobiana

1.3.1.1 Actividad antifúngica

Se evaluó la actividad antifúngica sobre los hongos fitopatógenos *Colletotrichum gloesporioides* (cepa del mango), *Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum* (aislados de la

lima de Tahiti), identificadas por la profesora Lucia Afanador (Facultad de Ciencias Agrarias, UNAL-med), para lo cual se empleó el método de envenenamiento del medio de cultivo (Wiegand et al., 2008). Diferentes concentraciones del extracto de *S. jacquinii* (500, 1000, 1500, 2000 y 2500 ppm) disueltas en Tween 80 al 0,1% se adicionaron a cajas Petri con agar Papa Dextrosa (PDA). Las fracciones y compuestos fueron evaluadas solo sobre la cepa de mayor actividad biológica (*F. oxysporum*) a una concentración de 500 ppm. Se sembraron cada una de las cepas de hongos en discos de micelio de 0,5 cm de diámetro en el centro de cajas Petri. Se incubaron los cultivos fúngicos a temperatura ambiente. El tiempo total del bioensayo dependió de cada cepa (aproximadamente 7-9 días). Se tomaron dos controles negativos, un control absoluto, que era el hongo en el medio de cultivo sin extracto y otro control del Tween 80 a la concentración usada para disolver las muestras. Como control positivo se usó un antifúngico comercial a base de extracto de limón marca Ecoflora Agro® a una concentración de 500 ppm. Cada ensayo se realizó por triplicado y se midió el diámetro del crecimiento micelial cada 24 horas durante 7 días con un Vernier digital. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM) con los datos obtenidos de cada hongo, según la Ecuación 1.

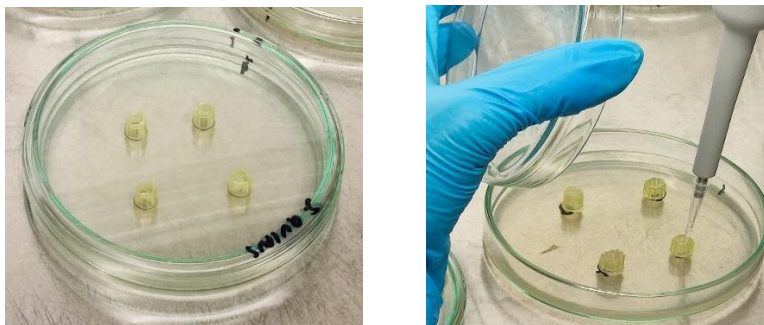
Ecuación 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (ICM)

$$\text{ICM} = \frac{(\text{crecimiento control} - \text{crecimiento dosis})}{(\text{crecimiento control})} * 100$$

1.3.1.2 Actividad antibacteriana

Se evaluó la actividad antibacteriana de cada uno de los extractos sobre las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria* sp., *Bacillus cereus* por medio del método de difusión en disco de (Bauer et al., 1966). Se prepararon suspensiones a partir de cada una de las bacterias y la concentración se ajustó al patrón 0,5 de la escala McFarland. Se inocularon cada una de las suspensiones bacterianas, en cajas de Petri con agar Mueller-Hinton por el método de agotamiento en superficie. Se colocaron bases de micropipetas (Figura 6-1) sobre la superficie del medio de cultivo, se adicionó la muestra a evaluar y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Luego se midieron los halos de inhibición alrededor de los discos. Inicialmente se ensayaron las muestras a una concentración del 10% p/v.

Figura 6-1: Ensayo antibacteriano.



Para diluir los extractos se usó dimetilsulfóxido (DMSO, 99% v/v). Cada extracto fue evaluado por triplicado y como control negativo se evaluó el solvente (DMSO) y como control positivo el antibiótico gentamicina (5 mg L⁻¹).

1.3.1.3 Tratamiento estadístico de los datos obtenidos en bioensayos

Con el fin de identificar la variación en el porcentaje de inhibición del crecimiento fúngico y bacteriano, entre los tratamientos y los controles se realizaron análisis de varianza (ANAVA) de una vía. Se realizaron pruebas de Tukey con un nivel de confianza del 95% para detectar la significancia en las diferencias con el software R versión 4.2.2. Los gráficos fueron elaborados a partir del paquete ggplot2 del software R.

1.3.2 Fraccionamiento biodirigido del extracto etanólico más promisorio

Luego de la selección del extracto con mejor actividad biológica, se realizó la caracterización y fraccionamiento del extracto E2, biodirigido por el bioensayo donde se presentó la mejor actividad, con el fin de detectar los compuestos presentes únicamente en las fracciones activas.

1.3.2.1 Caracterización del extracto etanólico

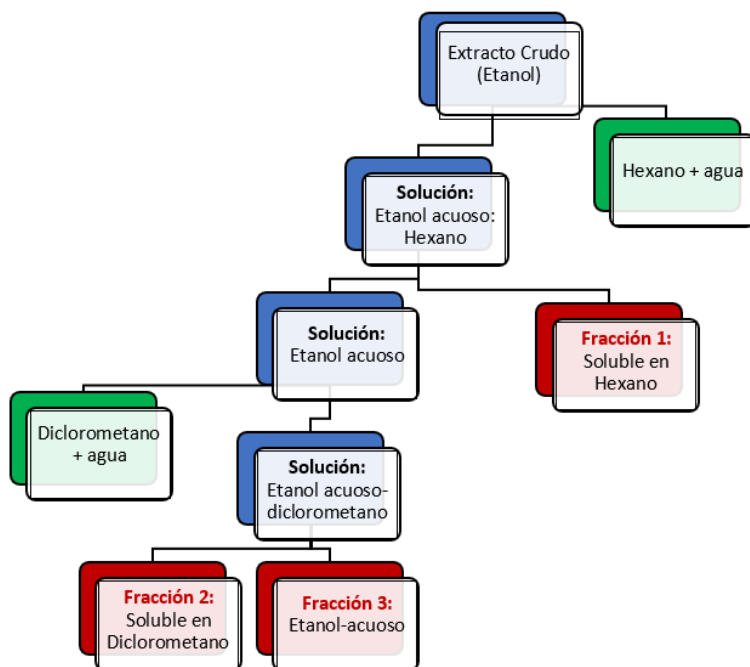
Inicialmente, se sometió el extracto etanólico E2 a cromatografía líquida de ultra-alta resolución acoplado a espectrometría de masas en tándem (UHPLC-MS/MS) para identificar su perfil cromatográfico y detectar núcleos. Se usó un cromatógrafo Vanquish Horizon Duo de Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, United States), con una columna Accucore C18 de 150 mm longitud, 2,1 mm de diámetro interno y

2,6 µm de tamaño de partícula. La fase móvil se constituyó de un buffer A (0,1% v/v de ácido fórmico en agua) y un buffer B (0,1% v/v ácido fórmico en metanol), combinándose en un gradiente del 5 - 100% de buffer B durante 18 minutos. Para la detección de los compuestos se utilizó la ionización por electropulverización calentada (HESI), en modo de ion positivo, con los dos analizadores de masas, MS1 para el ion molecular y MS2 para los fragmentos, en un espectrómetro de masas Q Exactive hybrid quadrupole-orbitrap de Thermo Fisher Scientific (Sedio et al., 2021). Los cromatogramas obtenidos fueron tratados en OpenChrom y en Mzmine versión 2.53 y luego analizados con el software AMDIS y con la base de datos espectral de masas NIST y GNPS.

1.3.2.2 Fraccionamiento y caracterización fitoquímica de las fracciones más activas

Se sometió el extracto a un fraccionamiento líquido y se obtuvieron tres fracciones de polaridad creciente (Figura 7-1). Se llevó el extracto etanólico al embudo de separación con hexano y agua destilada a una proporción de 9:1, luego de reposar se separaron las dos fases, una soluble en hexano (F1) y una fracción soluble en etanol-agua. Esta última se pasó nuevamente por el embudo de separación, se agregó diclorometano y agua destilada a una fracción de 1:1 hasta obtener dos fases, una soluble en diclorometano (F2) y otra etanólico-acuosa (F3). Se evaporaron los solventes en su totalidad y cada una de las fracciones fueron evaluadas en el bioensayo antimicrobiano más promisorio.

Figura 7-1: Fraccionamiento líquido de E2.



Luego del bioensayo, se seleccionó la fracción con mejor actividad biológica y se fraccionó por cromatografía de columna usando Sílica gel 60, eluída con solventes orgánicos a gradiente (Figura 8-1). En la Tabla 3-1 está consignado el gradiente de solventes. Las fracciones obtenidas fueron monitoreadas por medio de cromatografía en capa fina y se realizó la evaluación biológica por medio del bioensayo de bioautografía directa (Dewanjee et al., 2015).

Figura 8-1: Cromatografía en columna a gradiente.



Tabla 3-1: Gradiente de solventes empleados en la cromatografía de columna.

Solventes	Proporción
Éter de Petróleo – CH ₂ Cl ₂	100:0
Éter de Petróleo – CH ₂ Cl ₂	50:50
Éter de Petróleo – CH ₂ Cl ₂	40:60
Éter de Petróleo – CH ₂ Cl ₂	20:80
CH ₂ Cl ₂ – C ₄ H ₈ O ₂	100:0
CH ₂ Cl ₂ – C ₄ H ₈ O ₂	50:50
CH ₂ Cl ₂ – C ₄ H ₈ O ₂	40:60
CH ₂ Cl ₂ – C ₄ H ₈ O ₂	20:80
C ₄ H ₈ O ₂ – CH ₃ OH	100:0
C ₄ H ₈ O ₂ – CH ₃ OH	50:50
C ₄ H ₈ O ₂ – CH ₃ OH	40:60
C ₄ H ₈ O ₂ – CH ₃ OH	20:80

Luego de la evaluación biológica de las fracciones obtenidas por Sílica gel, usando el método de bioautografía, se sometieron las fracciones más promisorias a cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para la detección de los núcleos mayoritarios. Para ello, se usó un cromatógrafo de gases Agilent 6890 acoplado a un espectrómetro de masas (5973), con una columna capilar ZB-35 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Se inyectaron 3.0 µL para cada muestra y se usó helio como fase móvil a un flujo de 1.2 mL min⁻¹ (velocidad lineal 36 cm/s). Se hizo la inyección a modo splitless con una temperatura del inyector de 250 °C. La temperatura inicial de la columna fue de 100 °C durante 1 min y se incrementó en 340 °C con un tiempo de corrida total de 60 min. Se fijó la temperatura del detector en 350°C para adquirir los datos de masas. Se hizo el barrido en modo SCAN con un retardo de solvente de 6 min y un intervalo de masas entre 30 y 800 unidades de masa atómica (UMA). Se analizaron los cromatogramas con el software AMDIS y la base de datos espectral de masas NIST y GNPS.

1.3.2.3 Caracterización fitoquímica de la fracción con mayor potencial antimicrobiano

- Detección y cuantificación de compuestos por HPLC

Luego del fraccionamiento por Sílica gel, la fracción con mayor actividad antimicrobiana, detectada inicialmente por bioautografía y confirmada por el método de agar envenenado a 500 ppm, se sometió a cromatografía de alta resolución (HPLC). La fracción se comparó con patrones de compuestos detectados en la caracterización realizada por GC-MS, para de esta manera confirmar y cuantificar la presencia de dichos compuestos. Se utilizó un cromatógrafo líquido (Shimadzu, Kyoto, Japón), equipado con un autoinyector/HT SIL - 20A, un módulo de comunicación CBM-20A y un detector de arreglo de diodos (PDA) SPD-M20A ajustado a las longitudes de onda, descritas a continuación. La cuantificación se realizó en una columna LiChrospher (Merck, Darmstadt, Alemania) 100 RP-18 (5 μm) 250 mm \times 4 cm. La fracción se disolvió en etanol, se filtró a través de un tamaño de poro de 0,45 μm y se realizaron diluciones en etanol grado HPLC antes de la inyección al cromatógrafo.

Se determinó el contenido de ácido clorogénico según el protocolo propuesto por Rodrigues y Bragagnolo (2013), con algunas modificaciones. El detector de arreglo de diodos fue ajustado a 320 nm. En la Tabla 4-1 está consignado como se programó la fase móvil.

Tabla 4-1: Gradiente de la fase móvil.

Tiempo (min)	%Conc B
0.00	15
5.00	30
20.00	30
24.00	15
35.00	15

B: Metanol grado HPLC

La fase móvil consistió en A: agua acidulada con ácido fórmico al 0,1% y B: Metanol grado HPLC. El flujo se mantuvo en 1 mL/ min y el volumen de inyección fue de 20 μL . La identificación se realizó por comparación de los tiempos de retención de un estándar puro que fue de 4,71 min.

El contenido de ácido rosmarínico y ácido carnósico se determinó según el protocolo modificado de Martínez et al. (2013). El detector fue ajustado a 265 nm. La fase móvil se programó como un gradiente lineal desde 95% A (agua 840 mL, 150 mL de acetonitrilo y 8,5 mL de ácido acético) y 5% B (metanol) hasta 100% B en 40 minutos con un flujo de 0,8

mL/ min y un volumen de inyección de 20 μ L. La identificación se realizó por comparación de los tiempos de retención de un estándar puro que fue de 24,12 min.

Luego de la cuantificación por HPLC, el ácido clorogénico puro (Sigma-Aldrich) fue evaluado por medio de la técnica del agar envenenado descrita anteriormente, a 500 ppm con el fin de evaluar su influencia en la actividad biológica de la fracción.

- **Experimentos de RMN Resonancia magnética nuclear del compuesto precipitado del compuesto precipitado (F2-10p)**

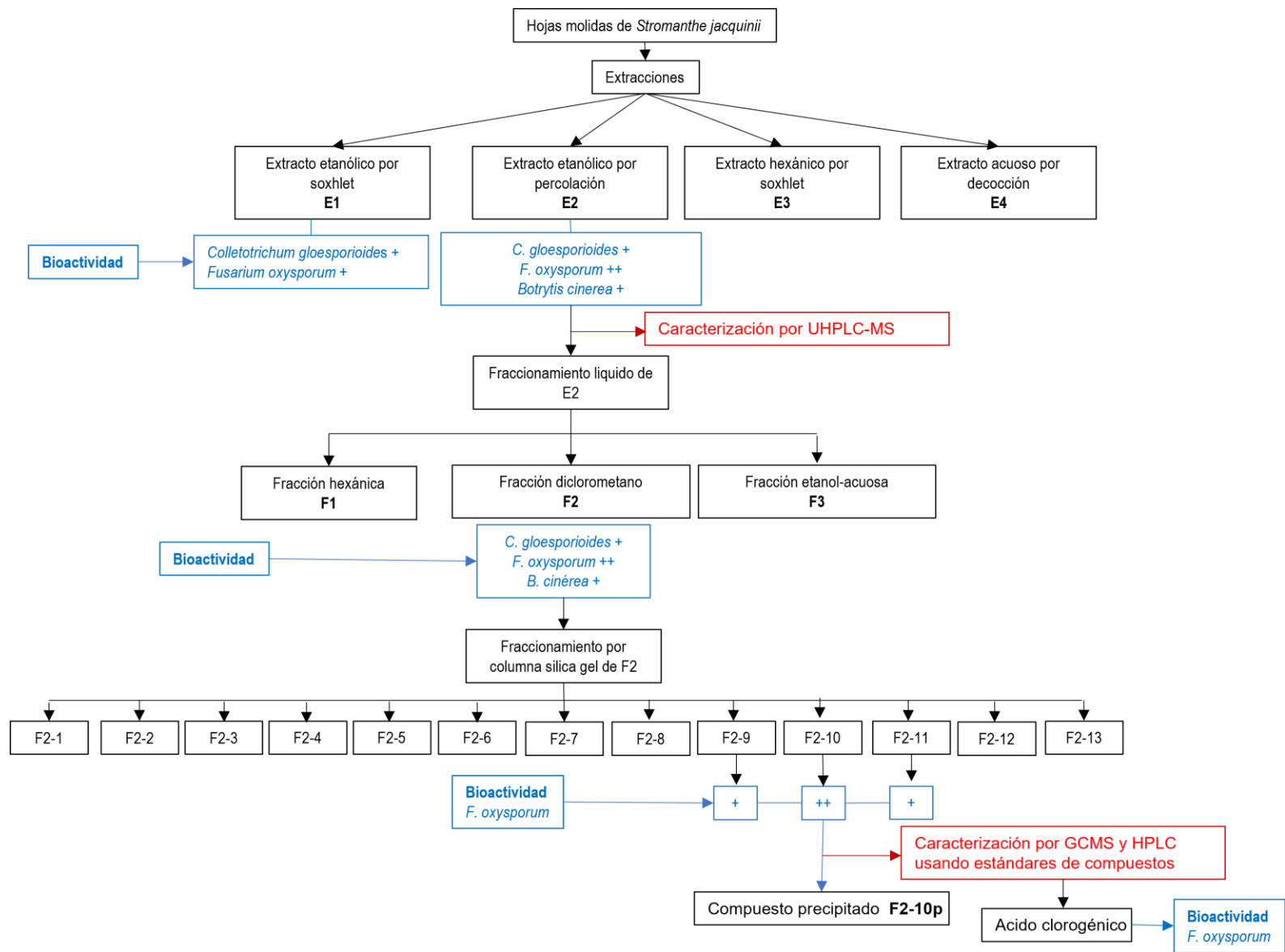
Se aisló un compuesto de la fracción más activa por precipitación (F2-10p), para el cual se corrieron experimentos ^1H , ^{13}C y DEPT135 en cloroformo y metanol deuterado utilizando el software del fabricante. Se usó un espectrómetro Bruker Avance DPX-300 MHz. Los desplazamientos químicos en los espectros fueron registrados en partes por millón (ppm) sobre la escala δ , y las constantes de acoplamiento (J) se expresaron en Hz.

1.4 Resultados

1.4.1 Extracción y fraccionamiento biodirigido de *S. jacquinii*

De los 4 extractos resultantes (E1, E2, E3 y E4), E2 fue el que presentó mejor actividad biológica, Por lo que se siguió con el fraccionamiento biodirigido como se ilustra en la (Figura 9-1). Las fracciones más promisorias en los bioensayos fueron fraccionadas subsecuentemente y caracterizadas por los métodos descritos en la metodología.

Figura 9-1: Extracción y fraccionamiento biodirigido de *S. jacquinii*.



1.4.2 Actividad biológica

1.4.2.1 Actividad antifúngica

En la Tabla 5-1, se puede ver que el extracto etanólico E2 fue el único que presentó actividad antifúngica. En particular, hubo diferencia significativa en el radio de crecimiento de *F. oxysporum* y *C. gloeosporioides*, tratados con el extracto E2 comparados con el control. Además, E2 presentó mayor porcentaje de ICM para *B. cinerea* comparado con los otros hongos evaluados.

Tabla 5-1: Inhibición del crecimiento micelial y radio de crecimiento de *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *B. cinerea* sobre extractos obtenidos de *S. jacquinii* a 4000 ppm.

Extracto	<i>Botrytis cinerea</i>		<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	
	ICM (%)	Radio de crecimiento (mm)	ICM (%)	Radio de crecimiento (mm)	ICM (%)	Radio de crecimiento (mm)
E1	-	-	-	-	-	-
E2	13,9 ± 15,2	35,7 ± 6,3 ^{ab}	9,2 ± 1,3	36,7 ± 0,5 ^b	9,2 ± 3,6	31,8 ± 1,2 ^b
E3	-	-	-	-	-	-
E4	-	-	-	-	-	-
Control negativo	-	41,5 ± 1,0 ^a	-	40,4 ± 1,2 ^a	-	35,0 ± 0,4 ^a

"-": no hubo actividad antifúngica. Letras iguales en la misma columna significa que no hay diferencia significativa.

En la Tabla 6-1 están consignados los resultados de la evaluación antifúngica de las fracciones obtenidas del fraccionamiento líquido de E2. Se puede observar que las cepas de hongos tratadas con la fracción F2 tuvieron un radio de crecimiento significativamente menor comparados con el control. La fracción F2 presentó un mayor porcentaje de ICM para *F. oxysporum*. Es de resaltar que los porcentajes de inhibición F2 fueron mayores que los de E2 para todos los hongos evaluados.

Tabla 6-1: Inhibición del crecimiento micelial y radio de crecimiento de *F. oxysporum*, *C. gloeosporioides*, *B. cinerea* sobre fracciones obtenidas del extracto E2 de *S. jacquinii* a 4000 ppm

Fracción	<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		<i>Botrytis cinerea</i>	
	ICM (%)	Radio de crecimiento (mm)	ICM (%)	Radio de crecimiento (mm)	ICM (%)	Radio de crecimiento (mm)
F1	-	-	-	-	-	-
F2	32,1 ± 0,2	27,5 ± 0,1 ^c	30,5 ± 3,3	24,3 ± 1,2 ^c	29,9 ± 2,3	29,1 ± 1,0 ^b
F3	-	-	-	-	-	-
Control negativo	-	40,4 ± 1,2 ^a	-	35,0 ± 0,4 ^a	-	41,5 ± 1,0 ^a

"-": no hubo actividad antifúngica. Letras iguales en la misma columna significa que no hay diferencia significativa.

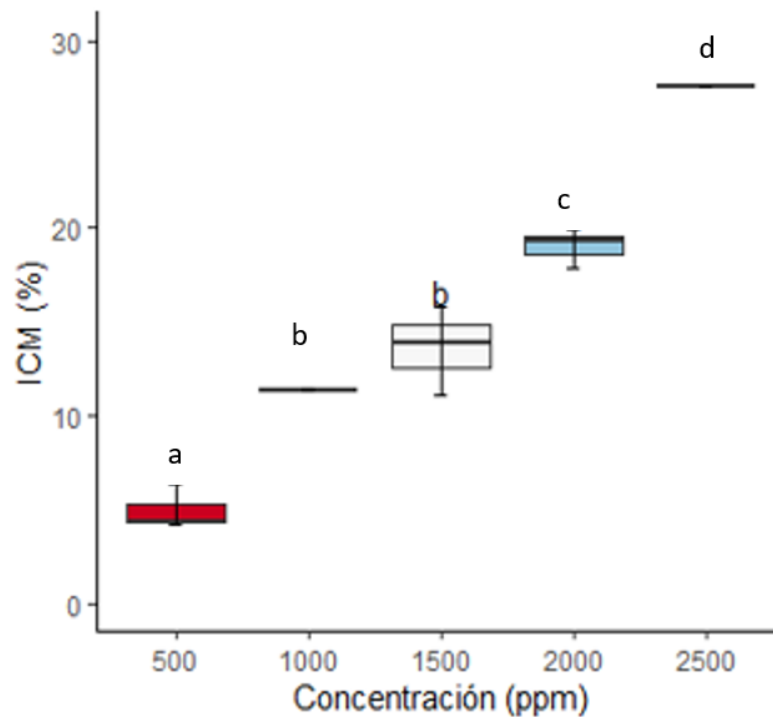
En la Tabla 7-1 se presentan los resultados de la actividad biológica de F2 a concentraciones entre 500 y 2500 ppm. Es evidente que la fracción F2 presentó un mejor potencial antifúngico frente *F. oxysporum* comparado con los otros hongos evaluados. En la Figura 10-1 se presenta la actividad antifúngica de F2 frente a *F. oxysporum*.

Tabla 7-1: Inhibición del crecimiento micelial de la fracción soluble en diclorometano (F2) obtenida de *S. jacquinii* a diferentes concentraciones.

Concentración (ppm)	ICM (%)					
	<i>Fusarium oxysporum</i>		<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>		<i>Botrytis cinerea</i>	
500	4,9	± 1,2 ^d	9,1	± 5,5 ^a	3,3	± 1,4 ^a
1000	11,3	± 0,1 ^c	4,4	± 0,5 ^a	4,3	± 2,0 ^a
1500	13,6	± 2,3 ^c	5,8	± 1,8 ^a	5,0	± 0,5 ^a
2000	19,0	± 1,1 ^b	8,9	± 1,4 ^a	7,6	± 8,5 ^a
2500	27,6	± 0,0 ^a	11,4	± 0,7 ^a	7,5	± 2,9 ^a

Letras iguales en la misma columna significa que no hay diferencia significativa.

Figura 10-1: Actividad antifúngica de F2 frente a *F. oxysporum*.



1.4.2.2 Actividad antibacteriana

En la Tabla 8-1 están reportados los resultados del extracto etanólico frente a las bacterias del estudio. Se observa que el extracto etanólico E2 presentó inhibición frente a *Salmonella* sp. y *S. aureus*, en cambio E1 solo fue activa sobre *Salmonella* sp. Los extractos hexánico E3 y acuoso E4 no presentaron efecto en ninguna de las bacterias evaluadas. En la evaluación frente a *Salmonella* sp, no hubo diferencia significativa entre los extractos etanólicos obtenidos por diferentes técnicas de extracción.

Tabla 8-1: Actividad antibacteriana de extractos *S. jacquinii* al 10% p/v frente a bacterias.

Extracto	Halo de inhibición (mm)				
	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>
E1	9,6 ± 1,5 ^b	-	-	-	-
E2	8,1 ± 1,0 ^b	7,7 ± 1,0 ^a	-	-	-
E3	-	-	-	-	-
E4	-	-	-	-	-
Control positivo	24,6 ± 1,3 ^a	22,0 ± 0,9 ^b	N.A	N.A	N.A

"-": no hubo actividad antifúngica. "N.A": No aplica. Letras iguales en la misma columna significa que no hay diferencia significativa

En el caso de las bacterias, los resultados de inhibición para las fracciones F1, F2 y F3 están consignados en la Tabla 9-1. Se puede notar que la fracción F2 fue la que presentó mejor potencial antibacteriano. Por otra parte, las fracciones derivadas F1 y F3, no presentaron actividad en las bacterias en ninguna de las bacterias evaluadas.

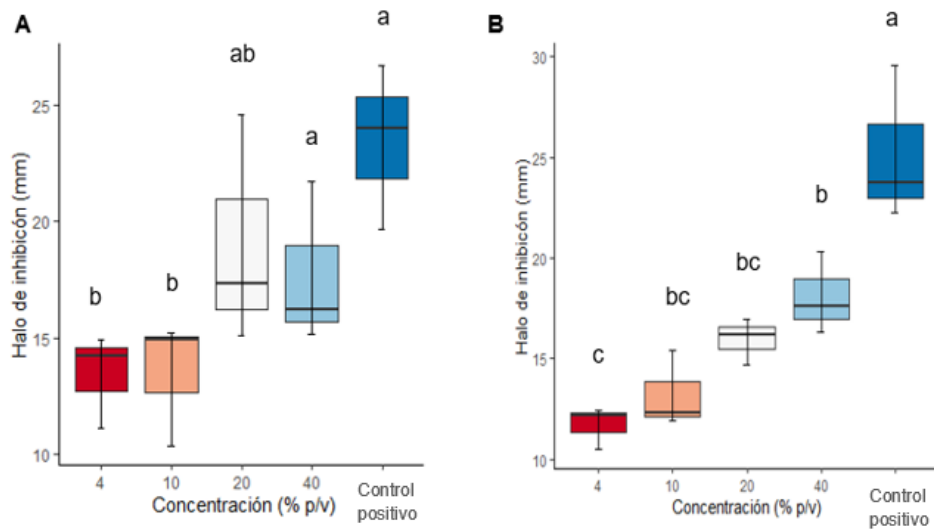
Tabla 9-1: Actividad antibacteriana de fracciones de E2 obtenidas de *S. jacquinii* al 10% p/v frente a bacterias.

Extracto	Halo de inhibición (mm)				
	<i>Salmonella</i> sp.	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>
F1	-	-	-	-	-
F2	17,7 ± 2,9 ^b	16,0 ± 4,9 ^a	8,8 ± 6,8 ^b	-	-
F3					
Control positivo	24,6 ± 1,3 ^a	22,0 ± 0,9 ^b	22,2 ± 1,8 ^a	N.A	N.A

"-": no hubo actividad antifúngica. "N.A": No aplica. Letras iguales en la misma columna significa que no hay diferencia significativa

Luego, F2 fue evaluada a diferentes concentraciones y los resultados se pueden apreciar en la Figura 11-1.

Figura 11-1: Actividad antibacteriana de la fracción F2 frente a A) *S. aureus* B) *L. monocytogenes*.

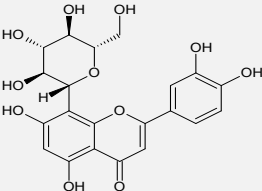
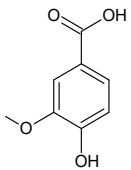
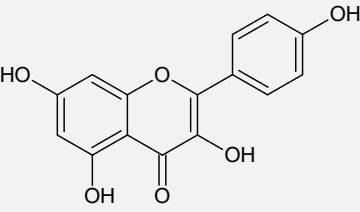


Para el caso de *L. monocytogenes*, el máximo halo de inhibición fue de 18,1 mm a una concentración de 40 %p/v. Los halos de inhibición de la fracción F2 (a diferentes concentraciones) sobre *S. aureus* y *L. monocytogenes* no fueron mayores en comparación con los del control positivo (gentamicina). En el caso de *Salmonella* sp. los resultados iniciales no fueron reproducibles.

1.4.3 Caracterización fitoquímica del extracto etanólico E2 y las fracciones derivadas

Debido a que el extracto etanólico E2 presentó un mayor potencial antimicrobiano en comparación con los demás extractos (E1, E3 y E4), se realizó su caracterización química preliminar. En la Tabla 10-1 se proponen los compuestos mayoritarios detectados mediante UHPLC-MS/MS.

Tabla 10-1: Compuestos propuestos para el extracto etanólico detectados mediante UHPLC-MS/MS.

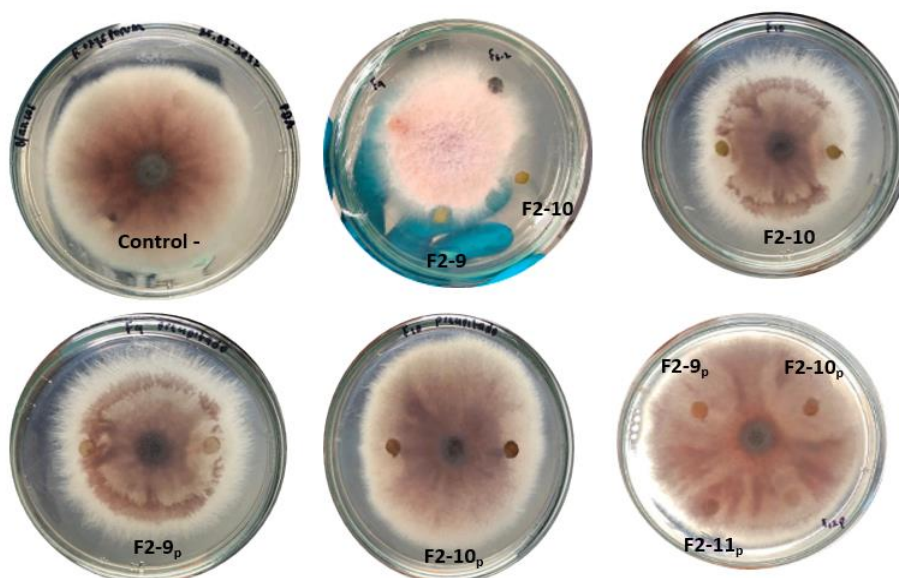
Compuesto	Fragmento principal (m/z)	Tiempo de retención
<p>Orientina</p> 	447 (999)	17.23
<p>Ácido vanílico</p> 	165(217), 167(999)	21.28
<p>Kaempferol</p> 	287(999)	14.33

Adicionalmente, por medio de las comparaciones de los espectros de masa y las bases de datos sugieren la presencia de flavonoides (Biflavonoides, flavona, flavonol, catequina y Flavona C glicósido), alcaloides, ácidos hidroxicinámicos, ácidos grasos, cumarinas, terpenos (Monoterpenos, diterpenos y triterpenos), esteroides, taninos y compuestos fenólicos.

Luego del fraccionamiento inicial por columna cromatográfica de la fracción F2, se obtuvieron 13 fracciones finales de polaridad creciente (rotuladas como F2-1 a F2-13, como se observa en la Figura 9-1). Estas fracciones fueron evaluadas frente a *F. oxysporum* por bioautografía directa, debido a que la fracción F2 presentó mayor porcentaje de inhibición frente a esta cepa en comparación con los otros hongos evaluados (Tabla 7-1).

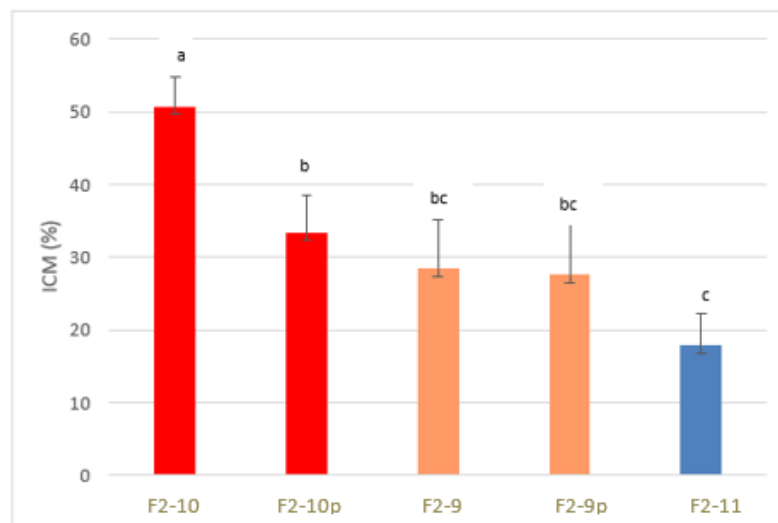
Las fracciones F2-9, F2-10 y F2-11 mostraron mayor inhibición del crecimiento micelial. Adicionalmente, cada una de las fracciones presentaron precipitados F2-9_p, F2-10_p y F2-11_p, respectivamente, los cuales se evaluaron como se muestra en la Figura 12-1. De tal manera, se observó afectación del crecimiento del micelio con F2-9_p y F2-10_p.

Figura 12-1: Ensayo de bioautografía directa sobre *F. oxysporum*, para las fracciones derivadas de F2: F2-9, F2-10 y F2-11 y sus respectivos precipitados (F2-9_p, F2-10_p y F2-11_p).



Se confirmó la actividad microbiana de las fracciones F2-9, F2-10 y F2-11 y sus respectivos precipitados por medio del método de agar envenenado a 500 ppm. En la Figura 13-1 se puede observar que la fracción con mayor potencial antifúngico frente a *F. oxysporum* fue la fracción F2-10, con un porcentaje de ICM del 50,6 %. Por su parte, la inhibición del precipitado F2-10p fue significativamente menor con respecto a F2-10. Además, no hubo diferencia significativa entre la fracción F2-9 y su precipitado F2-9p.

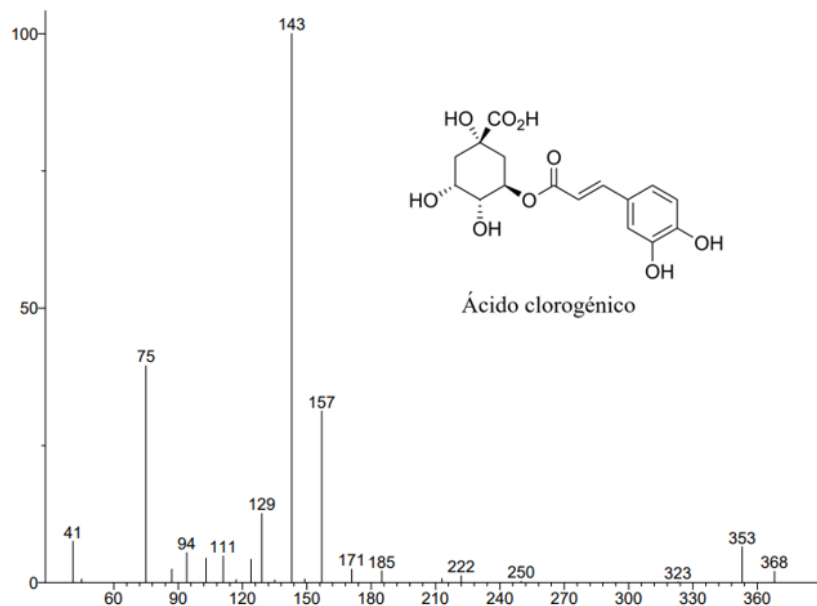
Figura 13-1: Inhibición del crecimiento micelial de *F. oxysporum* de diferentes fracciones derivadas de F2 y sus precipitados respectivos obtenidos de *S. jacquinii* a 500 ppm.



1.4.4 Caracterización fitoquímica de la fracción más activa: F2-10

Debido a que a la fracción F2-10 presentó el mejor potencial antifúngico frente a *F. oxysporum* se realizó su caracterización química preliminar por medio GC-MS, se detectó ácido clorogénico con un tiempo de retención de 46.77 minutos bajo las condiciones descritas en la metodología. (Figura 14-1). Adicionalmente, las comparaciones de los espectros de masa y las bases de datos sugieren la presencia de flavonoides y otros compuestos fenólicos por sus patrones de fragmentación.

Figura 14-1: Espectro de masa del ácido clorogénico.



Para corroborar y cuantificar la presencia de ácido clorogénico en la fracción F2-10, se usó el patrón de dicho compuesto por medio de HPLC comparativo. Además, debido a que la caracterización por medio de GC-MS reveló la presencia de otros compuestos fenólicos, los cuales por sus espectros de masas se caracterizaron presuntamente como ácido carnósico y ácido rosmarínico, se siguió el mismo método por HPLC. Como se observa en la Figura 15-1 y Figura 16-1, efectivamente se encontró la presencia de ácido clorogénico (88 mg / 100g de la fracción F2-10), ácido rosmarínico (53,27 mg/ 100g de F2-10) y ácido carnósico (22,21 mg/ 100g de F2-10).

En la evaluación biológica del ácido clorogénico puro sobre la cepa de *F. oxysporum*, se evidenció una inhibición del crecimiento radial del 47,42% a 500 ppm, confirmando que este es uno de los compuestos responsables por la actividad biológica de la fracción F2-10.

Por parte de los experimentos de RMN para el compuesto precipitado F2-10p, los resultados no fueron concluyentes debido a la turbidez de la muestra, evidenciando poca solubilidad en cloroformo y metanol deuterado. El núcleo de este precipitado se atribuye a un compuesto fenólico tentativamente.

Figura 15-1: Detección y cuantificación de ácido clorogénico en F2-10 por medio de HPLC.

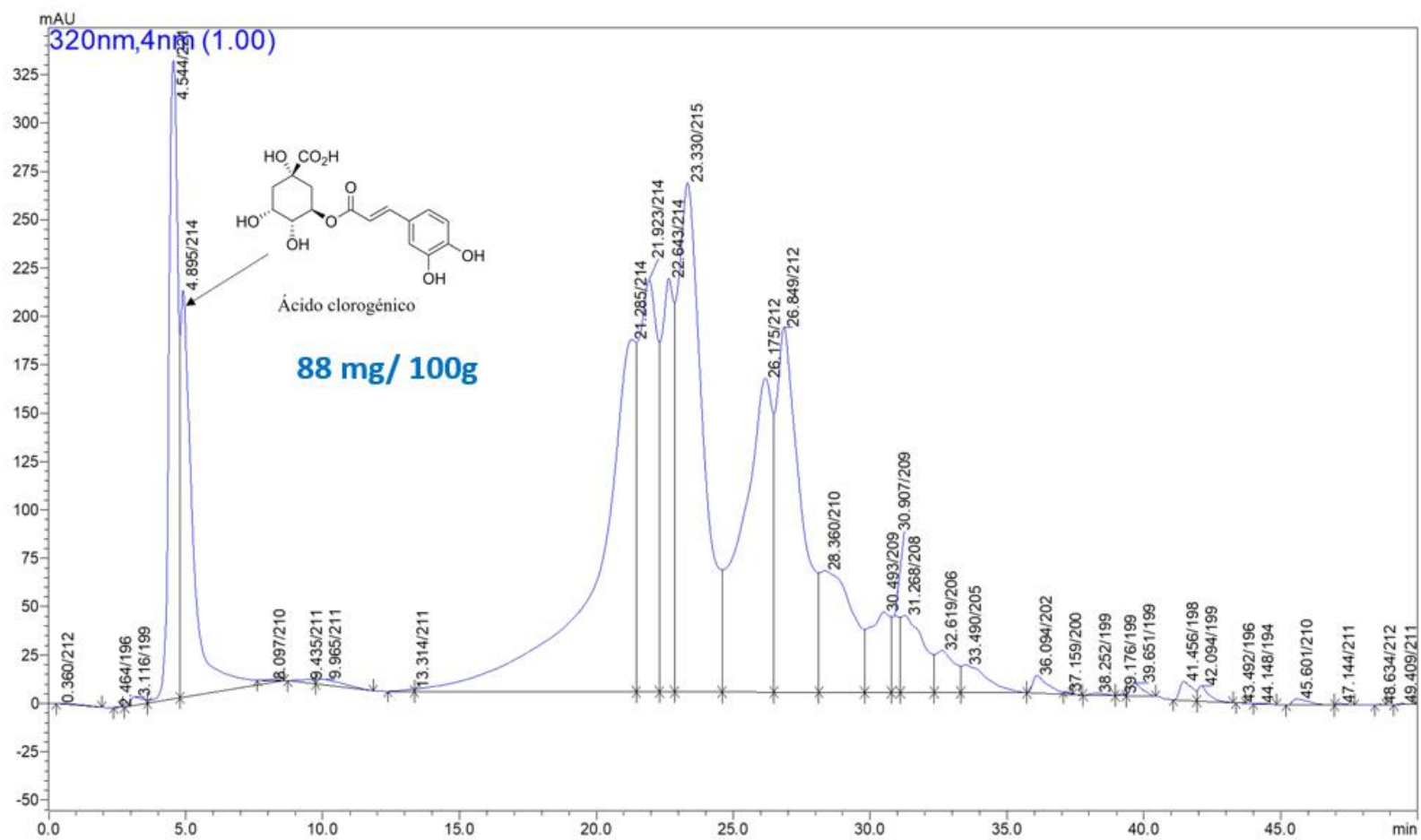
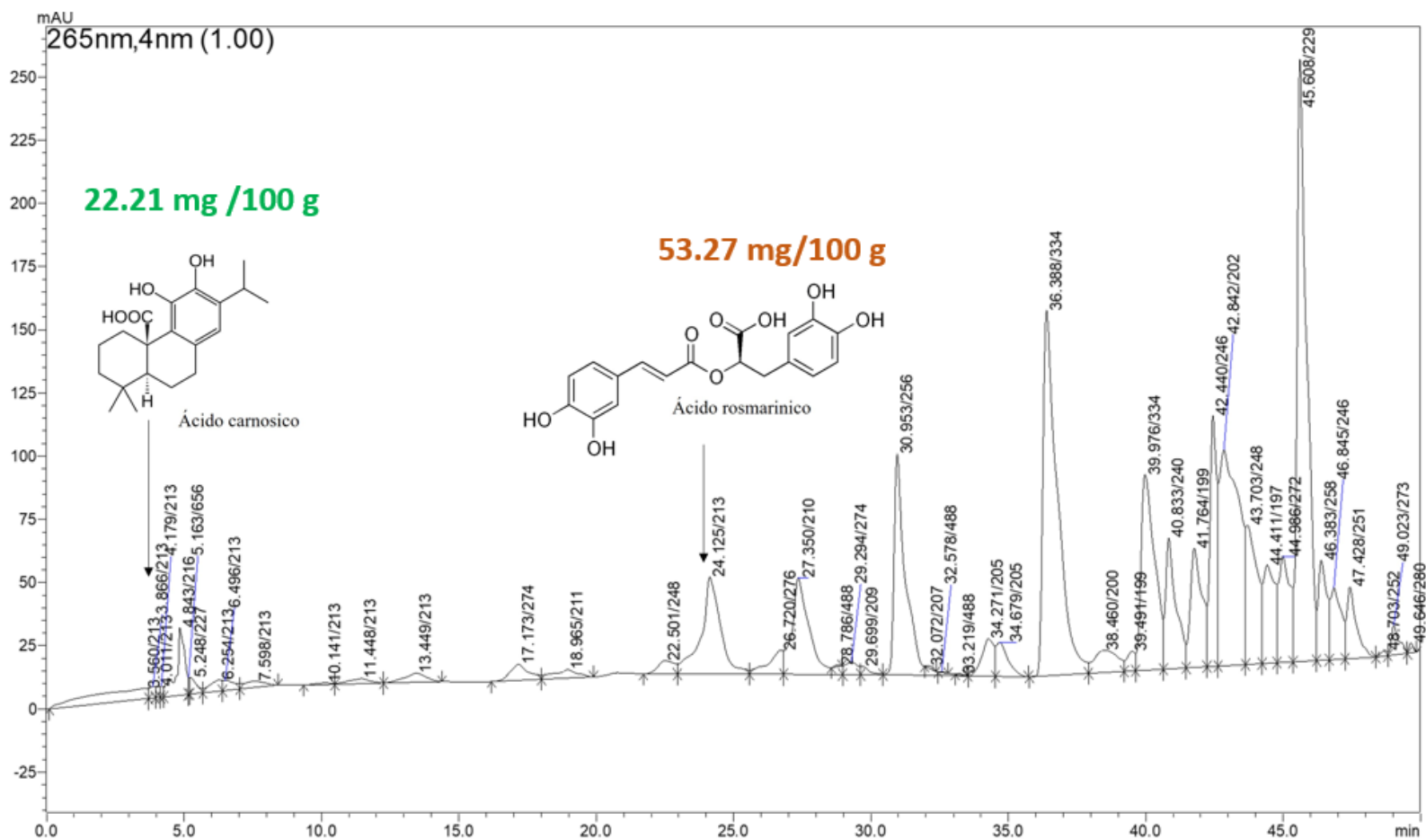


Figura 16-1: Detección y cuantificación de ácido carnósico y ácido rosmarínico en F2-10 por medio de HPLC.



1.5 Discusión

Las hojas de *S. jacquini* presentan actividad antimicrobiana frente a ciertas bacterias, siendo estas, *Salmonella* sp., *S. aureus* y *L. monocytogenes*, asociadas con intoxicaciones alimentarias y algunos hongos fitopatógenos, *F. oxysporum*, *B. cinerea* y *C. gloeosporioides*, como se pudo corroborar en este trabajo (Figura 10-1, Figura 11-1y Tabla 5-1 a Tabla 9-1) lo cual podría validar las propiedades conservantes que se le atribuyen a sus hojas a nivel tradicional. Este resultado concuerda con otros reportes realizados sobre varias especies del orden Zingiberales que se emplean para envolver alimentos (Tabla 11-1), algunas de las cuales tienen reportada actividad antimicrobiana. Se destacan las especies de la familia Marantaceae, usadas por comunidades africanas tales como: *Thaumatococcus daniellii*(Klutse et al., 2021) y *Marantochloa cuspidata* (Igboasoigi; C. A. et al., 2015) que presentan bioactividad frente a varias cepas bacterianas. En particular, el extracto etanólico de las hojas de *T. daniellii* mostró actividad frente *S. aureus* ATCC 29213 y el extracto etanólico y hexánico fue efectivo sobre *F. oxysporum* (UKwubile et al., 2017) . Por su parte, el extracto etanólico de las hojas de *M. cuspidata* manifestó potencial antibacteriano frente a *S. aureus*, *E. coli* y *Salmonella typhi* (Igboasoigi; C. A. et al., 2015). Adicionalmente, las hojas de *Phrynium pubinerve* que son usadas por grupos étnicos en el suroeste de China, presentan actividad antibacteriana frente a *E. coli* (Li et al., 2015b) Cabe resaltar que la mayoría de las especies registradas en la Tabla 11-1 son de origen asiático o africano, salvo *Canna indica* la cual es nativa de América del sur, por consiguiente, hasta la fecha los resultados de este trabajo son el segundo reporte positivo de actividad antimicrobiana sobre una especie originaria de América, del orden Zingiberales y que además es usada para envolver alimentos.

Tabla 11-1: Actividad antimicrobiana de especies del orden Zingiberales usadas como empaque de alimentos.

Especie	Familia	Usos de las hojas	Actividad antimicrobiana
<i>Thaumatococcus daniellii</i>	Marantaceae	Empacar alimentos no procesados como carne, nueces de cola; semielaborados, por ejemplo, algarrobas fermentadas y procesadas; alimentos cocidos como arroz, frijoles, harina de maíz y ñame cocidos en el Suroeste de Nigeria principalmente, aunque también en partes de los Estados Unidos y América del Sur (A. B. Ojekale et al., 2010a)	<i>S. aureus</i> , <i>F. oxysporum</i> y <i>Salmonella sp.</i> (Ukwubile, 2017)
<i>Marantochloa cuspidata</i>	Marantaceae	Envolver alimentos como la nuez de cola, el moin-moin (alimento de maíz), cangrejos de río, ñame machacado en las comunidades africanas (Udo et al., 2020).	<i>S. aureus</i> , <i>F. oxysporum</i> y <i>Salmonella sp.</i> (Igboasoiyi; C. A. et al., 2015).
<i>Phrynium pubinerve</i>	Marantaceae	Empacar arroz glutinoso para hacer Zongzi (arroz con leche tradicional chino) en el sur de China. Empacar verduras y carnes en el mercado y comidas tradicionales en China como el Baoshao, el cual contiene carne con varias especias (Li et al., 2015b).	<i>E. coli</i> (Li et al., 2015b).
<i>Canna indica</i>	Cannaceae	Envoltura de comidas típicas de Cajamarca, Perú. Envolver queso en Ecuador (Albuja Landi et al., 2020) y tamales en Colombia (Díaz Piedrahita, 2012).	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> y <i>Salmonella sp.</i> (Ramírez Valiente & Salazar Miguel, 2022).
<i>Musa acuminata</i>	Musaceae	Empaque para la conservación de alimentos en Benín (Zannou et al., 2016).	<i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> (Zannou et al., 2016)
<i>Musa paradisiaca</i>	Musaceae	En Colombia se usa para envolver carne, hortalizas, frutas, pescado, plátano y comidas típicas como: bollo de maíz molido, chicha de ojo y tamales. En el Valle del Cauca, por ejemplo, se usan para envolver las masas de maíz o de banano y las hojas secas se usan para envolver la panela o pastillas de chocolate. En el Chocó los indígenas las usan para recubrir recipientes en los que se almacena el maíz (Díaz Piedrahita, 2012).	<i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> (Karuppiah & Mustaffa, 2013).
<i>Musa sapientum</i>			
<i>Ravenala madagascariensis</i>	Strelitziaceae	Material de empaque (Onifade et al., 2016)	<i>Bacillus sp.</i> y <i>E. coli</i> (Nandaniya, Shah, Rajput, Dhru, et al., 2019).

Los extractos etanólicos E1 y E2 obtenidos en este trabajo bajo diferentes técnicas de extracción (Figura 9-1) presentaron diferencias en la inhibición del crecimiento de los microorganismos. El extracto obtenido mediante percolación E2 tuvo mayor potencial antimicrobiano comparado con el extracto obtenido mediante el método Soxhlet E1, debido a que E2 presentó actividad sobre todos los hongos evaluados (Tabla 5-1) y frente a las bacterias *S. aureus* y *Salmonella* sp. (Tabla 8-1), en tanto que E1 solo presentó potencial antibacteriano sobre *Salmonella* sp. En concordancia, en un estudio realizado sobre la planta *Hamelia patens* (Rubiaceae), se encontró que el extracto etanólico obtenido por percolación (E2) presentó una menor concentración mínima bactericida frente a *E. coli* y *S. aureus* comparado con el obtenido por Soxhlet (E1), lo que significa un mayor potencial antimicrobiano del extracto obtenido por percolación (Paz et al., 2018). Siendo ambos extractos preparados con etanol, los cambios en la actividad biológica entre E1 y E2 podrían explicarse en relación con la temperatura. Aun cuando la temperatura empleada en el método Soxhlet puede aumentar la tasa de extracción debido a que favorece la solubilidad, las altas temperaturas empleadas en esta técnica de extracción pueden afectar la estabilidad de los componentes biológicamente activos (Che Sulaiman et al., 2017).

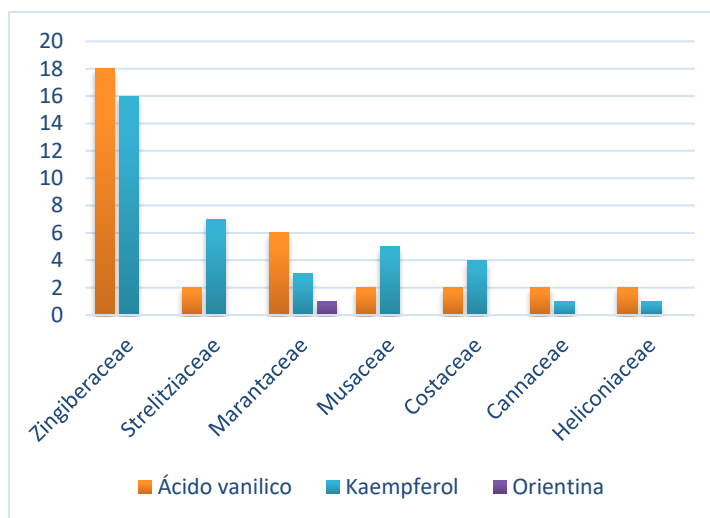
Luego de identificar la forma óptima de extracción de las hojas de *S. jacquinii*, que se vio reflejado en los resultados positivos de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico E2, se pudo observar que dicha actividad concuerda con la obtenida para otras especies de la misma familia, como es el caso del extracto etanólico de *Marantochloa cuspidata*, que a una concentración de 25 mg/mL presentó un halo de inhibición frente a *S. aureus* y *Salmonella typhi* de 1,2 mm para ambas bacterias (Igboasoiki et al., 2015), lo cual corresponde a una zona de inhibición menor comparada con la obtenida con E2 (Tabla 8-1), posiblemente por la concentración empleada (100 mg/mL). En otra especie, *T. daniellii*, también hubo actividad antibacteriana, sin embargo, a una concentración del extracto de 10 mg/mL para *S. aureus* y 20 mg/mL para *Salmonella typhi*, se obtuvo la concentración mínima bactericida (Ukwubile, 2017). Probablemente esta diferencia es consecuencia, en primer lugar, de la especie lo cual presentaría variación química y en segundo, de la metodología empleada, en el manejo del material vegetal, debido a que se usaron las hojas de *T. daniellii* en polvo, las cuales son más pequeñas y homogéneas en comparación con las muestras molidas usadas en el presente trabajo. Lo anterior permite una extracción más eficiente debido a que hay un mejor contacto superficial con los solventes de extracción (Azwanida, 2015).

Adicionalmente, así como *S. jacquinii*, se han reportado otras especies de Marantaceae con potencial antifúngico frente a *F. oxysporum*. Es el caso del extracto etanólico de las hojas *T. daniellii* a 100 mg/mL, inhibió completamente el crecimiento del hongo (O. Adeogun et al., 2016b), mientras que con E2 se obtuvo una inhibición del 9,2 % a esa misma concentración. Un factor que pudo incidir en la diferencia del porcentaje inhibición radica en que, para la extracción, se dejaron las hojas de *T. daniellii* en agitación con el etanol durante 72 horas, mientras que las de *S. jacquinii* se dejaron 24 horas en reposo. La eficiencia de la percolación aumenta con la agitación, al aumentar la difusión y la homogeneización del solvente en toda la muestra (Rasul, 2018). Otra de las especies reportadas por su actividad antifúngica sobre *F. oxysporum* fue *Megaphrynium macrostachyum*, con una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 50 mg/mL (O. O. Adeogun et al., 2017). Es relevante que en las especies de la familia Marantaceae mencionadas anteriormente (*M. cuspidata*, *T. daniellii* y *M. macrostachyum*), con actividad antimicrobiana se ha documentado tipos de compuestos que también están presentes en *S. jacquinii*, dentro del grupo de los alcaloides, taninos y flavonoides, salvo en *M. cuspidata* que no se han reportado flavonoides (Tabla 2-1). Adicionalmente miembros de otras familias del orden Zingiberales, presentaron halos de inhibición frente a las mismas bacterias: *Zingiber officinale* (12,6 mm a 100 mg/mL), *Musa paradisiaca* (18 mm a 100 mg/mL) y *Hellenia speciosa* (33 mm a 20 mg/mL) inhibieron al crecimiento de *S. aureus* y *Z. officinale* inhibió a *Salmonella typhi* (11 mm a 100 mg/mL) (Gideon et al., 2016; Gull et al., 2012; Ramya, 2022; Shaikh et al., 2022; Singh et al., 2016), en comparación con *S. jacquinii* que presentó halos de inhibición de 7,7 mm y 8,1 mm para *S. aureus* y *Salmonella* sp. respectivamente, a una concentración de 100 mg/mL. Cabe anotar que, en las especies mencionadas, del orden Zingiberales, durante la extracción se empleó agitación ocasionalmente, lo cual pudo mejorar la eficiencia.

En cuanto a la actividad antimicrobiana del extracto etanólico E2, se sugiere que la presencia de ácidos fenólicos como el ácido vanílico y de flavonoides tales como kaempferol y orientina, detectados por UHPLC-MS/MS, inciden en su actividad (Tabla 10-1). Estos tres compuestos se propusieron basados en los espectros de masas con un fuerte pico molecular que corresponde en los tres espectros a los iones moleculares desprotonados $[M-H]^-$ con m/z de 447, 167 y 287 para orientina, ácido vanílico y kaempferol, respectivamente. Adicionalmente, la identificación de ácido vanílico, kaempferol y orientina en el extracto E2, fue soportado por reportes de estos compuestos

en el género *Stromanthe* y en otros miembros del orden Zingiberales. De tal forma en *Stromanthe amabilis* se encontró el ácido vanílico y en *Stromanthe sanguinea* la orientina respectivamente (Williams & Harborne, 1977). En mayor rango taxonómico, se reportó el ácido vanílico y el kaempferol en todas las familias del orden Zingiberales, mientras que orientina parece estar restringida solo a la familia Marantaceae (Figura 17-1). Por otra parte, un estudio sobre los flavonoides presentes en las hojas de 81 especies de Zingiberales mostró que la familia Marantaceae es una de las más ricas en estos constituyentes (Williams & Harborne, 1977).

Figura 17-1: Número de especies en cada familia del orden Zingiberales en las que se ha reportado presencia de ácido vanílico, kaempferol y orientina.



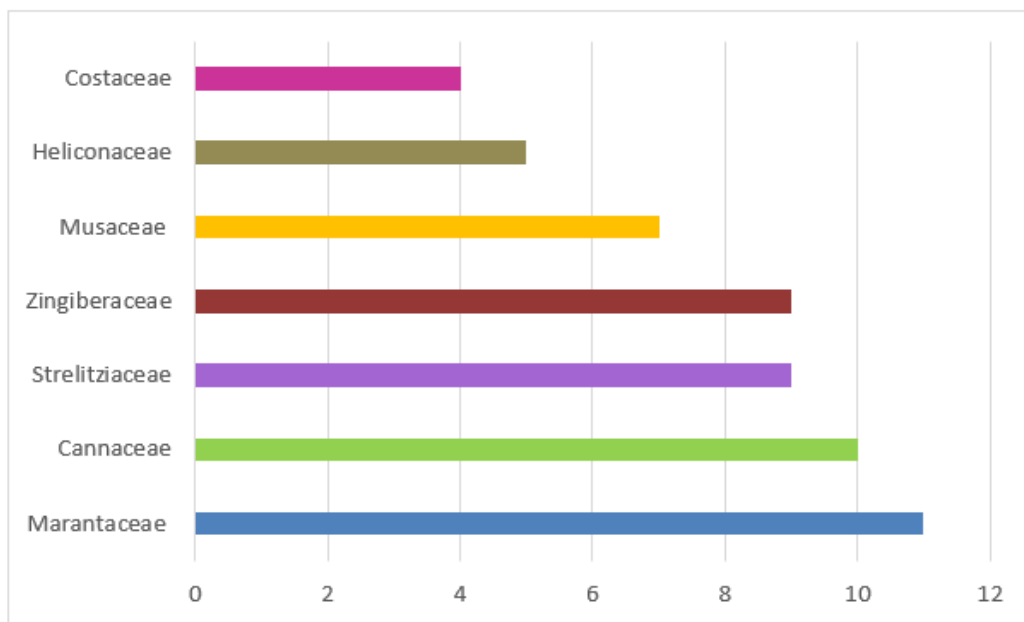
Fuente: (Alonso-Castro et al., 2016; BATE-SMITH, 1968; Lorençone et al., 2021; Merh et al., 1986; Williams & Harborne, 1977).

Elaboración propia.

A su vez en la investigación publicada por Merh y colaboradores, en la cual se enfocaron en compuestos fenólicos presentes en las hojas de 39 especies del orden Zingiberales, se encontró que, de los diferentes ácidos fenólicos identificados, el ácido vanílico era el que estaba presente en la mayor cantidad de especies estudiadas. Destacando, además que este ácido fenólico fue identificado en todas las plantas contempladas de la familia Marantaceae (7 especies) (Merh et al., 1986). Además, es razonable la presencia del ácido vanílico en *S. jacquinii* debido a que dentro del orden Zingiberales, la familia Marantaceae corresponde a una de las familias con mayor cantidad de ácidos fenólicos como se puede observar en la Figura 18-2. Se han detectado 11 tipos de ácidos fenólicos en la familia Marantaceae. Además, en la familia Cannaceae se han detectado 10 ácidos fenólicos, lo

cual es importante debido a que las familias Marantaceae y Cannaceae se consideran estrechamente relacionadas (Abdullah et al., 2008).

Figura 18-2: Número de ácidos fenólicos en cada familia del orden Zingiberales.



Los ácidos fenólicos considerados fueron: ácido vanílico, ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido protocatecuico, ácido siríngico, ácido ferúlico, ácido gentísico, ácido sinápico, ácido p-cumárico, ácido p-Hidroxibenzoico, ácido rosmarínico.

Fuente: (Abdullah et al., 2008; Alonso-Castro et al., 2016; BATE-SMITH, 1968; Lorençone et al., 2021; Merh et al., 1986; Rob et al., 2020; Simmonds et al., 2019).

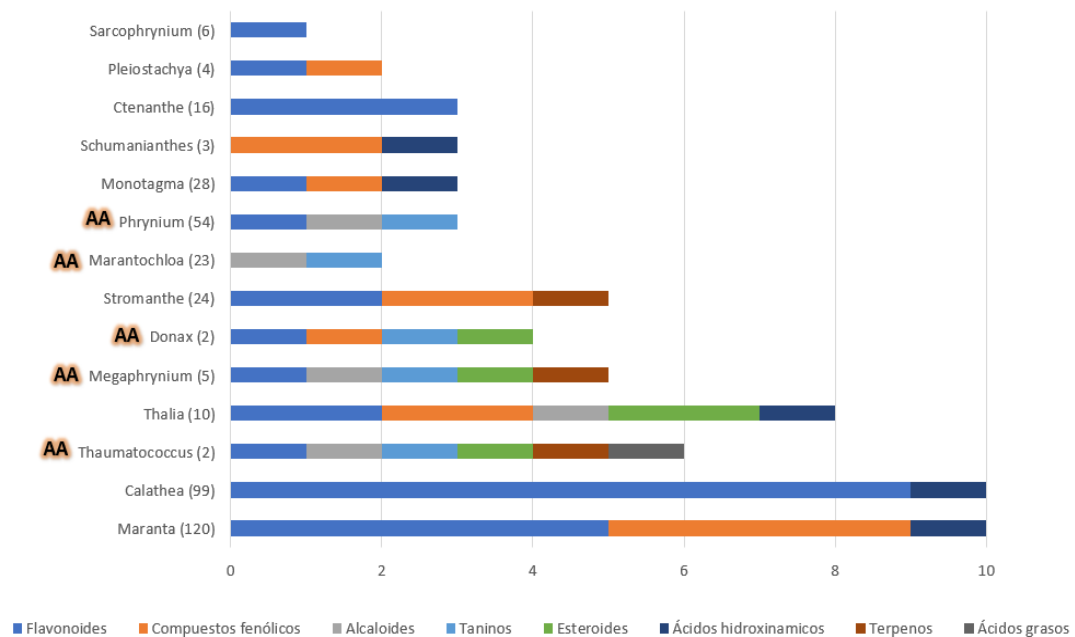
Elaboración propia.

De acuerdo con el argumento planteado en cuanto a la incidencia de kaempferol, la orientina y el ácido vanílico en la actividad de el extracto E2, se encontraron reportes de actividad antimicrobiana de estos compuestos sobre algunas de las cepas para las cuales el extracto etanólico fue activo. Por ejemplo, se ha reportado que el ácido vanílico presenta actividad frente a *S. aureus*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (ST), *L. monocytogenes* y *C. gloeosporioides*, la orientina frente a *S. aureus* como se reporta en la Tabla 1-1. Además, el kaempferol presentó actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* (M. Calderon-Montano et al., 2011), *S. typhimurium* (LianTao et al., 2017), *F. oxysporum* (Zhong et al., 2022), *L. monocytogenes* (Vallejo et al., 2021), *C. gloeosporioides* (Jiang et al., 2021). En general, la presencia de fenoles se considera potencialmente tóxica para el

crecimiento y el desarrollo de microorganismos patógenos (Daud et al., 2011; Albuquerque et al., 2021).

En la Figura 19-1 se puede observar que los alcaloides, ácidos hidroxicinámicos, ácidos grasos, terpenos, esteroides, quinonas, flavonoides, taninos y compuestos fenólicos han sido estudiados en la familia Marantaceae y fueron detectados en *S. jacquinii*. Los flavonoides están distribuidos en casi toda la familia, a excepción de algunos géneros y otros compuestos fenólicos están representados en la mitad de los géneros presentados. Es importante considerar que en *Stromanthe* solo se han detectado flavonoides, terpenos y compuestos fenólicos. Es importante resaltar que solo se han estudiado 3 especies de las 24 en total del género *Stromanthe*.

Figura 19-1: Número de especies de algunos géneros de la familia Marantaceae que presentan los mismos compuestos que *S. jacquinii*.



Los números dentro de paréntesis indican el número de especies. AA: Alguna especie del género fue reportada con actividad antimicrobiana.

Fuente:(A et al., 2022; Abdullah et al., 2008; O. Adeogun et al., 2016b; O. O. Adeogun et al., 2017; Adesegun O Onanuga & Ganiyat K Oloyede, 2022; Badiuzaman et al., 2022; BATE-SMITH, 1968; bin Rahmani et al., 1985; Bolade et al., 2021; da Silva et al., 2000; de Farias Silva et al., 2021; Gideon et al., 2016; Gutierrez-Lugo et al., 2005; Hafiz Ibrahim & Amalina Mohd Zain, 2017; Hamid et al., 2017; Igboasoiiyi et al., 2015; Lagnika et al., 2008; Lorençone et al., 2021; Mohd Daud, 2012; Nandaniya, Shah, Rajput, Shukla, et al., 2019; Nurain et al., 2013; Rahman et al., 2014; Ramya, 2022; Rob et al., 2020; Shaikh et al., 2022; Simmonds et al., 2019; Singh et al., 2016; Solomon & Jacob, 2021; UKwubile et al., 2017; Williams & Harborne, 1977).

Elaboración propia

Es pertinente resaltar que hay poca información acerca de las propiedades antimicrobianas de las hojas de las plantas que pertenecen a la familia Marantaceae, solo existe información acerca de 5 especies de las 396 plantas que pertenecen a esta familia.

En la Tabla 12-1 está reportada la actividad antimicrobiana de los núcleos que se propusieron para el extracto etanólico. Se tuvieron en cuenta los microorganismos en los que se detectó actividad biológica por parte del extracto etanólico (E2). Todos los tipos de compuestos presentan alguna actividad antimicrobiana asociada, resaltando las flavonas, compuestos fenólicos, cumarinas, alcaloides, ácidos grasos, taninos y monoterpenos, con actividad biológica frente a todos los microorganismos contemplados.

Por otra parte, los extractos E3 y E4 no presentaron ninguna actividad biológica sobre los microorganismos evaluados (Tabla 5-1 y Tabla 8-1). Estos resultados son similares a los obtenidos para *Thaumatococcus daniellii* (Marantaceae), que revelan que los extractos hexánico y acuoso no presenta actividad frente *F. oxysporum* como si lo exhibe el extracto etanólico (O. Adeogun et al., 2016a). Asimismo, se reporta que el extracto acuoso no presenta actividad frente a las bacterias *Salmonella* Typhimurium, *E. coli*, *S. aureus* y *B. cereus* (A. B. Ojekale et al., 2010b). Cabe señalar que, para la especie, también conocida como bijao: *Calathea lutea*, se reportó que su extracto acuoso no mostró halo de inhibición frente *S. aureus* y *E. coli* (Apagüño Arévalo & Tamani Guerra, 2020). Lo anterior, se podría relacionar a que generalmente los componentes más activos no son solubles en agua (Cowan, 1999), considerando la escasa actividad observada del extracto acuoso.

De las fracciones obtenidas de la extracción líquido- líquido, aquella de polaridad media F2 fue la que presentó mejor potencial antimicrobiano, en concreto hubo inhibición frente al crecimiento de las bacterias *Salmonella* sp., *S. aureus* y *L. monocytogenes* (Tabla 9-1) y frente a todos los hongos evaluados (Tabla 6-1). Este resultado es similar al obtenido sobre el extracto de diclorometano de las hojas de la planta *Donax grandis* (Marantaceae), con actividad frente *S. aureus* (Mohd Daud, 2012).

Tabla 12-1: Actividad antimicrobiana de los compuestos propuestos para el extracto etanólico de *S. jacquini*.

Compuesto	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Referencia
Biflavonoides	✓	✓			✓	(Moawad et al., 2010; Pistelli & Giorgi, 2012; Tingting et al., 2022)
Flavonas	✓	✓	✓	✓	✓	(Almada-Ruiz et al., 2003; Cotoras et al., 2001; Cushnie & Lamb, 2005b; H. Dong et al., 2022; Galeotti et al., 2007; Steinkellner & Mammerler, 2007; Tingting et al., 2022; Zheng et al., 1996)
Flavonoles	✓	✓			✓	(Dastidar et al., 2004; Faizi & Muhammad, 1999; Galeotti et al., 2007; Khalid et al., 2019; Steinkellner & Mammerler, 2007)
Catequinas	✓		✓			(Chen et al., 2006; Cushnie et al., 2014; Kajjiya et al., 2004)
Flavonas-C-glicósido	✓	✓		✓	✓	(Ali & Dixit, 2012; Boba et al., 2017; E Azzaz & H El-khateeb, 2010; Williams & Harborne, 1977; Xiao et al., 2016; Zhong et al., 2022)
Otros flavonoides	✓	✓		✓	✓	(Pistelli & Giorgi, 2012; Zamuz et al., 2021)
Ácidos hidroxicinámicos	✓		✓	✓	✓	(Aijaz et al., 2022; Morales et al., 2017; Özçelik et al., 2011; Xu et al., 2022)
Ácidos dihidroxibenzoicos	✓	✓	✓	✓		(Ajiboye et al., 2017; Alvarado-Martinez et al., 2020; Aziz et al., 1998; Maisch et al., 2022; Nguyen et al., 2015; Osondu et al., 2022; Rodríguez Vaquero et al., 2007)
Compuestos fenólicos	✓	✓	✓	✓	✓	(Aslam et al., 2009; Daglia, 2012; de Filippis et al., 2019; S. N. Kumar & Nambisan, 2013; Metsämuuronen & Sirén, 2019; Özçelik et al., 2011; Vestergaard & Ingmer, 2019)

Compuesto	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	Referencia
Cumarinas	✓	✓	✓	✓	✓	(Al-Amiery et al., 2017; Daoubi et al., 2004; Deng & Nicholson, 2005; R. Kumar et al., 2012; Ng et al., 1996; Smyth et al., 2009; H. S. Wu et al., 2008; Zamuz et al., 2021)
Alcaloides	✓	✓	✓	✓	✓	(Cantrell et al., 2005; Casciaro et al., 2018; Chandra et al., 2017; Ding et al., 2018; Oliva et al., 2003; Özçelik et al., 2011; Yamanaka et al., 1979; M. L. Yang et al., 2016; Yu et al., 2014; Zhu et al., 2022)
Ácidos grasos	✓	✓	✓	✓	✓	(Kabara, 1984; Kabara et al., 1972; Thibane et al., 2011; Wang & Johnson, 1992; Yenjit et al., 2010)
Esteroides	✓	✓				(Islam et al., 1991; S. S. Kumar et al., 2010; Taleb-Contini et al., 2003)
Taninos	✓	✓	✓	✓	✓	(Buzzini et al., 2008; Chandra et al., 2017; Chung et al., 1998; Ekambaram et al., 2016; Scalbert, 1991)
Monoterpenos	✓	✓	✓	✓	✓	(Garcia et al., 2008; Jiang et al., 2021; Mahizan et al., 2019; Marei et al., 2012; Tsao & Zhou, 2000)
Diterpenos	✓		✓	✓	✓	(Frias et al., 2012; Jiang et al., 2021; Kofujita et al., 2006; Mahizan et al., 2019; Saha et al., 2022)
Triterpenos	✓		✓	✓	✓	(Luo et al., 2021; Ragasa & Cornelio, 2013; Song et al., 2011)

Las fracciones derivadas de F2 luego del fraccionamiento cromatográfico por medio de columna de Sílica gel, F2-9, F2-10 y F2-11, fueron las que presentaron mayor inhibición sobre *F. oxysporum*. Se puede observar en la Figura 12-1 que no hay crecimiento del hongo alrededor de los discos impregnados con las fracciones F2-9 y F2-10. Al corroborar la actividad de las fracciones más activas, por medio del ensayo del agar envenenado, se encuentra congruencia con la evaluación preliminar (Figura 12-1). El porcentaje de inhibición de F2-10 fue significativamente mayor comparado con el precipitado de dicha fracción, posiblemente debido al efecto aditivo o sinérgico de otros compuestos presentes en la fracción.

Al caracterizar la fracción más activa F2-10, se detectó por GC-MS el ácido clorogénico, en el espectro de masas con un ion molecular de 353 unidades de masa atómica. La identidad y cantidad de este compuesto en la fracción activa F2-10 fue confirmado junto con el ácido rosmarínico y ácido carnósico por comparación con los respectivos patrones por HPLC. La presencia de ácido clorogénico y ácido rosmarínico coinciden con los reportes de estos compuestos en otras especies de la familia Marantaceae. Particularmente, en el mismo género de *S. jacquini*, se ha reportado la presencia de ácido clorogénico en *Stromanthe amabilis* (Abdullah et al., 2008). En otros géneros, en las especies como *Maranta depressa* y *Maranta Leuconeura*, donde se han encontrado ambos ácidos fenólicos (Abdullah et al., 2008). También en *Maranta arundinacea* y *Maranta bicolor*, se ha detectado el ácido clorogénico (Merh et al., 1986) y en *Thalia geniculata* se ha encontrado el ácido rosmarínico (Abdullah et al., 2008).

La actividad biológica de la fracción más activa F2-10 puede ser atribuida a varios ácidos fenólicos detectados (Tabla 12-1), en particular se ha reportado actividad para el ácido clorogénico y ácido rosmarínico frente a *F. oxysporum* (Bais et al., 2002; Ling, Zhang, Wang, Mao, Huang, et al., 2013), que fue el microorganismo frente al cual fue evaluada esta fracción, como también el ácido clorogénico y el compuesto precipitado F2-10p. La actividad del ácido clorogénico se demostró en este estudio con la inhibición del crecimiento radial de *F. oxysporum* en un 47,42%. Esto concuerda con lo reportado en cuanto a la inhibición del crecimiento radial para varias cepas de hongos fitopatógenos, dentro de las cuales se estudió *F. oxysporum* (G. Martínez et al., 2017). La abundancia del ácido clorogénico al ser cuantificado (Figura 15-1), es otro factor que apoya la evidencia de su influencia en la actividad de la fracción F2-10. No se descarta la actividad de otros

compuestos, como lo demuestra el ensayo del precipitado F2-10p, con una inhibición aproximadamente del 30% y de los otros compuestos fenólicos cuantificados por HPLC en cantidades significativas.

Se concluye que las de hojas de *S. jacquinii* pueden ser una fuente potencial de agentes antimicrobianos, los cuales actúan en conjunto y siendo esto promisorio para la formulación de agentes antimicrobianos, biopelículas o productos alternativos lo cual puede dar un valor agregado a una especie muy usada tradicionalmente.

2. Prototipo de recipiente biodegradable a partir de las hojas de *Stromanthe jacquinii* (Marantaceae)

2.1 Resumen

Las hojas de *Stromanthe jacquinii*, llamadas comúnmente hojas de bijao son usadas tradicionalmente para envolver alimentos. Se ha comprobado que sus hojas poseen actividad antifúngica frente a ciertos hongos alteradores de los alimentos y que, al emplear las hojas como empaque, estas funcionan como aislante de la temperatura exterior y le confieren al producto mayor durabilidad. Con base en el uso tradicional y la actividad antimicrobiana de las hojas de esta especie, se aprovecharon sus hojas para la elaboración de un prototipo de recipiente biodegradable y con actividad conservante para empacar alimentos perecederos, como frutas. Se elaboró una lámina con diferentes concentraciones de fibra de *S. jacquinii* (40, 50, 60 y 70% p/p almidón) reforzada con una película de almidón de papa (9% p/v agua destilada), carboximetilcelulosa (CMC) (30% p/p almidón) y glicerol (30% p/p almidón). Se evaluaron diferentes condiciones de secado de la lámina y la actividad antifúngica de la lámina impregnada con una fracción biológicamente activa de *S. jacquinii*. Se obtuvo una lámina preparada con fibra al 50% p/p almidón y secada a temperatura ambiente con una buena circulación de aire, con rigidez y flexibilidad óptima para empacar alimentos y con capacidad antifúngica frente a *Fusarium oxysporum*. Se doblaron dos láminas para obtener la base y la tapa del recipiente, se usó CMC (10g/L agua destilada) como adhesivo. Este recipiente podría ser una alternativa de empaque que permita disminuir el impacto ambiental generado por la acumulación de plásticos de origen petroquímico, empleados en la actualidad para el embalaje de frutas y alimentos, teniendo como valor agregado su potencial conservante.

Palabras claves: Recipiente, biodegradable, conservante, bijao, alimentos

2.2 Introducción

En la industria de empaques, los usados para alimentos representan el 50% de los plásticos derivados de combustibles fósiles. Esta cantidad continúa creciendo como consecuencia de los cambios que se están produciendo en los hábitos de preparación de los alimentos, por lo que los empaques representan una enorme carga ambiental. Sin embargo, los empaques para alimentos son esenciales en la cadena alimentaria, para proteger y preservar la calidad del producto alimenticio, garantizar la seguridad e higiene y reducir el desperdicio de alimentos (Trajkovska Petkoska et al., 2021). Algunos de los materiales utilizados convencionalmente en los empaques de alimentos incluyen papel, plástico, vidrio, acero, aluminio y diferentes aleaciones (Trajkovska Petkoska et al., 2021). Sin embargo, los plásticos de origen petroquímico y aquellos no biodegradables, se utilizan ampliamente debido a sus excelentes propiedades mecánicas, baja permeabilidad y bajo costo. Además, los materiales plásticos más utilizados para alimentos incluyen tereftalato de polietileno (PET), polietileno, polietileno de alta densidad, polietileno de baja densidad (LDPE), polipropileno (PP), poliestireno (PS) y cloruro de polivinilo (García Ibarra et al., 2016). A pesar de sus bondades, los plásticos han sido reconocidos como un problema ambiental global por su impacto negativo en los ecosistemas y la salud humana (Nilsen-Nygaard et al., 2021). El impacto se está cuantificando en los 100.000 mamíferos marinos y un millón de aves que mueren cada año, a consecuencia de la obstrucción del sistema digestivo por residuos plásticos (Decologia.info, 2019). También estudios recientes han informado sobre la bioacumulación de contaminantes de desechos plásticos en organismos marinos como mejillones y peces (Din et al., 2020). Debido a que no se pueden degradar en un componente natural por lo que producen basura a lo largo del tiempo, es factible que para el año 2025 la cantidad acumulada de residuos plásticos que ingresan al océano podría alcanzar de 92,8 a 247,5 millones de TM (Tonelada métrica), lo que corresponde al 15% y 40% de los residuos generados en la tierra y desechos marinos de plástico, respectivamente (Galgani & Loiseau, 2021).

En el medio ambiente, los plásticos pueden descomponerse en pedazos más pequeños, siendo estos, micro plásticos (tamaños inferiores a 5 mm) y nano plásticos (1 a 100 nm), que pueden tener diversas consecuencias en la vida silvestre y la salud de las comunidades costeras (Rai et al., 2021). De esta manera, la contaminación por micro plásticos y nano plásticos puede afectar negativamente al fitoplancton marino debido a que altera su fotosíntesis, desarrollo y reproducción. Estos efectos adversos sobre el

fitoplancton son graves amenazas al medio ambiente, puesto que reducen el secuestro de carbono y la productividad marina, las cuales están estrechamente vinculadas al cambio climático, (Rai et al., 2021). Adicionalmente, se perturban los procesos normales del zooplancton, debido a que este último se alimenta del fitoplancton. El zooplancton juega un papel vital en la regulación de la salud de los ecosistemas acuáticos, debido a que propician el intercambio de información genética a través de las cadenas alimentarias (Simul Bhuyan et al., 2021). También los micro plásticos influyen en la fotosíntesis y la tasa de crecimiento de microalgas unicelulares y filamentosas tanto en hábitats marinos como de agua dulce (Galgani & Loiselle, 2021) o de agua dulce (Galgani & Loiselle, 2021). Un estudio reveló que, tras la exposición a los lixiviados plásticos, *Prochlorococcus* spp., la bacteria fotosintética más abundante en los océanos del mundo y responsable de aproximadamente el 8,5% de la producción primaria neta del océano, mostró una reducción significativa en el crecimiento, la eficiencia fotosintética y la producción de oxígeno (Galgani & Loiselle, 2021). Las superficies de plástico, debido a la corrosión por el agua de mar, la fotooxidación, la fricción y otros procesos, son más propensas a adsorber contaminantes. Gracias a las características hidrófobas de sus superficies, los micro plásticos generalmente pueden adsorber contaminantes orgánicos hidrofóbicos del agua de mar circundante, incluidos los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los bifenilos policlorados, los plaguicidas organoclorados y los metales pesados (Galgani & Loiselle, 2021). De esta manera, ellos actúan como vectores de contaminantes, que pueden transferir su toxicidad a la biota. También, sus partículas pueden ser vectores de microorganismos patógenos. Su persistencia en el medio acuático permite que las partículas de plástico se conviertan en puntos críticos para la selección microbiana, favoreciendo la proliferación de posibles patógenos y bacterias resistentes a los antibióticos y aumentando así la transmisión de enfermedades microbianas a través organismos marinos (Galgani & Loiselle, 2021). Los micro plásticos del suelo contaminado pueden migrar a los acuíferos, contaminando así el agua potable (Rai et al., 2021). Además de la contaminación marina y terrestre, el aire se ve afectado por desechos plásticos. En los países en desarrollo, lo más común es que los desechos plásticos terminen en un vertedero. Debido a la combustión incompleta, muchos tipos diferentes de desechos plásticos sintéticos liberan diferentes gases nocivos en el medio ambiente, que no solo causan cambios climáticos, sino que alteran el equilibrio natural de los gases en el aire (Din et al., 2020). En 2015, las emisiones globales de gases de efecto invernadero durante el ciclo de vida de los plásticos convencionales fueron de 1,7 Pg C (equivalente de CO₂),

y se espera que aumenten a 6,5 Pg C (equivalente de CO₂) para 2050 si no se llevan a cabo acciones de mitigación. La liberación constante de gases de efecto invernadero provenientes el ciclo de los plásticos podría provocar un aumento de la temperatura de 1,5 ° C al perturbar el balance general de carbono (Rai et al., 2021).

Además del impacto negativo sobre el medio ambiente, los plásticos pueden tener efectos perjudiciales sobre la salud humana. Los aditivos, plastificantes u otras sustancias químicas utilizadas en los materiales plásticos empleados como empaque para alimentos podrían migrar a los alimentos, dando como resultado una exposición a sustancias químicas posiblemente perjudiciales para la salud humana (J. Yang et al., 2019). Por ejemplo, los ftalatos no se unen covalentemente a la matriz plástica, tienden a migrar a los alimentos y promueven el riesgo de efectos cancerígenos, teratogénesis y mutagénesis (J. Yang et al., 2019) y son los principales plastificantes utilizados en la industria de los polímeros desde la década de 1930. Cabe destacar que ellos podrían aumentar la expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y, en consecuencia, la angiogénesis y la progresión tumoral en las células de cáncer de mama, e interfieren con genes relacionados con el ciclo celular responsables de la proliferación de células de cáncer de próstata (Giuliani et al., 2020). Por lo tanto, la exposición a ellos se ha correlacionado con la pubertad precoz, endometriosis, anomalías sexuales, infertilidad, desarrollo fetal alterado, obesidad, diabetes tipo II, trastorno por déficit de atención con hiperactividad, trastornos del espectro autista, cardiotoxicidad, hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, asma y alergia (Giuliani et al., 2020). Otro compuesto ampliamente empleado es el Bisfenol A, el ingerirlo induce obesidad, enfermedad cardiovascular, múltiples problemas reproductivos y de desarrollo, que incluyen el desarrollo prematuro del pene y la uretra, la proliferación de cánceres mediados por hormonas (como, cánceres de mama y próstata), autismo y pubertad precoz (Simul Bhuyan et al., 2021).

La industria de los empaques consume los mayores volúmenes de plásticos producidos a nivel mundial y es la principal fuente de suministro de residuos plásticos al medio ambiente, los cuales cuentan con tasas de reciclaje bajas (menos del 20%).

Se ha estimado que, para 2050, se requerirá un aumento del 50% en el suministro mundial de alimentos debido al aumento del crecimiento de la población mundial. A medida que aumenta la demanda de alimentos, también lo hace la demanda de materiales de empaque (Ncube et al., 2020). La sobreproducción de empaques no biodegradables, sumado a las

bajas tasas de reciclaje causan una acumulación de éstos en la biósfera, conllevando a una alta contaminación ambiental y a su vez una muerte masiva de especies marinas y terrestres ((Nilsen-Nygaard et al., 2021). Como los empaques biodegradables tienen un menor impacto ambiental, se ha buscado alternativas para la elaboración de platos a partir de hojas de distintas especies. Sin embargo, hay una carencia en el área de empaques y de contenedores para los alimentos que deben almacenarse, que a su vez presenten características conservantes, con el fin, de disminuir el riesgo de las alteraciones alimentarias (Cecilia & Blanco, 2017). Actualmente, se han fabricado platos biodegradables a partir de hojas de plátano (Sevillano et al., 2018) y envases a partir de hojas de achira (*Canna edulis*)(Acosta et al., 2019). Aunque, es una industria aún incipiente, está emergiendo cada vez con más fuerza en la búsqueda de alternativas sustentables con menor impacto en el medio ambiente.

La elaboración de recipientes a partir de hojas de plantas es atractiva debido a que se le puede conferir al empaque alguna propiedad biológica. Las propiedades mecánicas de las hojas se pueden mejorar por medio de algún recubrimiento. Se han elaborado films a partir polisacáridos debido a sus propiedades químicas, físicas y mecánicas (Acosta et al., 2019). Los polisacáridos tienen buenas propiedades de formación de película, proporcionando barreras eficientes contra lípidos, sin embargo, pobres barrera contra el agua (Adeodato Vieira et al., 2011). Generalmente, las películas de polisacáridos están hechas de almidón, alginato, éteres de celulosa. El almidón es uno de los materiales más adecuados, abundantes, renovables y de bajo costo para producir recubrimientos comestibles. Sin embargo, las propiedades químicas, físicas y funcionales de las películas dependen de la proporción de amilosa y amilopectina (Basiak et al., 2017). Cuando la amilosa está en mayor cantidad le da mayor fuerza a la película y mejores propiedades de barrera a los gases. En el caso de que sea la amilopectina la que predomina, disminuye la tensión de tracción de las películas (Niranjana Prabhu & Prashantha, 2018). Esta relación de amilosa-amilopectina depende de la fuente y la edad del almidón (Marco et al., 2013). En una investigación se evidenció que el alto contenido de amilosa dio lugar a películas más rígidas, más resistentes a la fractura, pero menos estirables, con menor permeabilidad al oxígeno y mayor capacidad de retención de agua (Cano et al., 2014).

Sin embargo, una barrera limitante para el desarrollo de este tipo de películas es la naturaleza frágil de las mezclas con altas concentraciones de almidón que impide que el almidón entre en un uso práctico real debido a que se recristaliza y se vuelve fácilmente

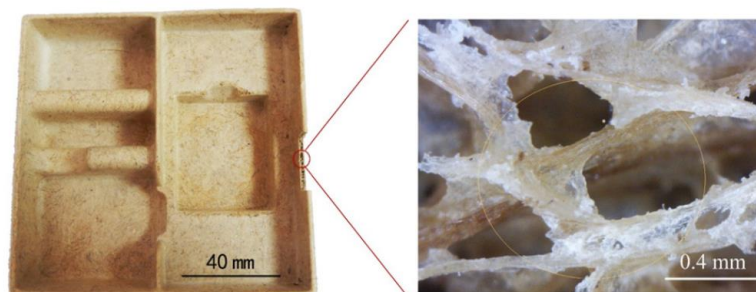
rígido y quebradizo durante el almacenamiento a largo plazo y, por lo tanto, pierde su valor de uso. Para evitar este inconveniente de la fragilidad, mientras se logra una biodegradabilidad completa en mezclas, se pueden adicionar plastificantes biodegradables. Los plastificantes más comúnmente utilizados son los polioles, como el sorbitol y el glicerol (Adeodato Vieira et al., 2011). Estos plastificantes mejoran la extensibilidad y las propiedades de barrera al vapor de agua lo cual evita el agrietamiento de la película durante la manipulación y el almacenamiento (Acosta et al., 2019). Por ejemplo, una película elaborada a partir de almidón de papa con glicerol logró un resultado positivo y significativo en sus propiedades mecánicas (Adeodato Vieira et al., 2011).

Las películas elaboradas con dos o tres compuestos formadores de películas podrían mejorar sus propiedades mecánicas (Ghanbarzadeh et al., 2010). Entre los posibles biopolímeros a considerar se encuentra la gelatina, la cual es notable por sus propiedades funcionales y filmógenas y por ser una materia prima abundante, producida prácticamente en todo el mundo (Thomazine et al., 2005). Cuando se elaboran películas con este material presentan buenas barreras al oxígeno y a la luz (Acosta et al., 2019). Thomazine et al. evaluaron películas preparadas con 2 g de gelatina / 100 ml de agua y 25 o 55 g de mezclas de plastificantes / 100 g de gelatina. Las mezclas de plastificantes se prepararon con glicerol y sorbitol en diferentes proporciones. Se observó que las películas con 55 g de plastificantes / 100 g de gelatina fueron más permeables al vapor de agua que las con 25 g de plastificantes / 100 g de gelatina al compararlas con películas con la misma proporción de glicerol: sorbitol. En cambio, aquellas producidas solo con glicerol fueron más permeables. Se observó que a medida que aumentaba la proporción de glicerol, había una tendencia a aumentar la humedad de las películas (Thomazine et al., 2005). Se ha demostrado que la mezcla de gelatina y almidón (de cualquier tipo) mejora la extensibilidad y resistencia de una película. Además, se ha demostrado la compatibilidad entre glicerol y gelatina debido a las propiedades mecánicas mejoradas de la película, cuando se agregó el plastificante (Acosta et al., 2019).

Otro biopolímero que tiene buenas propiedades formadoras de películas es la carboximetilcelulosa (CMC) (Glicksman, 1982), la cual mejora las propiedades mecánicas de las películas a partir de almidón y no tiene efectos nocivos para salud humana (Ghanbarzadeh et al., 2010).

Las fibras vegetales tienen potencial para reforzar materiales para empaque debido a su resistencia, disponibilidad, carácter renovable y menor precio (Akil et al., 2011; Miao & Finn, 2008; C. wei Zhang et al., 2017) por lo tanto, se ha empleado el termoformado con una mezcla de fibra vegetal y almidón modificado para elaborar un recipiente biodegradable, obteniendo lo que se muestra en Figura 1-2.

Figura 1-2: Recipiente biodegradable a partir de almidón y fibras vegetales.



Tomado de (C. wei Zhang et al., 2017)

Teniendo en cuenta la problemática expuesta, en esta investigación se estudiaron las hojas conocidas comúnmente como bijao (de Oro Torres, 2003) las cuales son plantas de varias especies de la familia Marantaceae, que tradicionalmente, se usan como envoltura de diferentes alimentos como el bocadillo (Vergara et al., 2018), la panela (de Oro Torres, 2003), tamales, quesito antioqueño y de fiambres. Basados en el uso tradicional y en los reportes de las propiedades de la hoja de bijao, en este trabajo se aprovecharon las hojas de *Stromanthe jacquinii*, una de las especies usadas en el empaque de alimentos, para la elaboración de un recipiente biodegradable, lo cual constituye una alternativa de empaque sostenible, con menor impacto al medio ambiente con características conservantes con el fin de disminuir el riesgo de las alteraciones y/o intoxicaciones alimentarias.

2.3 Metodología

2.3.1 Elaboración de un recipiente biodegradable a partir de las hojas de *S. jacquinii*

Se seleccionaron las hojas de láminas mayores con un largo de 70 cm y un ancho de 30 cm y se usó el molde mostrado en la Figura 2-2. Para la construcción del recipiente, los

pliegues fueron pegados con carboximetilcelulosa. Para la preparación de la solución de CMC se probaron concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 g de CMC por 1L de agua destilada. Se seleccionó la concentración de acuerdo el desempeño como pegamento de hojas de *S. jacquinii*.

Figura 2-2: Molde para elaboración recipiente con hojas *S. jacquinii*.



Para mejorar las propiedades mecánicas de las hojas se procedió a elaborar un recubrimiento con almidón de papa y gelatina a una proporción 1:1, y se utilizó como glicerol como plastificante. Inicialmente, se evaluaron diferentes concentraciones de almidón en exceso de agua superior al 90% (Tabla 1-2) (Jiménez Marco, 2013). Se mezcló el almidón con agua destilada al 1%, 5% y 9% p/v a temperatura ambiente por 5 min a 200 rpm. A continuación, se pusieron en la plancha de calentamiento a 90 °C durante 20 minutos (Liu et al., 2018; Malmir et al., 2018; Nandi & Guha, 2018). Se vertieron 5g de cada solución a una caja de Petri (Figura 3-2). Luego se pusieron en un horno a 50°C hasta secarse (Nandi & Guha, 2018; Shen et al., 2010; W. C. Wu et al., 2019; R. Zhang et al., 2018). Finalmente, los films se acondicionaron a temperatura ambiente por 24 horas. Se seleccionó la mejor concentración de almidón y se continuó la preparación de la lámina de *S. jacquinii* con esta concentración.

Tabla 1-2: Preparación solución de almidón.

Nombre	Almidón (%)	Almidón (g)	Agua destilada (mL)
A	1	0,1	10
B	5	0,5	10
C	9	0,9	10

Figura 3-2: Preparación de la solución de almidón a diferentes concentraciones.



La gelatina comercial se disolvió con agua destilada, a 80 °C con agitación por 30 minutos utilizando una plancha de calentamiento. A continuación, se mezclaron las soluciones en proporción 1:1 (Gelatina: Almidón). Se adicionó glicerol al 30% v/v (Acosta et al., 2019; Liu et al., 2018). Seguidamente se aplicó la mezcla de gelatina, almidón y glicerol a las hojas de *S. jacquinii* (

Figura 4-2) para mejorar sus propiedades mecánicas (Acosta et al., 2019). Se dejaron secar las hojas a temperatura ambiente.

Figura 4-2: Fragmentos de hojas de *S. jacquinii* con recubrimiento de almidón, gelatina y glicerol.



2.3.2 Elaboración de un recipiente biodegradable a partir de la fibra de las hojas de *S. jacquinii*

Se recortaron las hojas de *S. jacquinii* de un tamaño aproximadamente de 2,5 x 2,5 cm y se pusieron en agua en ebullición por una hora y media. Después de la cocción, se retiraron las hojas, y se licuaron con 0,5 L de agua por cada 100 g. A continuación, se secó la fibra en un horno a 50 °C (Figura 5-2).

Figura 5-2: Preparación de la fibra de *S. jacquinii* por medio de decocción.



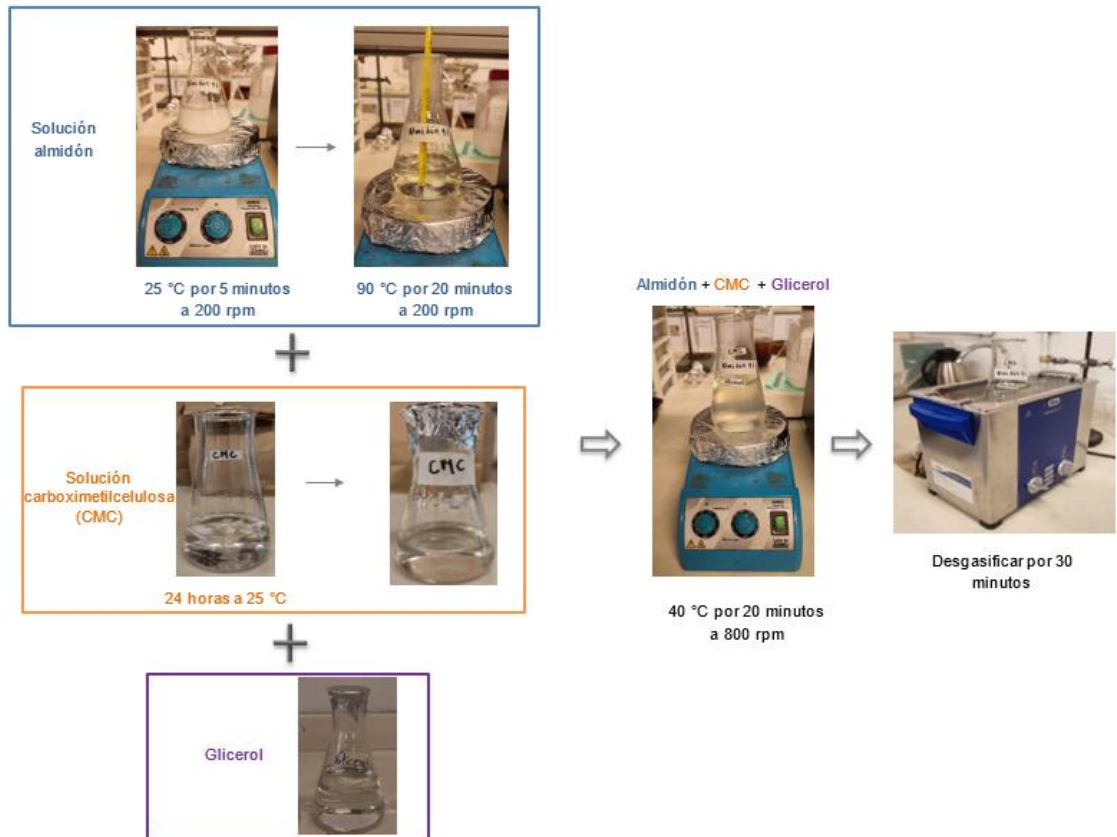
Adicionalmente, para la elaboración de la lámina se emplearon dos tipos de fibra: la que se obtuvo directamente del secado (fibra gruesa) y otra que se consiguió después de retirar los pedazos más grandes (fibra fina) como se observa en la Figura 6-2.

Figura 6-2: Tamizaje de la fibra inicial para obtener una fibra más fina.



Posteriormente, se preparó la solución de almidón, glicerol y carboximetilcelulosa (CMC) (Figura 7-2) para usarlo como refuerzo de la fibra de *S. jacquinii*.

Figura 7-2: Elaboración solución Almidón, carboximetilcelulosa y glicerol para refuerzo de la fibra.

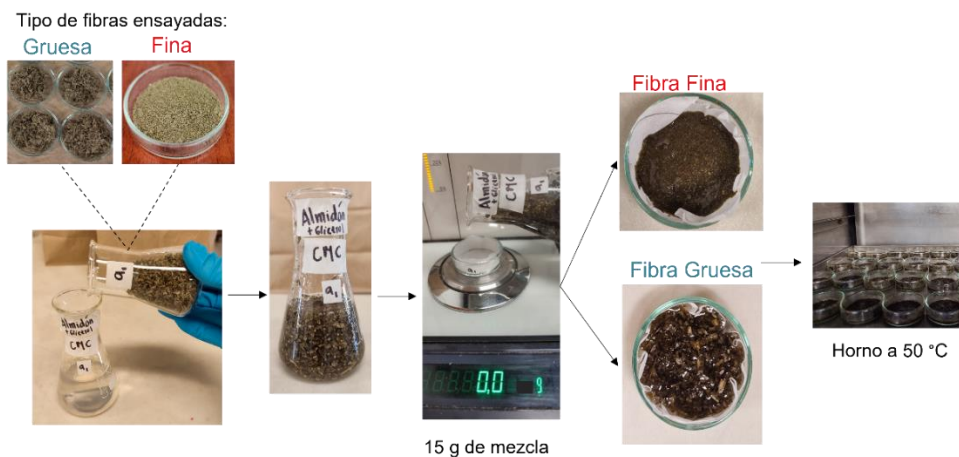


La solución de almidón de papa (9% p/v agua destilada) se mezcló a 25 °C por 5 min con un agitador magnético a 200rpm y luego por 20 minutos a 90° C (Ghanbarzadeh et al., 2010). Una solución de CMC se preparó para incluirla en la solución de almidón y glicerol, además para usarla como pegante del recipiente. Para la preparación de la solución de CMC se probaron concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 g de CMC por 1L de agua destilada. Se seleccionó la concentración de acuerdo el desempeño como pegamento de la fibra de *S. jacquinii*.

Para la mezcla, 30% p/p de CMC/almidón fue combinada en agua destilada a 30°C y se dejó reposando durante 24 horas para lograr una solubilización completa. Luego, se mezcló la solución de almidón, la solución de CMC y 30% p/p glicerol/almidón a 40 °C por 20 minutos. Finalmente, las soluciones fueron desgasificadas en un baño ultrasónico durante 30 minutos y se dejaron enfriar a temperatura ambiente (Acosta et al., 2019; Rodríguez Castro & Mayorga Quintero, 2018; Rodríguez Castro & Mayorga Quintero, 2018).

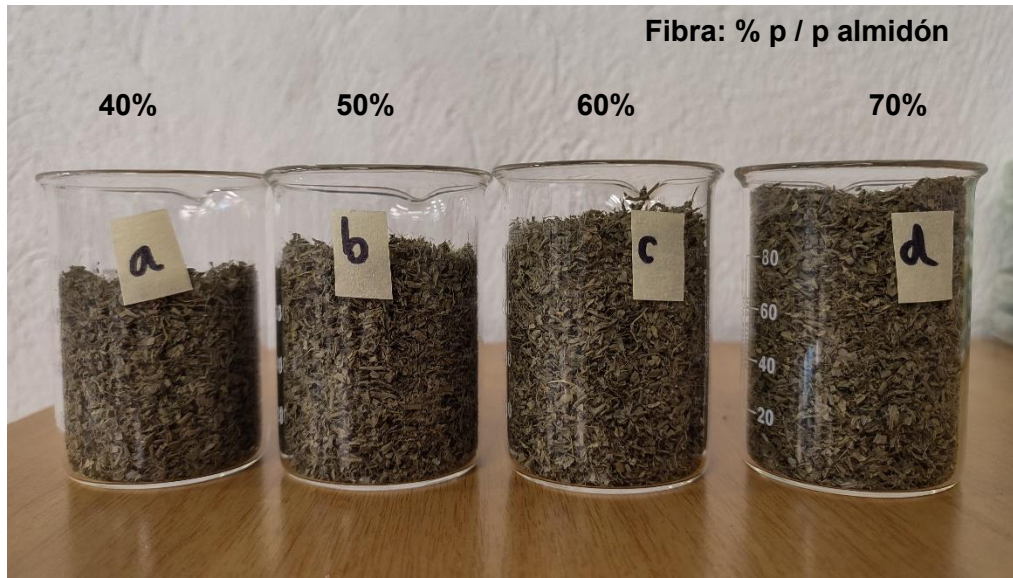
Se adicionó cada tipo de fibra a la solución en concentraciones entre 40 a 70% p/p fibra/almidón. Posteriormente se vertieron 15 g de cada solución en cajas de Petri (15 mm) (Tarique et al., 2022) cubiertas con papel encerado. Luego se mantuvieron las soluciones en las cajas de Petri en un horno a 50 °C hasta secarse. Después, las muestras deshidratadas se acondicionaron a 25 °C durante 24h antes de ser separadas de las cajas de los recipientes(Figura 8-2).

Figura 8-2: Procesamiento de la fibra y la solución de almidón, CMC y glicerol.



Finalmente, se escaló el procedimiento usando para obtener una lámina de mayor tamaño con la fibra que demostró el mejor desempeño Figura 9-2. Para ello, se vertieron las soluciones (15 g/ 20 cm²) en un recipiente antiadherente de 361 cm². Para este caso, se secaron las soluciones en horno a 50°C y a temperatura ambiente.

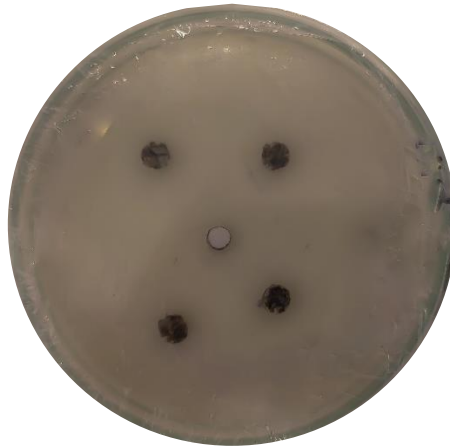
Figura 9-2: Escalado de la elaboración de la lámina de fibra de *S. jacquinii*.



2.3.3 Evaluación antifúngica de las láminas

Debido a que en los ensayos biológicos llevados a cabo con el extracto de *S. jacquinii*, se observó la mejor actividad sobre cepas de *Fusarium oxysporum*, se seleccionó este ensayo para evaluar la capacidad conservante de la lámina elaborada a partir de las fibras. Para ello se usó el método de bioautografía directa (Dewanjee et al., 2015). Inóculos de *F. oxysporum* se sembraron en discos de micelio de 0,5 cm de diámetro en el centro de cajas Petri con agar Papa Dextrosa (PDA). Se recortaron discos de las láminas de *S. jacquinii* y se impregnaron con la fracción identificada como la más activa de *S. jacquinii* en el fraccionamiento biodirigido (F2). Se colocaron estos discos sobre la superficie del medio de cultivo (Figura 10-2) y se incubaron a temperatura ambiente.

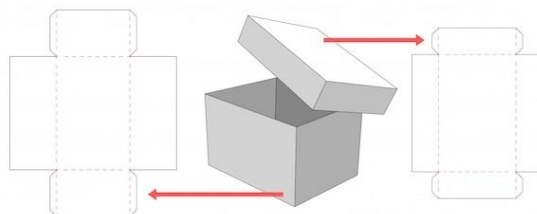
Figura 10-2: Bioautografía directa de las láminas de *S. jacquinii* sobre *F. oxysporum*



2.3.4 Elaboración prototipo de recipiente

Se elaboró un recipiente con el modelo tipo caja usando la fibra con mejor desempeño en un molde (Figura 11-2). Una vez obtenida la fibra por medio del proceso de escalado, se ajustaron las medidas (dar las medidas) al molde y se pegó cada uno de sus lados con una solución de CMC a la concentración a la cual se obtuvo el mejor adhesivo.

Figura 11-2: Moldes para la elaboración del prototipo de recipiente.



2.4 Resultados y discusión

2.4.1 Lámina hojas de *S. jacquinii*

Los pliegues fueron pegados con CMC a una concentración de 20 g/L, debido a que fue la que presentó mejor desempeño como adhesivo de las hojas. En la Figura 12-2 se aprecia el modelo de recipiente elaborado con las hojas de bijao, el cual resultó poco resistente y con el paso del tiempo, las láminas de las hojas usadas se tornaron quebradizas. En consecuencia, se concluyó que es necesario aplicar algún tratamiento adicional para mejorar su resistencia y evitar su deterioro y así aumentar la vida útil del recipiente.

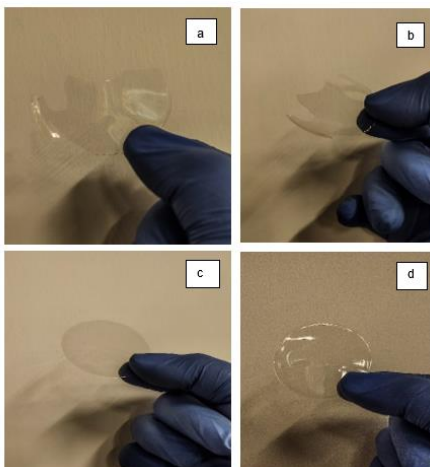
Figura 12-2: Recipiente elaborado con láminas de las hojas de *S. jacquinii*.



2.4.2 Lámina de *S. jacquinii* reforzadas con un recubrimiento

En la Figura 13-2 se muestran las láminas de almidón obtenidas, con la solución preparada con 9% p/v de almidón presentó mejor consistencia.

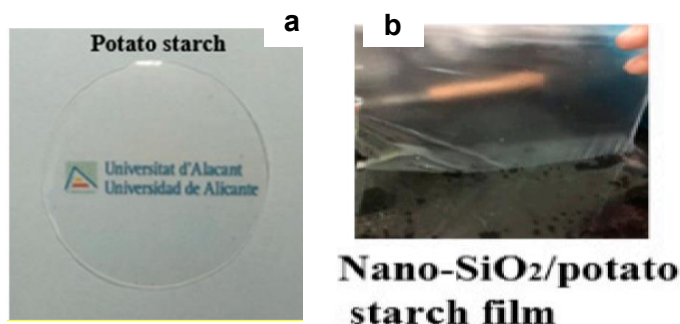
Figura 13-2: Láminas de almidón. a. 1% b. 5% c. y d. 9%.



Se logró la formación de película con todas las concentraciones de almidón, sin embargo, para el caso de las concentraciones 1 y 5% p/v no se logró la formación del film en toda la caja de Petri, inclusive las láminas de almidón presentaron fragmentaciones en algunas zonas.

Con respecto a estos resultados, existen algunas investigaciones en que se probó el almidón de papa al 5% p/v y se obtuvo films sin fracturas. A diferencia del presente trabajo, dichas películas se secaron bajo condiciones controladas. En una de las investigaciones, se elaboraron películas con una mezcla almidón de papa y glicerol, las cuales fueron secadas a 50 °C en un horno con circulación de aire (Figura 14-2a) (Domene-López et al., 2019). En otro caso, se secaron soluciones de almidón de papa y nanopartículas de SiO₂ en una cámara climáticas a 50 °C y una humedad relativa del 50% y se obtuvo un film consistente como se muestra en la Figura 14-2b(R. Zhang et al., 2018). La humedad controlada en el proceso de secado podría explicar la diferencia en rigidez de las películas mencionadas anteriormente con respecto a las del presente trabajo, con base al desempeño final de la película de almidón, la humedad es determinante, porque este polisacárido es muy hidrofílico al tener muchos grupos hidroxilo, haciéndolo más sensible a la humedad (Jiménez Marco, 2013).

Figura 14-2: Películas preparadas con almidón al 5%.



Fuente (Domene-López et al., 2019; R. Zhang et al., 2018)

En la Figura 15-2 se aprecia que el recubrimiento de almidón no se adhirió a la superficie de la hoja. El acabado de la película sobre las hojas es diferente al obtenido en las cajas de Petri, la cual fue lisa. Posiblemente debido a que las hojas a medida que transcurre el tiempo van perdiendo humedad por lo que se van presentando dobleces. Usualmente se han empleado cajas de Petri como superficie de secado de las películas, así como acero

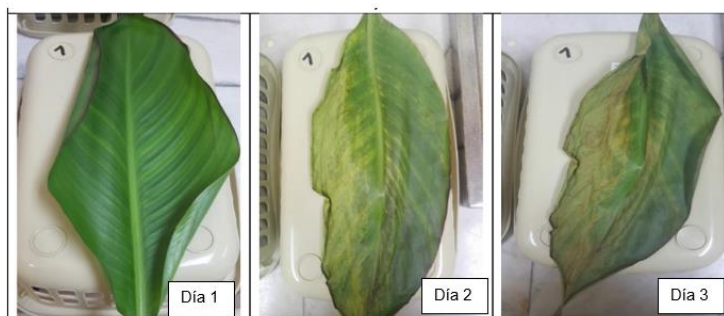
inoxidable, vidrio con los cuales se ha obtenido una buena apariencia de la película (Jiménez Marco, 2013).

Figura 15-2: Película de almidón, gelatina y glicerol sobre las hojas de *S. jacquinii*.



Con respecto a lo anterior, trabajaron con hojas de *Canna edulis* recubiertas con una dispersión de almidón de arroz, gelatina y aceite esencial de naranja y se logró aumentar la elasticidad de la hoja y no hubo desprendimiento de la película como se observa en la Figura 16-2. Posiblemente la diferencia se encuentre en las condiciones de secado, las hojas de achira fueron secadas por convección natural a 25°C y 58% de humedad relativa. En el caso de las hojas de *S. jacquinii* también fueron secadas a temperatura ambiente (25 ° C) sin circulación de aire, lo que puede representar una mayor humedad durante el secado.

Figura 16-2: Hojas de achira recubiertas con almidón y gelatina.



Tomado de (Vargas Pérez, 2017)

Adicionalmente, los resultados son diferentes debido al tipo de almidón utilizado, pues la proporción entre amilopectina y amilosa depende de la fuente de almidón (Marco et al., 2013).

2.4.3 Lámina de Fibra de *S. jacquinii*

Para la preparación de la solución de CMC se seleccionó la concentración de 20 g/L porque fue la que presentó mejor desempeño como pegante de la fibra de *S. jacquinii*, sin embargo, a partir de 10g de CMC la solución presenta mayor resistencia a fluir, y la condición de adhesión se da los 20 g. Como la CMC se ha utilizado como adhesivo para alimentos y otros productos en la industria alimentaria se sugiere como material apropiado en un recipiente para alimentos. En otra investigación la solución de CMC se preparó a una de concentración de 10g/L y tuvo buen desempeño como adhesivo de hojas de plátano (*Musa sp.*) (Rodríguez Castro & Mayorga Quintero, 2018). Esta diferencia con el presente trabajo puede explicarse por el tipo de CMC empleada, debido a que este compuesto está disponible en diferentes variedades dependiendo del peso molecular, la viscosidad, tamaño de partícula y pureza, dichas características pueden afectar la propiedad adherente de la CMC (S. Dong et al., 2021). En este caso, se usó una CMC extra pura lo que pudo garantizar sus propiedades adherentes a una concentración menor.

En la Figura 17-2 se puede apreciar dos tipos de fibra una gruesa y otra fina de *S. jacquinii*. Estas fibras se emplearon para adicionarla a la solución de almidón, CMC y glicerol y se obtuvo lo que se muestra en la Figura 18-2 y Figura 19-2. De esta manera, se comprobó un mejor desempeño de la fibra gruesa, porque la fina presentó zonas de quiebre, e inclusive la lámina con un 70 %p/p fibra/almidón no compactó y se deshizo en pequeñas partes. Por esta razón, se trabajó con la fibra gruesa para escalar la lámina.

Figura 17-2: Fibras de *S. jacquinii* a. Gruesa b. Fina.

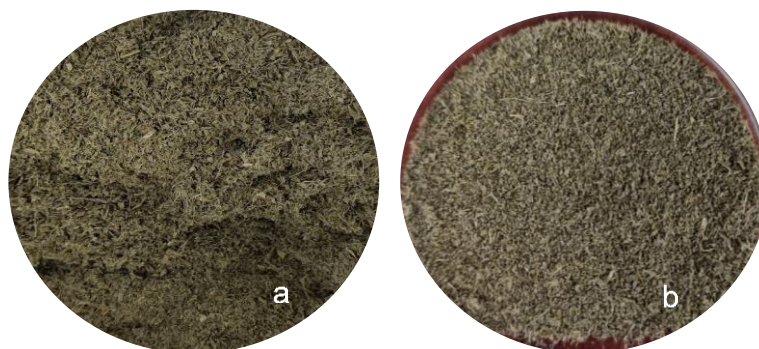


Figura 18-2: Lámina de fibra gruesa de *S. jacquinii*.

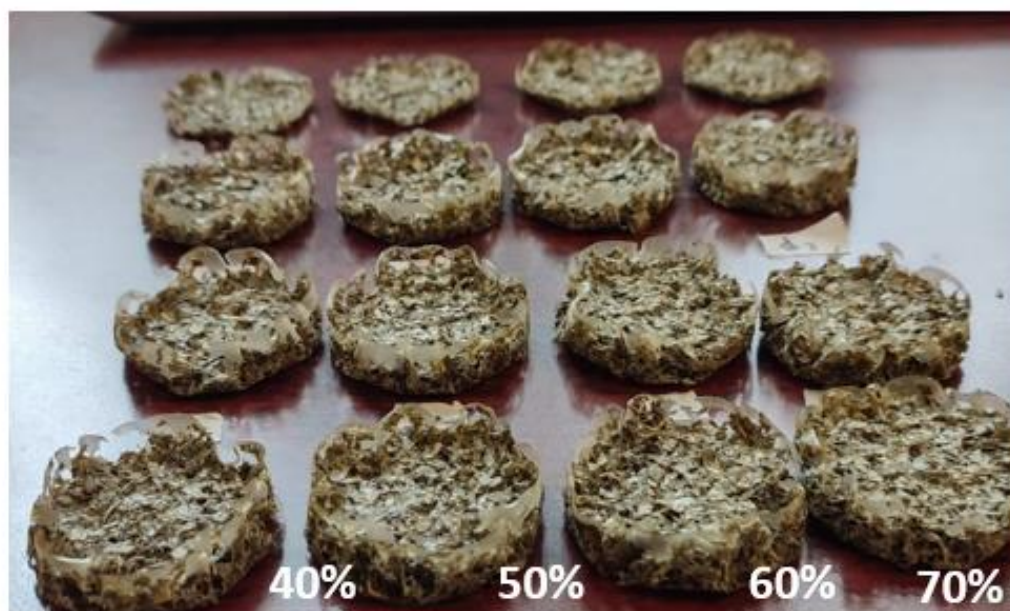
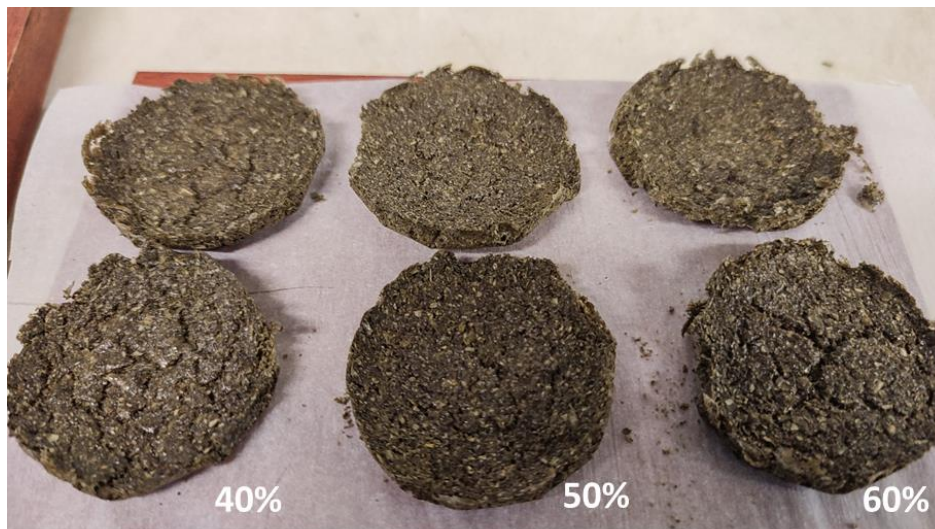


Figura 19-2: Lámina de fibra gruesa de *S. jacquinii*.

Se determinó que la humedad es una de las condiciones apremiantes en las propiedades mecánicas finales de los films de almidón, esto se verificó cuando se desintegraron las láminas secadas al mismo tiempo, en un horno sin ventilador. Sin embargo, cuando se secó una sola lámina con fibra gruesa al 50 %p/p fibra/almidón (Figura 20-2) se logró retirarla completamente del recipiente. Esto podría ser consecuencia de la elevada humedad que se alcanzó al tener 4 recipientes, cada uno con 275 mL de la solución acuosa de almidón, glicerol, CMC y fibra en un espacio sin circulación de aire.

Figura 20-2: Lámina con 50% de fibra gruesa secada a 50°C



En una investigación con películas de gluten de trigo y maíz, se observó una migración de glicerol a la superficie de la película, lo que produjo una disminución en la elasticidad de la película (Park et al., 1994). Esto podría explicar la fragmentación de las láminas (Figura 21-2) que fueron secadas con una humedad elevada. En cambio, las películas plastificadas con glicerol son muy sensibles al agua y cuando se acondicionan a una humedad alta, se puede observar cierta migración de plastificante fuera de la película (Thomazine et al., 2005).

Figura 21-2: Lámina con 50 %p/p fibra/almidón secada a 50 °C con alta humedad



Cuando se obtuvo una lámina compacta, secada a 50° C, se puede observar en la Figura 20-2 que no hay una buena distribución de la solución de almidón, glicerol y CMC por toda la superficie de la lámina, la solución se queda concentrada en los bordes de la lámina, lo cual podría ser consecuencia de una mala distribución en el horno, debido a la ausencia de ventilación. Cuando se puso a secar otra lámina de fibra con 40% p/p fibra/almidón también se obtuvo una mala distribución de la solución en la lámina. Estas láminas secadas a 50°C son flexibles en los extremos, sin embargo, en el centro se tornan quebradizas. Por lo tanto, no se tuvo en cuenta para la construcción del recipiente.

En el caso de las láminas secadas a temperatura ambiente con una buena circulación de aire, se observó buena distribución de la solución de almidón, CMC y glicerol a diferencia de las secadas a 50° C como se aprecia en la Figura 22-2.

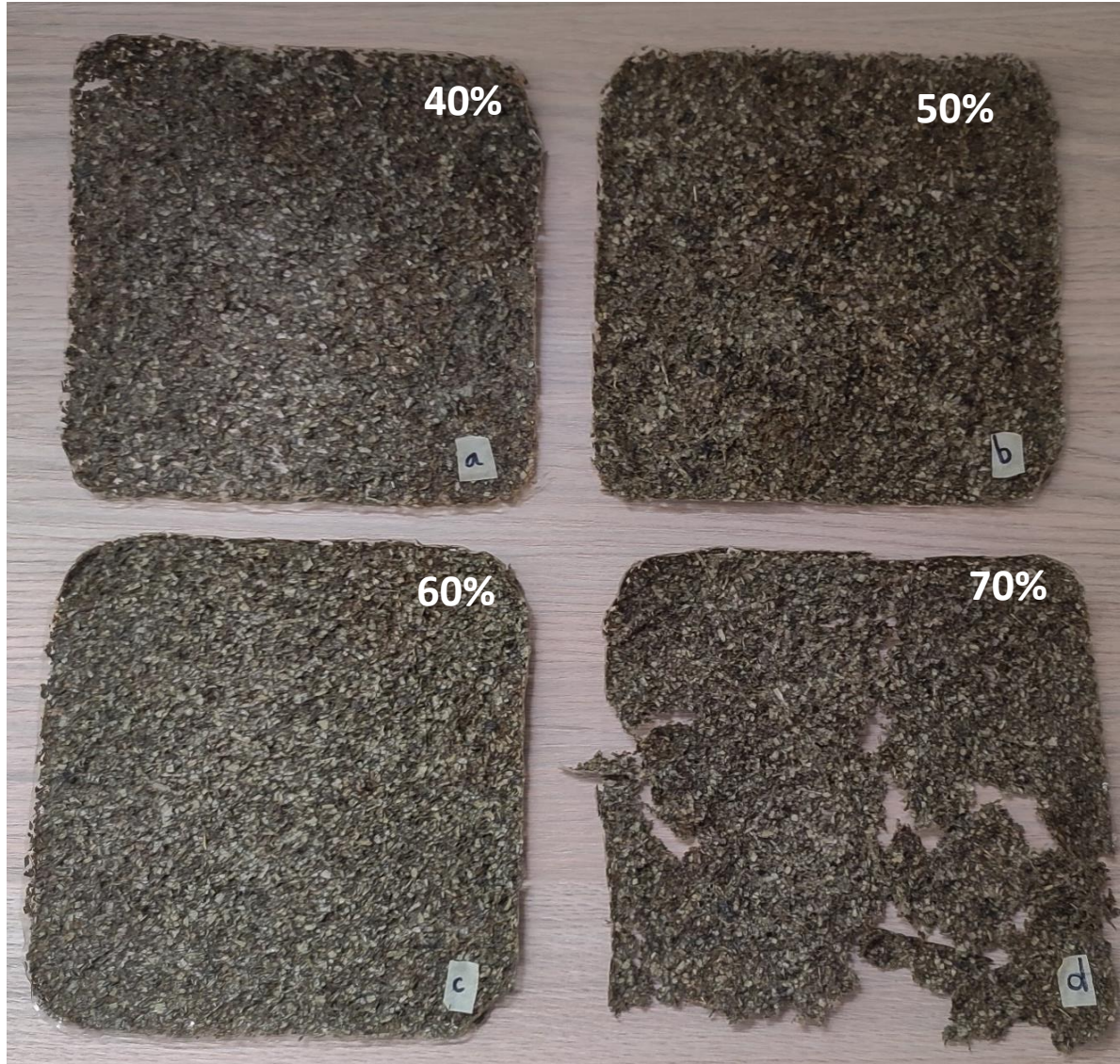
Figura 22-2: Lámina con 50% p/p fibra/almidón secadas a a) Temperatura ambiente b) 50° C



En la Figura 23-2 se observan las láminas elaboradas con las diferentes concentraciones de fibra, secadas a temperatura ambiente. En cuanto a la lámina del 40% de fibra p/p almidón, se formaron orificios lo que indica que es necesario usar una mayor cantidad de fibra, sin embargo fue flexible y no se rompió al doblarse, esta característica la proporciona la presencia del glicerol. Por el contrario, la lámina del 50 % p/p fibra/almidón fue más compacta, más rígida conservando la flexibilidad. Con el 60% de fibra p/p menos resistente al doblarlo. La lámina del 70 %p/p fibra/almidón fue muy rígida, por lo que al intentar doblar se fragmentó. Un estudio previo, donde se usó la fibra de hoja de plátano (*Musa sp.*) para reforzar una película de almidón de yuca, muestra la misma tendencia. La tensión a la rotura de la lámina aumentó a medida que se fue incrementando la cantidad de fibra del 0, 10, 20, 30 al 40% p/p, sin embargo, la tensión a la rotura disminuyó cuando se usó fibra al 50% p/p (Jumaidin et al., 2021). En el caso de la lamina de *S. jacquinii* la resistencia a romperse disminuyó con la fibra al 60% p/p, posiblemente la diferencia se deba a la diferencia de fuente del amidón y de la fibra. Además para la obtención de la fibra de hojas de plátano se utilizó el enriado con agua durante 4 semanas, dicho proceso consiste en sumergir las hojas en agua, añadiendo microorganismos o los que están presentes en las

mismas plantas, que ayudan a liberar las fibras (Joselyn Selna, 2022), lo cual pudo mejorar la calidad de la fibra.

Figura 23-2: Lámina de fibra secadas a temperatura ambiente.



%p/p fibra/almidón

La menor resistencia a romperse de las láminas del 60 y 70% p/p de fibra puede ser atribuida a la mala distribución de la matriz de almidón, glicerol y CMC sobre la fibra, en dichas láminas se observan pequeñas zonas sin cubrirse, que corresponden a las zonas más fragmentadas, siendo más evidente en la del 70 % p/p. Si bien, el aumento de la cantidad de fibra si ayuda a mejorar las propiedades mecánicas del almidón, al existir un exceso de la misma, la matriz no humedece suficientemente a las fibras y cuando la lámina

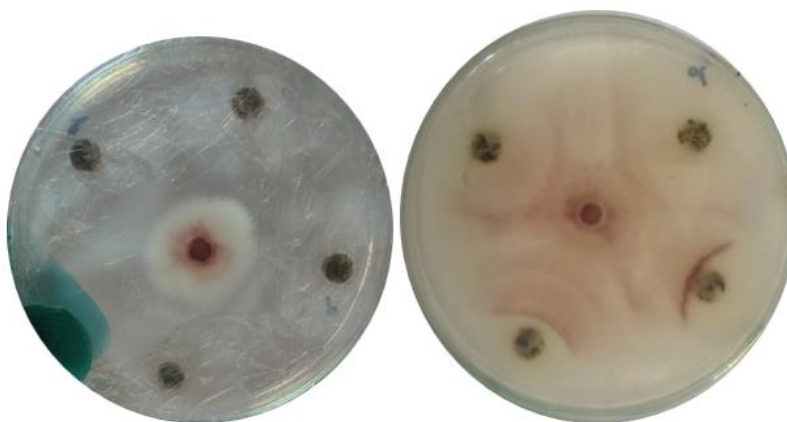
es sometida a una carga, no se transfiere uniformemente la tensión desde la matriz a lo largo de las fibras, lo que produce un material frágil (Jacob et al., 2004).

Se trabajó con la lámina elaborada con el 50 % de fibra con respecto al almidón y secada a temperatura ambiente con buena aireación. Este tratamiento presentó una flexibilidad que permitió doblar la lámina sin quebrarse y una rigidez adecuada para soportar la carga de alimentos.

2.4.4 Actividad antifúngica de las láminas de fibra de *S. jacquinii*

Con la lámina de 50% de fibra se realizó la actividad biológica, debido a que fue la que presentó mejor desempeño. Cada disco de la lámina se impregnó con la fracción F2-10 de *S. jacquinii* que fue la más activa frente a *F. oxysporum* como se mencionó en el capítulo 1. Se puede observar en la Figura 24-2 que hay un crecimiento del anormal del hongo, porque su crecimiento es en forma radial. Se puede observar que alrededor de los discos de fibra no hay crecimiento del hongo, lo que indica que no se pierde la actividad antifúngica de la fracción F2-10 cuando se pone sobre la lámina compuesta de almidón, CMC, glicerol y fibra de *S. jacquinii*.

Figura 24-2: Evaluación antifúngica de la lámina con 50%p/p fibra/almidón sobre *F. oxysporum*.



2.4.5 Prototipo de recipiente

Se elaboró el recipiente de la Figura 25-2 usando la lámina de fibra de *S. jacquinii* con las características presentadas en la

Tabla 2-2. Se utilizó CMC para adherir los pliegues.

Figura 25-2: Recipiente elaborado a partir de la fibra de *S. jacquinii*.





Tabla 2-2: Condiciones de preparación de la lámina de fibra de *S. jacquinii*

Solución de almidón, glicerol y CMC (AGC)	Solución de almidón de papa: 9% p/v agua destilada
	Glicerol: 30% p/p almidón
	Solución CMC: 20 g/ L agua destilada CMC: 30% p/p almidón
Tipo de fibra	Gruesa
Concentración fibra	50%p/p fibra/almidón
Condiciones de secado de la solución AGC + FIBRA.	Temperatura ambiente con circulación de aire
Superficie de secado de la solución AGC + FIBRA	Recipiente antiadherente con un área superficial de la base de 361 cm ²
Cantidad de solución de AGC + FIBRA agregada al recipiente	275 g
Adhesivo	Solución CMC: 10 g/ L agua destilada

La Figura 26-2, muestra como actualmente se empacan las fresas en el mercado y a su vez se presenta el recipiente obtenido en este trabajo como una alternativa.

Figura 26-2: Fresas en un empaque de icopor y plástico frente a fresas empacadas en el recipiente de fibra de *S. jacquinii*.



El recipiente obtenido es biodegradable y tiene potencial conservante, lo que podría ser una alternativa sostenible para conservar y empacar alimentos perecederos, como frutas. A la vez, debido a su potencial antifúngico frente *F. oxysporum*, empacar aquellas frutas que podrían ser afectadas por este microorganismo, tales como fresas y uchuvas para aumentar su vida útil (Barrero et al., 2012; Henry et al., 2017; Juárez-García et al., 2021; Toloza Moreno, 2014) y puede contribuir a disminuir las pérdidas de alimentos durante la postcosecha y el almacenamiento, debido a que las frutas y verduras constituyen uno de los grupos de alimentos que más se pierde durante esta etapa de la cadena productiva, por efectos de hongos alteradores, según el Ministerio de Salud y Protección Social y la FAO, en 2010 se perdió el 39 % total de la oferta de frutas y verduras de ese año (Departamento Nacional de planeación, 2016).

El desarrollo y la implementación de más propuestas de este tipo, puede ayudar a disminuir el empleo de recipientes de icopor y/o plásticos para alimentos, los cuales constituyen un problema ambiental debido a su acumulación en el entorno, tiene un impacto negativo en la de salud del consumidor, debido a que estos materiales contienen compuestos tóxicos como bisfenol A, estireno y ftalatos, que pueden entrar en contacto con los alimentos.

3. Conclusiones y recomendaciones

3.1 Conclusiones

Este estudio constituye el primer reporte de actividad antimicrobiana y composición fitoquímica de *S. jacquini* porque las hojas de esta especie presentan actividad antimicrobiana frente a microorganismos causantes de intoxicaciones y/o alteradores de los alimentos, lo cual es consistente con el conocimiento tradicional. La validación de las propiedades conservantes de las hojas de bijao, puede promover el uso de ellas tanto a nivel tradicional como más tecnificado.

Los extractos etanólicos de *S. jacquini* obtenidos por percolación y Soxhlet mostraron actividad antimicrobiana, siendo más activo el extracto obtenido por percolación. La actividad biológica se atribuyó al contenido de compuestos fenólicos, debido a la presencia de orientina, kaempferol y ácido vanílico. Además, la fracción soluble en diclorometano fue la que presentó mayor potencial antimicrobiano en comparación con las fracciones de mayor y menor polaridad. El fraccionamiento por columna de la fracción de diclorometano condujo a la detección de ácido clorogénico, ácido rosmarínico y ácido carnósico en la fracción más activa, la cual corresponde a una de las fracciones con mayor polaridad dentro de las 13 obtenidas.

Un prototipo de recipiente biodegradable y con propiedad conservante fue obtenido a partir de la fibra de *S. jacquini* reforzado con almidón de papa, CMC y glicerol. Los hallazgos mostraron que el aumento de la concentración de fibra del 40 al 50% p/p de fibra/almidón produjeron un aumento en la resistencia a romperse de las láminas. Sin embargo, las

muestras con un contenido de fibra mayor al 60% p/p de fibra/almidón mostraron una disminución en las propiedades mecánicas. En cuanto a las condiciones de preparación del material de empaque, se requiere una temperatura homogénea y una humedad controlada durante el secado de las muestras, para así obtener una distribución uniforme de la matriz de almidón, CMC y glicerol en la fibra y buenas propiedades mecánicas en la lámina.

Es necesario realizar más estudios como el actual, con el fin de reconocer las tradiciones culinarias en Colombia y proyectarlas como una estrategia de conservación de los ecosistemas, especialmente sobre otras especies que han sido usadas tradicionalmente para envolver alimentos en América y especialmente en Colombia donde existe tanta diversidad de plantas y en donde se han reportado alrededor de 136 especies usadas para envolver alimentos (Montaño Montaño et al., 2020).

Finalmente, esta investigación da cuenta del potencial de la especie *S. jacquinii* como alternativa promisoría para el manejo de microorganismos fitopatógenos y como material de empaque biodegradable y conservante con menores efectos nocivos sobre la salud humana y el medio ambiente.

3.2 Recomendaciones

Es necesario hacer pruebas citotóxicas de los extractos y/o fracciones obtenidas en este trabajo para conocer el efecto sobre la salud humana. Además, se considera importante evaluar la fracción más activa (F2-10) frente a otros microorganismos patógenos, como es el caso del *Campylobacter*, muy común en el cerdo y el pollo, con el fin de ampliar el tipo de alimentos para los cuales el recipiente biodegradable y conservante se pueda usar.

En cuanto al recipiente, se sugiere utilizar otros métodos para la obtención de la fibra de *S. jacquinii*, con el propósito de obtener una fibra con mejores propiedades mecánicas. Además, se recomienda evaluar diferentes temperaturas de secado de la fibra, mayores que la temperatura ambiente a condiciones controladas de humedad, para profundizar sobre el efecto de la temperatura y la humedad. De esta forma lograr disminuir los tiempos de secado y obtener propiedades mecánicas óptimas.

Los resultados de este trabajo se pueden completar, con una evaluación in vivo de la actividad antifúngica del recipiente al ser usado para empacar alimentos, de esta manera comprobar la efectividad de los compuestos en un ambiente real.

4. Bibliografía

- A, U. O., D. L. B., I. I. S., I. U. D., I. A. T., & Abstract, F. H. (2022). Phytochemical screening and antioxidants investigations of Ethyl Acetate and Acetone Leaf Extracts of *Thaumatococcus daniellii*. *Research Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences (RJPCBS)*, 3(1), 1–006. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6419653>
- Abdullah, Y., Schneider, B., & Petersen, M. (2008). Occurrence of rosmarinic acid, chlorogenic acid and rutin in Marantaceae species. *Phytochemistry Letters*, 1(4), 199–203. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2008.09.010>
- Acosta, S., Vargas, A., & Moreira, C. (2019). Biodegradable-disposable containers made of Achira's leaves (*Canna edulis*) by thermoconforming. *Proceedings of the LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education and Technology, 2019-July*. <https://doi.org/10.18687/LACCEI2019.1.1.358>
- Adeodato Vieira, M. G., Mariana, A. S., Oliveirados Santos, L., & Masumi Beppu, M. (2011). *Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review | Elsevier Enhanced Reader*. <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0014305710004763?token=1F4ADB097526F145173618029B78151D9488F6EB1F31F6C527D868C160455E2E1ECFD36E70FB732309CCC17917E99745&originRegion=us-east-1&originCreation=20210424163222>
- Adeogun, O., Adekunle, A., & Ashafa, A. (2016a). Chemical composition, lethality and antifungal activities of the extracts of leaf of *Thaumatococcus daniellii* against foodborne fungi. <https://cyberleninka.org/article/n/696979/viewer>
- Adeogun, O. O., Adekunle, A. A., Adongbede, E. M., & Ashafa, T. A. (2017). Chemical Composition, Toxicity and Antifungal Activities of *Megaphrynium macrostachyum* (K. Schum) Leaf Extract against Foodborne Fungi. *Notulae Scientia Biologicae*, 9(3), 361–370. <https://doi.org/10.15835/NSB9310121>
- Adesegun O Onanuga, & Ganiyat K Oloyede. (2022). Phytochemical analysis and antifungal activity of *Costus lucanusianus* J. Braun & K. Schum aerial and rhizome crude extracts. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 18(2), 215–223. <https://doi.org/10.30574/GSCBPS.2022.18.2.0068>
- Aguirre M, R., Tomás Ch, G., Huamán M, J., Galarreta D, H., & Ccaccia A, C. (2010). Separación, identificación y cuantificación de taninos de la *Calathea lutea* "bijao." *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 13(1), 64–66. <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4564>

- Aijaz, M., Keserwani, N., Yusuf, M., Ansari, N. H., Ushal, R., & Kalia, P. (2022). Chemical, Biological, and Pharmacological Prospects of Caffeic Acid. *13*(4), 324. <https://doi.org/10.33263/BRIAC134.324>
- Ajiboye, T. O., Habibu, R. S., Saidu, K., Haliru, F. Z., Ajiboye, H. O., Aliyu, N. O., Ibitoye, O. B., Uwazie, J. N., Muritala, H. F., Bello, S. A., Yusuf, I. I., & Mohammed, A. O. (2017). Involvement of oxidative stress in protocatechuic acid-mediated bacterial lethality. *MicrobiologyOpen*, *6*(4). <https://doi.org/10.1002/MBO3.472>
- Al-Amiery, A. A., Al-Majedy, Y. K., Amir, A., Kadhum, H., & Mohamad, A. B. (2017). Coumarins: The Antimicrobial agents. *Systematic Reviews in Pharmacy*, *8*. <https://doi.org/10.5530/srp.2017.1.11>
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Phenolic Compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & Function*, *12*(1), 14-29. <https://doi.org/10.1039/d0fo02324h>
- Albuja Landi, A. K., Gallegos, J., Arguello Hernández, P., & Vargas Vargas, P. (2020). Evaluación de la calidad microbiológica del queso de hoja tradicional de Ecuador elaborado artesanal e industrialmente. *An Real Acad Farm*, 117–124. https://analesranf.com/articulo/8602_03/
- Ali, H., & Dixit, S. (2012). In vitro antimicrobial activity of flavanoids of *Ocimum sanctum* with synergistic effect of their combined form. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *2*(SUPPL.1). [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60189-3](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60189-3)
- Almada-Ruiz, E., Martínez-Téllez, M. Á., Hernández-Álamos, M. M., Vallejo, S., Primo-Yúfera, E., & Vargas-Arispuro, I. (2003). Fungicidal potential of methoxylated flavones from citrus for in vitro control of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of anthracnose disease in tropical fruits. *Pest Management Science*, *59*(11), 1245–1249. <https://doi.org/10.1002/PS.747>
- Alonso-Castro, A. J., Zapata-Morales, J. R., González-Chávez, M. M., Carranza-Álvarez, C., Hernández-Benavides, D. M., & Hernández-Morales, A. (2016). Pharmacological effects and toxicity of *Costus pulverulentus* C. Presl (Costaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, *180*, 124–130. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2016.01.011>
- Alvarado-Martinez, Z., Bravo, P., Kennedy, N. F., Krishna, M., Hussain, S., Young, A. C., & Biswas, D. (2020). Antimicrobial and Antivirulence Impacts of Phenolics on *Salmonella Enterica Serovar Typhimurium*. *Antibiotics*, *9*(10), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS9100668>
- Apagüño Arévalo, C. A., & Tamani Guerra, D. L. (2020). Estudio tóxico y actividad antibacteriana de hojas de *Calathea lutea*. <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/7486>

- Arana, J. L. A., & Naccha, J. C. R. (2017). Antimicrobianos Químicos en la Industria Alimentaria.
<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10014>
- Aslam, S. N., Stevenson, P. C., Kokubun, T., & Hall, D. R. (2009). Antibacterial and antifungal activity of cicerfuran and related 2-arylbenzofurans and stilbenes. *Microbiological Research*, *164*(2), 191–195.
<https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2006.11.012>
- Aziz, N. H., Farag, S. E., Mousa, L. A. A., & Abo-Zaid, M. A. (1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*, *93*(374), 43–54. <https://europepmc.org/article/med/9670554>
- Azwanida, N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, *04*(03).
<https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Badiuzaman, F. A., Amini, M. H. M., Sulaiman, N. S., Mohamed, M., Sobri, S. A., Masri, M. N., & Bakar, M. B. A. (2022). Preliminary characterization of methanolic and ethanolic extract of *Musa acuminata* leaves. *AIP Conference Proceedings*, *2454*.
<https://doi.org/10.1063/5.0078311>
- Bais, H. P., Walker, T. S., Schweizer, H. P., & Vivanco, J. M. (2002). Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. *Plant Physiology and Biochemistry*, *40*(11), 983–995.
[https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(02\)01460-2](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01460-2)
- Balvanera, P. (2012). Los servicios ecosistémicos que ofrecen los bosques tropicales.
<http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?id=709>
- Barrero, L. S., Bernal, A., Navas, A., Rodríguez, A., López, C., Gonzáles, C., Passaro, C., Wilson, C., Uribe, D., Fischer, G., Arévalo, H., Muñoz, J. E., Simbaqueba, J., Giovannoni, J., Melgarejo, L. M., Rodríguez, M. L., Rodríguez, M. X., Lobo, M., Gómez, M., ... Cotes, A. M. (2012). Generación de valor para el desarrollo competitivo del cultivo de la uchuva como modelo de bioprospección de frutas en Colombia. *Bioprospección Para El Desarrollo Del Sector Agropecuario De Colombia*, 120–135.
- Basiak, E., Lenart, A., & Debeaufort, F. (2017). Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, *98*, 348–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.122>
- BATE-SMITH, E. C. (1968). The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*, *60*(383), 325–356.
<https://doi.org/10.1111/J.1095-8339.1968.TB00094.X>

- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardised single disk method. *Amer J Clin Pathol*, 45(4), 493–496.
- Bernal, R., Gradstein, M., Gradstein, S., Celis, M., Gradstein, S., Pacheco, M., & Orozco, C. (2019). Catálogo de plantas y líquenes de Colombia. <http://catalogoplantasdecolombia.unal.edu.co/es/resultados/especie/pie%20jacquiniibin>
- bin Rahmani, M., KIEWI, R., Lajis, N. H., Othman, R., & Toia, R. F. (1985). A Contribution to the Phytochemical Survey of Peninsular Malaysia. *Pertanika*, 8, 347–357.
- Boba, A., Kostyn, K., Kostyn, A., Wojtasik, W., Dziadas, M., Preisner, M., Szopa, J., & Kulma, A. (2017). Methyl salicylate level increase in flax after *Fusarium oxysporum* infection is associated with phenylpropanoid pathway activation. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1951. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.01951/BIBTEX>
- Bolade, O. P., Williams, A. B., & Benson, N. U. (2021). Dataset on analytical characterization of bioactive components from *Azadirachta indica*, *Canna indica*, *Magnifera indica* and *Moringa oleifera* leaf extracts and their applications in nanoparticles biosynthesis. *Data in Brief*, 38. <https://doi.org/10.1016/J.DIB.2021.107407>
- Buzzini, P., Arapitsas, P., Goretti, M., Branda, E., Turchetti, B., Pinelli, P., Ieri, F., & Romani, A. (2008). Antimicrobial and Antiviral Activity of Hydrolysable Tannins. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8(12), 1179–1187. <https://doi.org/10.2174/138955708786140990>
- Cano, A., Jiménez, A., Cháfer, M., González, C., & Chiralt, A. (2014). Effect of amylose: amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. *Carbohydrate Polymers*, 111, 543–555. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.075>
- Cantrell, C. L., Schrader, K. K., Mamonov, L. K., Sitpaeva, G. T., Kustova, T. S., Dunbar, C., & Wedge, D. E. (2005). Isolation and identification of antifungal and antialgal alkaloids from *Haplophyllum sieversii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7741–7748. <https://doi.org/10.1021/JF051478V>
- Casciaro, B., Mangiardi, L., Cappiello, F., Romeo, I., Loffredo, M. R., Iazzetti, A., Calcaterra, A., Goggiamani, A., Ghirga, F., Mangoni, M. L., Botta, B., & Quaglio, D. (2018). Naturally-Occurring Alkaloids of Plant Origin as Potential Antimicrobials against Antibiotic-Resistant Infections. <https://doi.org/10.3390/molecules25163619>
- Castellanos, O. F., Fúquene M, A. M., Fonseca R, S. L., Ramírez M, D. C., Giraldo T, P., & Valencia, M. F. (2011). Estudio de La Cadena Productiva de La Guayaba-Bocadillo en La Hoya Del Río Suárez (Santander). <https://es.scribd.com/doc/80296639/Estudio-de-la-Caena-Productiva-de-la-Guayaba-Bocadillo-en-la-Hoya-del-Rio-Suarez-Santander>

- Cecilia, M., & Blanco, S. (2017). Enfermedades transmitidas por alimentos, Colombia, 2017.
- Chandra, H., Bishnoi, P., Yadav, A., Patni, B., Mishra, A. P., & Nautiyal, A. R. (2017). Antimicrobial Resistance and the Alternative Resources with Special Emphasis on Plant-Based Antimicrobials—A Review. *Plants*, 6(2), 457–462. <https://doi.org/10.3390/PLANTS6020016>
- Che Sulaiman, I. S., Basri, M., Fard Masoumi, H. R., Chee, W. J., Ashari, S. E., & Ismail, M. (2017). Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 54. <https://doi.org/10.1186/S13065-017-0285-1>
- Chen, Z., Liang, J., Zhang, C., & Rodrigues, C. J. (2006). Epicatechin and catechin may prevent coffee berry disease by inhibition of appressorial melanization of *Colletotrichum kahawae*. *Biotechnology Letters*, 28(20), 1637–1640. <https://doi.org/10.1007/S10529-006-9135-2>
- Chiruvella, K. K., Mohammed, A., Dampuri, G., Gopal Ghanta, R., Raghavan, S. C., & Gopal, G. (2007). Phytochemical and Antimicrobial Studies of Methyl Angolensate and Luteolin-7-O-glucoside Isolated from Callus Cultures of *Soymida febrifuga*. *International Journal of Biomedical Science : IJBS*, 3(4), 269. [/pmc/articles/PMC3614660/](https://doi.org/10.1007/S10529-006-9135-2)
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W., & Lin, Y. (1998). Tannins and human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6), 421–464. <https://doi.org/10.1080/10408699891274273>
- Cogollo, Á., Suárez, L. S., Robles, C., & Benítez R, D. (2007). Identificación, caracterización del hábitat, conservación y uso de plantas de la familia marantaceae en la jurisdicción de Corantioquia.
- Cortez Solis, J. P. (2006). Técnicas de conservación de los recursos pesqueros en la Amazonia peruana. *Folia Amazónica*, 2(1–2), 87. <https://doi.org/10.24841/fa.v2i1-2.106>
- Cotoras, M., Garcia, C., Lagos, C., Folch, C., & Mendoza, L. (2001). Antifungal activity on *botrytis cinerea* of flavonoids and diterpenoids isolated from the surface of *Pseudognaphalium* spp. *Boletín de La Sociedad Chilena de Química*, 46(4), 433–440. <https://doi.org/10.4067/S0366-16442001000400007>
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564/FORMAT/EPUB>
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of*

- Antimicrobial Agents*, 44(5), 377–386.
<https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2014.06.001>
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005a). Antimicrobial activity of flavonoids. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 26, Issue 5, pp. 343–356). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- da Silva, B. P., Bernardo, R. R., & Parente, J. P. (2000). Flavonol glycosides from *Costus spicatus*. *Phytochemistry*, 53(1), 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00441-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00441-0)
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181. <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2011.08.007>
- Daoubi, M., Durán-Patrón, R., Hmamouchi, M., Hernández-Galán, R., Benharref, A., & Collado, I. G. (2004). Screening study for potential lead compounds for natural product-based fungicides: I. Synthesis and in vitro evaluation of coumarins against *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science*, 60(9), 927–932. <https://doi.org/10.1002/ps.891>
- Dastidar, S. G., Manna, A., Kumar, K. A., Mazumdar, K., Dutta, N. K., Chakrabarty, A. N., Motohashi, N., & Shirataki, Y. (2004). Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23(1), 99–102. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.06.003>
- Daud, J. M., Sultan, J., Shah, A., Hawa, H., Hassan, M., Hashim, R., & Taher, M. (2011). Phytochemicals Screening and Antioxidant Activities of Malaysian *Donax Grandis* Extracts. *European Journal of Scientific Research*, 61(4), 572–577. <http://www.eurojournals.com/ejsr.htm>
- de Farias Silva, D., Simões Bezerra, P. H., Lopes de Sousa Ribeiro, L., Viana, M. D. M., de Lima, A. A., da Silva Neto, G. J., Teixeira, C. S., Machado, S. S., Alexandre Moreira, M. S., Delatorre, P., Campesatto, E. A., & Rocha, B. A. M. (2021). *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe leaves fractions have potential to reduce effects of inflammatory diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 268. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2020.113607>
- de Filippis, B., Ammazalorso, A., Amoroso, R., & Giampietro, L. (2019). Stilbene derivatives as new perspective in antifungal medicinal chemistry. *Drug Development Research*, 80(3), 285–293. <https://doi.org/10.1002/DDR.21525>
- de Oro Torres, A. J. (2003). Evaluación de tres variedades de caña panelera -*Saccharum robustum*- y tratamiento de la hoja del bijao como empaque de la panela “criolla” en los municipios de Galeras y San Marcos - Departamento de Sucre. Universidad de Sucre.

- Decologia.info. (2019). Contaminación plástica, Definición, Causas, efectos, Prevención y más. <https://decologia.info/medio-ambiente/contaminacion-plastica/>
- del Aguila Torres, C. G. (2014). Comportamiento del bijao (*Calathea inocephala* (kuntze) h. kenn. & nicolson) bajo diferentes técnicas de propagación rizomática y fertilización con molimax en campo definitivo, Tingo María. Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- Deng, Y., & Nicholson, R. A. (2005). Antifungal properties of surangin B, a coumarin from *Mammea longifolia*. *Planta Medica*, 71(4), 364–365. <https://doi.org/10.1055/S-2005-864105/ID/8>
- Departamento Nacional de planeación. (2016). Pérdida y desperdicio de alimentos en Colombia. www.dnp.gov.co
- Dewanjee, S., Gangopadhyay, M., Bhattacharya, N., Khanra, R., & Dua, T. K. (2015). Bioautography and its scope in the field of natural product chemistry. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 5(2), 75–84. <https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2014.06.002>
- Díaz Piedrahita, S. (2012). Las hojas de las plantas como envoltura de alimento. Ministerio De Cultura: Dirección de Patrimonio.
- Din, M. I., Ghaffar, T., Najeeb, J., Hussain, Z., Khalid, R., & Zahid, H. (2020). Potential perspectives of biodegradable plastics for food packaging application-review of properties and recent developments. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 37(4), 665–680. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1718219>
- Ding, C. F., Ma, H. X., Yang, J., Qin, X. J., Njateng, G. S. S., Yu, H. F., Wei, X., Liu, Y. P., Huang, W. Y., Yang, Z. F., Wang, X. H., & Luo, X. D. (2018). Antibacterial Indole Alkaloids with Complex Heterocycles from *Voacanga africana*. *Organic Letters*, 20(9), 2702–2706. https://doi.org/10.1021/ACS.ORGLETT.8B00913/SUPPL_FILE/OL8B00913_SI_001.PDF
- Domene-López, D., García-Quesada, J. C., Martín-Gullon, I., & Montalbán, M. G. (2019). Influence of Starch Composition and Molecular Weight on Physicochemical Properties of Biodegradable Films. *Polymers 2019*, Vol. 11, Page 1084, 11(7), 1084. <https://doi.org/10.3390/POLYM11071084>
- Dong, H., Wu, M., Xiang, S., Song, T., Li, Y., Long, B., Feng, C., & Shi, Z. (2022). Total Syntheses and Antibacterial Evaluations of Neocyclomorusin and Related Flavones. *Journal of Natural Products*, 85(9), 2217–2225. https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.2C00658/SUPPL_FILE/NP2C00658_SI_001.PDF

- Dong, S., Feng, S., Liu, F., Li, R., Li, W., Liu, F., Shi, G., Chen, L., & Zhang, Y. (2021). Factors influencing the adhesive behavior of carboxymethyl cellulose-based hydrogel for food applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 179, 398–406. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2021.03.027>
- E Azzaz, N. A., & H El-khateeb, A. Y. (2010). Antifungal effect of crude methanolic extract and its fractions of *Jatropha curcas* L., leaves. *J. Biol. Chem. Environ. Sci*, 5(3), 671–680.
- Ekambaram, S. P., Perumal, S. S., & Balakrishnan, A. (2016). Scope of Hydrolysable Tannins as Possible Antimicrobial Agent. *Phytotherapy Research : PTR*, 30(7), 1035–1045. <https://doi.org/10.1002/PTR.5616>
- Esperanza, L., Forero, P., Reynel, H., Bernal, G., Sanabria, E. K., Jairo, J., & Ríos, C. (2006). Bijao: Un empaque para la certificación de origen del bocadillo veleño.
- Faizi, S., & Muhammad, A. (1999). Shamimin: A new flavonol C-glycoside from leaves of *Bombax ceiba*. *Planta Medica*, 65(4), 383–385. <https://doi.org/10.1055/S-2006-960796>
- Frias, A., Braun, G., Ramos, H., Porto, T., Ambrósio, S., & Said, S. (2012). Anti-phytopathogen potential of diterpenes against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium verticilloides*. *Planta Medica*, 78(11), PI421. <https://doi.org/10.1055/S-0032-1321108>
- Galeotti, F., Lanzotti, V., D'aquila, F., Amoretti, M., & Curir, P. (2007). Evidence for a forma specialis specific effect of antifungal flavonols in *Fusarium oxysporum*. *Acta Horticulturae*, 743, 121–125. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2007.743.16>
- Galgani, L., & Loiselle, S. A. (2021). Plastic pollution impacts on marine carbon biogeochemistry. In *Environmental Pollution* (Vol. 268, p. 115598). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115598>
- García Ibarra, V., Sendón, R., & Rodríguez-Bernaldo De Quirós, A. (2016). Antimicrobial Food Packaging Based on Biodegradable Materials. In *Antimicrobial Food Packaging* (pp. 363–384). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800723-5.00029-2>
- Garcia, R., Eliomara, ;, Alves, S. S., Santos, M. P., Glória, ;, Viégas Aquije, M. F., Alberto, ; A, Fernandes, R., dos Santos, R. B., Ventura, J. A., & Fernandes, P. M. B. (2008). Antimicrobial activity and potential use of monoterpenes as tropical fruits preservatives. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 163–168.

- Ghanbarzadeh, B., Almasi, H., & Entezami, A. A. (2010). Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4), 697–702. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2010.06.001>
- Gideon, E., Chinweizu, A. &, Udobi, E., Asuquo, E. G., & Udobi, C. E. (2016). Antibacterial and toxicity studies of the ethanol extract of *Musa paradisiaca* leaf. *Cogent Biology*, 2(1), 1219248. <https://doi.org/10.1080/23312025.2016.1219248>
- Giuliani, A., Zuccarini, M., Cichelli, A., Khan, H., & Reale, M. (2020). Critical review on the presence of phthalates in food and evidence of their biological impact. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(16), 1–43. <https://doi.org/10.3390/ijerph17165655>
- Glicksman, Martin. (1982). *Food hydrocolloids*.
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. In *Phytochemistry Reviews* (Vol. 18, Issue 1, pp. 241–272). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>
- Guerra Gómez, L. M. (2018). *Cocina y alimento Miradas en la formación de maestros, el cine y la literatura*. Universidad de Antioquia.
- Gull, I., Saeed, M., Shaukat, H., Aslam, S. M., Samra, Z. Q., & Athar, A. M. (2012). Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 11(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-11-8/FIGURES/2>
- Gutierrez-Lugo, M. T., Wang, Y., Franzblau, S. G., Suarez, E., & Timmermann, B. N. (2005). Antitubercular sterols from *Thalia multiflora* Horkel ex Koernicke. *Phytotherapy Research : PTR*, 19(10), 876–880. <https://doi.org/10.1002/PTR.1731>
- Hafiz Ibrahim, M., & Amalina Mohd Zain, N. (2017). Nutritional composition and antioxidant activity of leaves and rhizomes of bemban (*Donax grandis*) grown under glasshouse conditions. *Annual Research and Review in Biology*, 17(3). <https://doi.org/10.9734/ARRB/2017/36041>
- Hamid, A. A., Aliyu, M. A., Abubakar, L. Z., Mukadam, A. A., Shehu, A., Egharevba, G., Adisa, M. J., Ajibade, S. O., Zubair, A. O., & Fagbohun, E. O. (2017). *Thaumatococcus daniellii* leaves: its chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities. *Ife Journal of Science*, 19(2), 409. <https://doi.org/10.4314/IJS.V19I2.21>
- Henry, P. M., Kirkpatrick, S. C., Islas, C. M., Pastrana, A. M., Yoshisato, J. A., Koike, S. T., Daugovish, O., & Gordon, T. R. (2017). The population of *Fusarium oxysporum* f. sp. fragariae, cause of fusarium wilt of strawberry, in California. *Plant Disease*, 101(4), 550–556. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-16-1058-RE/ASSET/IMAGES/LARGE/PDIS-07-16-1058-RE_T3.JPEG

- Higuera-Mora, N. C., González-Orozco, A., Suspe-Adame, P. A., Medina-Rojas, I. D., Sierra-Roncancio, S. S., & Posada-Almanza, R. H. (2020). Socio-ecological relations associated with bijao producing areas (*Calathea lutea*) in central-eastern Colombia. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(3).
- Igboasoiji; C. A., Ajibola., D., & Bassey., A. E. (2015). Phytochemistry, Antimicrobial Potential and Proximate Evaluation of *Marantochloa Cuspidata* (Marantaceae). *International Journal of Innovative Research and Development*, 4(9).
<https://doi.org/10.1093/jac/48.4.487>
- Islam, S., Shafiullah, & Ahmad, M. (1991). Mutagenic activity of certain synthetic steroids: structural requirement for the mutagenic activity in *Salmonella* and *E. coli*. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 259(2), 177–187. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(91\)90051-M](https://doi.org/10.1016/0165-1218(91)90051-M)
- Jacob, M., Thomas, S., & Varughese, K. T. (2004). Mechanical properties of sisal/oil palm hybrid fiber reinforced natural rubber composites. *Composites Science and Technology*, 64(7–8), 955–965. [https://doi.org/10.1016/S0266-3538\(03\)00261-6](https://doi.org/10.1016/S0266-3538(03)00261-6)
- Jiang, L., Wu, P., Yang, L., Liu, C., Guo, P., Wang, H., Wang, S., Xu, F., Zhuang, Q., Tong, X., Liu, P., & Luo, L. (2021). Transcriptomics and metabolomics reveal the induction of flavonoid biosynthesis pathway in the interaction of *Stylosanthes-Colletotrichum gloeosporioides*. *Genomics*, 113(4), 2702–2716.
<https://doi.org/10.1016/J.YGENO.2021.06.004>
- Jiménez Marco, A. (2013). Propiedades de films de almidón de maíz. Influencia de la incorporación de lípidos, biopolímeros y compuestos bioactivos. *Riunet*.
<https://doi.org/10.4995/THESIS/10251/28214>
- Jones, W. P., & Kinghorn, A. D. (2012). Extraction of plant secondary metabolites. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 864, 341–366.
https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_13
- Joselyn Selna, A. C. (2022). Obtención de nanofibras de celulosa a partir del raquisde banana aplicado a la remoción de azul de metileno.
- Juárez-García, R. A., Sanzón-Gómez, D., Ramírez-Santoyo, L. F., Ruiz-Nieto, J. E., González-Castañeda, J., & Jesús Hernández-Ruiz, Y. (2021). Áreas geográficas susceptibles a *Fusarium oxysporum* en el cultivo de fresa en guanajuato, México. *Bioagro, ISSN-e 2521-9693, ISSN 1316-3361, Vol. 33, N°. 1, 2021, Págs. 51-58, 33(1), 51–58*. <https://doi.org/10.51375/bioagro331.6>
- Jumaidin, R., Diah, N. A., Ilyas, R. A., Alamjuri, R. H., & Yusof, F. A. M. (2021). Processing and Characterisation of Banana Leaf Fibre Reinforced Thermoplastic

- Cassava Starch Composites*. *Polymers*, 13(9).
<https://doi.org/10.3390/POLYM13091420>
- Kabara, J. J. (1984). Antimicrobial agents derived from fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(2), 397–403.
<https://doi.org/10.1007/BF02678802>
- Kabara, J. J., Swieczkowski, D. M., Conley, A. J., & Truant, J. P. (1972). Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2(1), 23–28. <https://doi.org/10.1128/AAC.2.1.23>
- Kabir, F., Katayama, S., Tanji, N., & Nakamura, S. (2014). Antimicrobial Effects of Chlorogenic Acid and Related Compounds. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 57(3), 359–365. <https://doi.org/10.1007/s13765-014-4056-6>
- Kajiya, K., Hojo, H., Suzuki, M., Nanjo, F., Kumazawa, S., & Nakayama, T. (2004). Relationship between Antibacterial Activity of (+)-Catechin Derivatives and Their Interaction with a Model Membrane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1514–1519. <https://doi.org/10.1021/JF0350111>
- Karl Egil, M., Wollenweber, E., & Luis, D. Gó. P. (1979). The Wax of *Calathea Lutea* (Marantaceae). *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 34(1–2), 157–158. <https://doi.org/10.1515/ZNC-1979-1-231>
- Karuppiyah, P., & Mustaffa, M. (2013). Antibacterial and antioxidant activities of Musa sp. leaf extracts against multidrug resistant clinical pathogens causing nosocomial infection Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. *Document Heading Asian Pac J Trop Biomed*, 3(9), 737–742. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60148-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60148-3)
- Khalid, M., Saeed-ur-Rahman, Bilal, M., & HUANG, D. feng. (2019). Role of flavonoids in plant interactions with the environment and against human pathogens — A review. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(1), 211–230. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62555-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62555-4)
- Klutse, V., Addo Akwetey, S., Abena, P., Opare, A., & Kwakye-Nuako, G. (2021). The Potential Risk of the Used *Thaumatococcus danielli* (Benn) Leaves in Food Packaging Process in Transmission of Antibiotic Resistant Pathogens in Ghana. *International Journal of TROPICAL DISEASE & Health*, 17–26.
<https://doi.org/10.9734/IJTDH/2021/V42I630463>
- Kofujita, H., Fujino, Y., Ota, M., & Takahashi, K. (2006). Antifungal diterpenes from the bark of *Cryptomeria japonica* D. Don. *Holzforschung*, 60(1), 20–23.
<https://doi.org/10.1515/HF.2006.004/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
- Kumar, R., Saha, A., & Saha, D. (2012). A new antifungal coumarin from *Clausena excavata*. *Fitoterapia*, 83(1), 230–233. <https://doi.org/10.1016/J.FITOTE.2011.11.003>

- Kumar, S. N., & Nambisan, B. (2013). Antifungal Activity of Diketopiperazines and Stilbenes Against Plant Pathogenic Fungi In Vitro. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 2013 172:2, 172(2), 741–754. <https://doi.org/10.1007/S12010-013-0567-6>
- Kumar, S. S., Kumar, Y., Khan, M. S. Y., & Gupta, V. (2010). New antifungal steroids from *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kützinger. *Natural Product Research*, 24(15), 1481–1487. <https://doi.org/10.1080/14786410903245233>
- Lagnika, L., Attioua, B., Weniger, B., Kaiser, M., Sanni, A., & Vonthron-Senecheau, C. (2008). Pharmaceutical Biology Phytochemical Study and Antiprotozoal Activity of Compounds Isolated from *Thalia geniculata*. *Pharmaceutical Biology*, 46(3), 162–165. <https://doi.org/10.1080/13880200701499000>
- Li, R., Hu, H. bin, Li, X. F., Zhang, P., Xu, Y. K., Yang, J. J., & Wang, Y. F. (2015a). Essential oils composition and bioactivities of two species leaves used as packaging materials in Xishuangbanna, China. *Food Control*, 51, 9–14. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2014.11.009>
- LianTao, L., Chang, M., Qian, Z., XinRao, S., ZiJie, Z., HanXiao, L., GuoBin, S., Jie, W., & ShuaiCheng, W. (2017). Inhibition effect of kaempferol on the invasion of *Salmonella typhimurium* to chicken intestinal epithelium cells at subinhibitory concentrations. *Zhongguo Yufang Shouyi Xuebao / Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 39(7), 534–539.
- Ling, N., Zhang, W., Wang, D., Mao, J., & Huang, Q. (2013). Root Exudates from Grafted-Root Watermelon Showed a Certain Contribution in Inhibiting *Fusarium oxysporum* f. sp. niveum. *PLoS ONE*, 8(5), 63383. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063383>
- Ling, N., Zhang, W., Wang, D., Mao, J., Huang, Q., Guo, S., & Shen, Q. (2013). Root Exudates from Grafted-Root Watermelon Showed a Certain Contribution in Inhibiting *Fusarium oxysporum* f. sp. niveum. *PLOS ONE*, 8(5), e63383. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0063383>
- Liu, P., Wang, R., Kang, X., Cui, B., & Yu, B. (2018). Effects of ultrasonic treatment on amylose-lipid complex formation and properties of sweet potato starch-based films. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44, 215–222. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2018.02.029>
- Lorençone, B. R., Guarnier, L. P., Palozzi, R. A. C., Romão, P. V. M., Marques, A. A. M., Klíder, L. M., Souza, R. I. C., Santos, A. C. dos, Tirloni, C. A. S., Cassemiro, N. S., Silva, D. B., Budel, J. M., & Junior, A. G. (2021). Atheroprotective Properties of *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. in Female Rats. *Life (Basel, Switzerland)*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/LIFE11030212>

- Luo, S., Li, J., Zhou, Y., Liu, L., Feng, S., Chen, T., Zhou, L., & Ding, C. (2021). Evaluation on bioactivities of triterpenes from *Bergenia emeiensis*. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(7). <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2021.103225>
- M. Calderon-Montano, J., Burgos-Moron, E., Perez-Guerrero, C., & Lopez-Lazaro, M. (2011). A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(4), 298–344. <https://doi.org/10.2174/138955711795305335>
- Mahizan, N. A., Yang, S. K., Moo, C. L., Song, A. A. L., Chong, C. M., Chong, C. W., Abushelaibi, A., Erin Lim, S. H., & Lai, K. S. (2019). Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 2631, 24(14), 2631. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24142631>
- Maisch, N. A., Bereswill, S., & Heimesaat, M. M. (2022). Antibacterial effects of vanilla ingredients provide novel treatment options for infections with multidrug-resistant bacteria-A recent literature review. <https://doi.org/10.1556/1886.2022.00015>
- Malmir, S., Montero, B., Rico, M., Barral, L., Bouza, R., & Farrag, Y. (2018). Effects of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microparticles on morphological, mechanical, thermal, and barrier properties in thermoplastic potato starch films. *Carbohydrate Polymers*, 194, 357–364. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2018.04.056>
- Marco, A. J., Chiralt Boix, A., Talens, P., María, O., Fabra, J., Valencia, R., & De, M. (2013). Propiedades de films de almidón de maíz. influencia de la incorporación de lídos, biopolímeros y compuestos bioactivos.
- Marei, G. I. K., Abdel Rasoul, M. A., & Abdelgaleil, S. A. M. (2012). Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(1), 56–61. <https://doi.org/10.1016/J.PESTBP.2012.03.004>
- Martínez, G., Regente, M., Jacobi, S., del Rio, M., Pinedo, M., & de la Canal, L. (2017). Chlorogenic acid is a fungicide active against phytopathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 30–35. <https://doi.org/10.1016/J.PESTBP.2017.05.012>
- Martínez, M. L., Penci, M. C., Ixtaina, V., Ribotta, P. D., & Maestri, D. (2013). Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of walnut oil under different storage conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 51(1), 44–50. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2012.10.021>
- Mendoza, L., Castro, P., Melo, R., Campos, A. M., Zúñiga, G., Guerrero, J., & Cotoras, M. (2016). Improvement of the antifungal activity against botrytis cinerea of syringic acid, a phenolic acid from grape pomace. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 61(3), 3039–3042. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072016000300006>

- Merh, P. S., Daniel, M., & Sabnis, S. D. (1986). *Chemistry and taxonomy of some members of the zingiberales*. <https://sci-hub.se/https://www.jstor.org/stable/24091176>
- Metsämuuronen, S., & Sirén, H. (2019). Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce. *Phytochemistry Reviews* 2019 18:3, 18(3), 623–664. <https://doi.org/10.1007/S11101-019-09630-2>
- Moawad, A., Hetta, M., Zjawiony, J. K., Jacob, M. R., Hifnawy, M., Marais, J. P. J., & Ferreira, D. (2010). Phytochemical Investigation of *Cycas circinalis* and *Cycas revoluta* Leaflets: Moderately Active Antibacterial Biflavonoids. *Planta Medica*, 76(8), 796. <https://doi.org/10.1055/S-0029-1240743>
- Mohd Daud, J. (2012). Antimicrobial activity of Malaysian *Donax grandis* extracts.
- Montaño Montaño & Berrio Jaramillo (2020). Materiales sostenibles biodegradables para envasado de alimentos: hoja de bijao y hoja de plátano.
- Morales, J., Mendoza, L., & Cotoras, M. (2017). Alteration of oxidative phosphorylation as a possible mechanism of the antifungal action of p-coumaric acid against *Botrytis cinerea*. *Journal of Applied Microbiology*, 123(4), 969–976. <https://doi.org/10.1111/jam.13540>
- Motelica, L., Ficai, D., Ficai, A., Oprea, O. C., Kaya, D. A., & Andronescu, E. (2020). Biodegradable antimicrobial food packaging: Trends and perspectives. *Foods*, 9(10), 1–36. <https://doi.org/10.3390/foods9101438>
- Nandaniya, K., Shah, M., Rajput, K., Shukla, C., & Dhru, B. (2019). Phytochemical screening and antimicrobial activity of leaves of “traveller’s tree” (*Ravenala madagascariensis* Sonn.). *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 10(1), 1–7.
- Nandi, S., & Guha, P. (2018). Modelling the effect of guar gum on physical, optical, barrier and mechanical properties of potato starch based composite film. *Carbohydrate Polymers*, 200, 498–507. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2018.08.028>
- Ncube, L. K., Ude, A. U., Ogunmuyiwa, E. N., Zulkifli, R., & Beas, I. N. (2020). Environmental impact of food packaging materials: A review of contemporary development from conventional plastics to polylactic acid based materials. *Materials*, 13(21), 1–24. <https://doi.org/10.3390/ma13214994>
- Ng, T. B., Ling, J. M. L., Wang, Z. T., Cai, J. N., & Xu, G. J. (1996). Examination of coumarins, flavonoids and polysaccharopeptide for antibacterial activity. *General Pharmacology*, 27(7), 1237–1240. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(95\)02143-4](https://doi.org/10.1016/0306-3623(95)02143-4)
- Nguyen, X. H., Naing, K. W., Lee, Y. S., Moon, J. H., Lee, J. H., & Kim, K. Y. (2015). Isolation and characteristics of protocatechuic acid from *Paenibacillus elgii* HOA73

- against *Botrytis cinerea* on strawberry fruits. *Journal of Basic Microbiology*, 55(5), 625–634. <https://doi.org/10.1002/JOBM.201400041>
- Nilsen-Nygaard, J., Fernández, E. N., Radusin, T., Rotabakk, B. T., Sarfraz, J., Sharmin, N., Sivertsvik, M., Sone, I., & Pettersen, M. K. (2021). Current status of biobased and biodegradable food packaging materials: Impact on food quality and effect of innovative processing technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, December 2020, 1333–1380. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12715>
- Niranjana Prabhu, T., & Prashantha, K. (2018). A review on present status and future challenges of starch based polymer films and their composites in food packaging applications. *Polymer Composites*, 39(7), 2499–2522. <https://doi.org/10.1002/pc.24236>
- Nurain, A., Noriham, A., Zainon, M. N., Wan Saidatul, W., & Khairusy, S. Z. (2013). Comparative study of aqueous and ethanolic aromatic Malaysian herbs extracts using four antioxidant activity assays.
- Oboh, G., Akinyemi, A. J., Oyeleye, I. S., & Williamsnelson, K. (2016). Protective effect of phenolic extracts from two species of miracle berry leaves (*Thaumatococcus daniellii* and *Megaphrynium macrostachyum*) on some pro-oxidant induced oxidative stress in rat pancreas in vitro. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(1), 118–124. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.600119>
- Ojekale, A. B., Makinde, S. C. O., & Osileye, O. (2010a). Phytochemistry and anti-microbial evaluation of *Thaumatococcus danielli*, Benn. (Benth.) leaves. *Nigerian Food Journal*, 25(2). <https://doi.org/10.4314/NIFOJ.V25I2.50858>
- Ojekale, A. B., Makinde, S. C. O., & Osileye, O. (2010b). Phytochemistry and anti-microbial evaluation of *Thaumatococcus danielli*, Benn. (Benth.) leaves. *Nigerian Food Journal*, 25(2). <https://doi.org/10.4314/NIFOJ.V25I2.50858>
- Ojekale, A., Makinde, S. C. O., & Osileye, O. (2007). Phytochemistry and anti-microbial evaluation of *Thaumatococcus danielli*, Benn. (Benth.) leaves. *Nigerian food journal*, 25(2). www.ajol.info/journals/nifoj
- Oliva, A., Meepagala, K. M., Wedge, D. E., Harries, D., Hale, A. L., Aliotta, G., & Duke, S. O. (2003). Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including a new quinolone alkaloid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 890–896. <https://doi.org/10.1021/JF0259361>
- Onifade, A. K., Fadipe, Bello, M. O., Onifade, A. * K., & Bello. (2016). Antifungal and toxicological activities of compounds from traveller's tree (*Ravenala madagascariensis* sonnerat). *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 17(2), 102–109. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v17i2.5>

- Orlo, E., Russo, C., Nugnes, R., Lavorgna, M., & Isidori, M. (2021). Natural methoxyphenol compounds: Antimicrobial activity against foodborne pathogens and food spoilage bacteria, and role in antioxidant processes. *Foods*, *10*(8). <https://doi.org/10.3390/FOODS10081807/S1>
- Osondu, H. A. A., Akinola, S. A., Shoko, T., & Sivakumar, D. (2022). Phenolic compounds suppress anthracnose decay by enhancing antifungal properties and biochemical defence responses in avocado fruit. *Journal of Plant Pathology*, *104*(2), 711–720. <https://doi.org/10.1007/S42161-022-01085-3>
- Özçelik, B., Kartal, M., & Orhan, I. (2011). Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. <Http://Dx.Doi.Org/10.3109/13880209.2010.519390>, *49*(4), 396–402. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.519390>
- Park, H. J., Bunn, J. M., Weller, C. L., Vergano, P. J., & Testin, R. F. (1994). Water vapor permeability and mechanical properties of grain protein-based films as affected by mixtures of polyethylene glycol and glycerin plasticizers. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, *37*(4), 1281–1285. <https://doi.org/10.13031/2013.28208>
- Patra, A. K. (2012). An overview of antimicrobial properties of different classes of phytochemicals. *Dietary Phytochemicals and Microbes*, *9789400739260*, 1–32. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3926-0_1/TABLES/2
- Paz, J. E. W., Contreras, C. R., Munguía, A. R., Aguilar, C. N., & Inungaray, M. L. C. (2018). Phenolic content and antibacterial activity of extracts of *Hamelia patens* obtained by different extraction methods. *Brazilian Journal of Microbiology*, *49*(3), 656–661. <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.03.018>
- Pernin, A., Dubois-Brissonnet, F., Roux, S., Masson, M., Bosc, V., & Maillard, M. N. (2018). Phenolic compounds can delay the oxidation of polyunsaturated fatty acids and the growth of *Listeria monocytogenes*: structure-activity relationships. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *98*(14), 5401–5408. <https://doi.org/10.1002/JSFA.9082>
- Pistelli, L., & Giorgi, I. (2012). Antimicrobial properties of flavonoids. *Dietary Phytochemicals and Microbes*, *9789400739260*, 33–91. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3926-0_2
- Ragasa, C. Y., & Cornelio, K. B. (2013). Triterpenes from *Euphorbia hirta* and their cytotoxicity. *Chinese Journal of Natural Medicines*, *11*(5), 528–533. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(13\)60096-5](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(13)60096-5)

- Rahman, S., Rahmatullah, M., Nandi, J. K., Sultana, S., Rahman, K. M. H., Rahman, S., & Rahman, M. (2014). Oral glucose tolerance, phytochemical screening, acute toxicity and analgesic activity evaluation of leaves of phrynium capitatum. *Rahmatullah et al. World Journal of Pharmaceutical Research*, 3, 35. <https://www.researchgate.net/publication/305710167>
- Rai, P. K., Lee, J., Brown, R. J. C., & Kim, K. H. (2021). Micro- and nano-plastic pollution: Behavior, microbial ecology, and remediation technologies. In *Journal of Cleaner Production* (Vol. 291, p. 125240). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125240>
- Ramírez Valiente, E. del R., & Salazar Miguel, V. F. (2022). Uso medicinal de la especie *Canna indica* “achira” en el control de enfermedades de los pobladores del Centro Poblado de Jesús, Cajamarca – 2021. *Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo*. <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/2145>
- Ramya, R. (2022). GC-MS Analysis of Bioactive Compounds in Ethanolic Leaf Extract of *Hellenia speciosa* (J.Koenig) S.R. Dutta. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(1), 176–186. <https://doi.org/10.1007/S12010-021-03742-2>
- Rasul, M. G. (2018). Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*.
- Rob, M. M., Hossen, K., Iwasaki, A., Suenaga, K., & Kato-Noguchi, H. (2020). Phytotoxic Activity and Identification of Phytotoxic Substances from *Schumannianthus dichotomus*. <https://doi.org/10.3390/plants9010102>
- Rodrigues, N. P., & Bragagnolo, N. (2013). Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC–DAD–MSn. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32(2), 105–115. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2013.09.002>
- Rodríguez Castro, L. P., & Mayorga Quintero, J. S. (2018). Empaque biodegradable de hoja de plátano. <https://www.scribd.com/document/478439580/Tesis-Diseno-de-empaque-para-combo-saludable>
- Rodríguez Vaquero, M. J., Alberto, M. R., & Manca de Nadra, M. C. (2007). Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18(5), 587–593. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2006.02.005>
- Saha, P., Rahman, F. I., Hussain, F., Rahman, S. M. A., & Rahman, M. M. (2022). Antimicrobial Diterpenes: Recent Development From Natural Sources. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 4141. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2021.820312/BIBTEX>
- Sato, Y., Suzaki, S., Nishikawa, T., Kihara, M., Shibata, H., & Higuti, T. (2000). Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity

- against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(3), 483–488. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00265-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00265-8)
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875–3883. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83426-L](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83426-L)
- Sedio, B. E., Spasojevic, M. J., Myers, J. A., Wright, S. J., Person, M. D., Chandrasekaran, H., Dwenger, J. H., Prechi, M. L., López, C. A., Allen, D. N., Anderson-Teixeira, K. J., Baltzer, J. L., Bourg, N. A., Castillo, B. T., Day, N. J., Dewald-Wang, E., Dick, C. W., James, T. Y., Kueneman, J. G., ... Vandermeer, J. H. (2021). Chemical Similarity of Co-occurring Trees Decreases With Precipitation and Temperature in North American Forests. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 317. <https://doi.org/10.3389/FEVO.2021.679638/BIBTEX>
- Sevillano, Á., Rosel, A., Adriana, G., Romainville, C., Eduardo, L., & Peña, F. (2018). Platos Biodegradables Bijao Pack. <http://hdl.handle.net/10757/625417>
- Shaikh, S. S., Bawazir, A. S., & Yahya, B. A. (2022). Phytochemical, Histochemical and In Vitro Antimicrobial Study of Various Solvent Extracts of *Costus speciosus* (J. Koenig) Sm. and *Costus pictus* D. Don. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(2), 145. <https://doi.org/10.4274/TJPS.GALENOS.2021.02058>
- Shen, X. L., Wu, J. M., Chen, Y., & Zhao, G. (2010). Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 285–290. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2009.10.003>
- Simmonds, M. S. J., Stevenson, P. C., & Hanson, F. E. (2019). Rosmarinic acid in *Canna generalis* activates the medial deterrent chemosensory neurone and deters feeding in the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Physiological Entomology*, 44(2), 140–147. <https://doi.org/10.1111/PHEN.12284>
- Simul Bhuyan, M., Venkatramanan, S., Selvam, S., Szabo, S., Maruf Hossain, M., Rashed-Un-Nabi, M., Paramasivam, C. R., Jonathan, M. P., & Shafiqul Islam, M. (2021). Plastics in marine ecosystem: A review of their sources and pollution conduits. In *Regional Studies in Marine Science* (Vol. 41, p. 101539). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101539>
- Singh, R., Bachheti, R. K., Saini, C. K., & Singh, U. (2016). In-vitro antioxidant activity of *Canna indica* extracts using different solvent system. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(6), 53–56. <https://doi.org/10.22159/AJPCR.2016.V9I6.10583>
- Singh, R., & Sawhney, S. K. (1988). Advances in frontier areas of plant biochemistry. <https://lib.icimod.org/record/3567>

- Smyth, T., Ramachandran, V. N., & Smyth, W. F. (2009). A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(5), 421–426. <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2008.10.022>
- Solomon, M. J. L., & Jacob, J. R. (2021). Functionality of insulin plant (*Costus igneus*) leaf extracts. *International Journal of Agricultural Technology 2021 Vol*, 17(6), 2439–2448.
- Song, Q. Y., Qi, W. Y., Li, Z. M., Zhao, J., Chen, J. J., & Gao, K. (2011). Antifungal activities of triterpenoids from the roots of *Astilbe myriantha* Diels. *Food Chemistry*, 128(2), 495–499. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.03.059>
- Steinkellner, S., & Mammerler, R. (2007). Effect of flavonoids on the development of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Journal of Plant Interactions*, 2(1), 17–23. <https://doi.org/10.1080/17429140701409352>
- Suárez-Quiroz, M. L., Taillefer, W., López Méndez, E. M., González-Ríos, O., Villeneuve, P., & Figueroa-Espinoza, M. C. (2013). Antibacterial Activity and Antifungal and Anti-Mycotoxigenic Activities Against *Aspergillus flavus* and *A. ochraceus* of Green Coffee Chlorogenic Acids and Dodecyl Chlorogenates. *Journal of Food Safety*, 33(3), 360–368. <https://doi.org/10.1111/JFS.12060>
- Sun, Z., Zhang, X., Wu, H., Wang, H., Bian, H., Zhu, Y., Xu, W., Liu, F., Wang, D., & Fu, L. (2020). Antibacterial activity and action mode of chlorogenic acid against *Salmonella Enteritidis*, a foodborne pathogen in chilled fresh chicken. *World Journal of Microbiology and Biotechnology 2020 36:2*, 36(2), 1–10. <https://doi.org/10.1007/S11274-020-2799-2>
- Taleb-Contini, S. H., Salvador, M. J., Watanabe, E., Ito, I. Y., & Rodrigues De Oliveira, D. C. (2003). Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two *Chromolaena* species. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 39(4), 403–408. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322003000400007>
- Tarique, J., Sapuan, S. M., Khalina, A., Ilyas, R. A., & Zainudin, E. S. (2022). Thermal, flammability, and antimicrobial properties of arrowroot (*Maranta arundinacea*) fiber reinforced arrowroot starch biopolymer composites for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 213, 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.05.104>
- Thibane, V. S., Pohl, C. H., Kock, J. L. F., & Thibane, V. S. (2011). Antifungal free fatty acids: A Review. <https://www.researchgate.net/publication/266463207>
- Thomazine, M., Carvalho, R. A., & Sobral, P. J. A. (2005). Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. *Journal of Food Science*, 70(3), E172–E176. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07132.x>

- Tingting, W., Tianqi, F., Xinyu, W., Can, Z., Xue, S., Xuming, D., & Jianfeng, W. (2022). Amentoflavone attenuates *Listeria monocytogenes* pathogenicity through an LLO-dependent mechanism. *British Journal of Pharmacology*, 179(14), 3839–3858. <https://doi.org/10.1111/BPH.15827>
- Tolozá Moreno, D. L. (2014). Aislamiento y caracterización de cepas bacterianas Con potencial antagonico para el control biológico de *Fusarium oxysporum (schlecht)* en cultivos de *Uchuva (Physalis peruviana l.)* en ciénega, boyacá (Colombia). <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/75006>
- Trajkovska Petkoska, A., Daniloski, D., D’Cunha, N. M., Naumovski, N., & Broach, A. T. (2021). Edible packaging: Sustainable solutions and novel trends in food packaging. *Food Research International*, 140(December 2020), 109981. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109981>
- Tsao, R., & Zhou, T. (2000). Antifungal activity of monoterpenoids against postharvest pathogens *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructicola*. *Journal of Essential Oil Research*, 12(1), 113–121. <https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9712057>
- Udo, E. R., Onuegbu, T. U., Onuegbu, T. U., & Akpabio, U. D. (2020). Extraction and characterization of cellulose and microcrystalline cellulose (mcc) from *Marantochloa cuspidata* leaves. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 45(6), 1171–1176. <https://doi.org/10.46602/JCSN.V45I6.564>
- Ukwubile, C. (2017). Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Thaumatococcus daniellii* (Benn.) Benth. (Marantaceae) Leaf Extract Phytochemistry View project Survey of Avian Species Diversity in Bali, Taraba State Nigeria View project. <https://doi.org/10.15406/jbmoa.2017.04.00086>
- Ukwubile, C. A., Oise, I. E., & Nyiyem, J. T. (2017). Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of *Thaumatococcus daniellii* (Benn.) benth. (Marantaceae) leaf extract. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*, Volume 4(Issue 2). <https://doi.org/10.15406/JBMOA.2017.04.00086>
- Vallejo, C. V., Minahk, C. J., Rollán, G. C., & Rodríguez-Vaquero, M. J. (2021). Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* in strawberry juice enriched with strawberry polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(2), 441–448. <https://doi.org/10.1002/JSFA.10653>
- Vargas Pérez, A. K. (2017). Diseño y modelado de una máquina para fabricar envases biodegradables.
- Vergara, R., Rodríguez, L., & Alarcón, Y. (2018). Estudio de caracterización de la actividad productiva del sector de la caña panelera en la Hoya del Río Suárez |

- Vergara | NOVUM. *NOVUM, Revista de Ciencias Sociales Aplicadas*, 1(8), 32–48. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/novum/article/view/69931/0>
- Vestergaard, M., & Ingmer, H. (2019). Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 53(6), 716–723. <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2019.02.015>
- Wang', L.-L., & Johnson, E. A. (1992). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Fatty Acids and Monoglycerides. *Applied and environmental microbiology*, 58(2), 624–629.
- Who. (2015). *WHO estimates of the global burden of foodborne diseases*. www.who.int
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175. <https://doi.org/10.1038/NPROT.2007.521>
- Williams, C. A., & Harborne, J. B. (1977). The leaf flavonoids of the Zingiberales. *Biochemical Systematics and Ecology*, 5(3), 221–229. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(77\)90008-4](https://doi.org/10.1016/0305-1978(77)90008-4)
- Wu, H. S., Raza, W., Liu, D. Y., Wu, C. L., Mao, Z. S., Xu, Y. C., & Shen, Q. R. (2008). Allelopathic impact of artificially applied coumarin on *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(8), 1297–1304. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9602-5>
- Wu, W. C., Hsiao, P. Y., & Huang, Y. C. (2019). Effects of amylose content on starch-chitosan composite film and its application as a wound dressing. *Journal of Polymer Research*, 26(6), 1–13. <https://doi.org/10.1007/S10965-019-1770-0/METRICS>
- Xiao, J., Capanoglu, E., Jassbi, A. R., & Miron, A. (2016). Advance on the Flavonoid C-glycosides and Health Benefits. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1067595>, 56, S29–S45. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1067595>
- Xu, H., Wang, G., Zhang, J., Zhang, M., Fu, M., Xiang, K., Zhang, M., & Chen, X. (2022). Identification of phenolic compounds and active antifungal ingredients of walnut in response to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*). *Postharvest Biology and Technology*, 192. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.112019>
- Yamanaka, H., Nagao, M., Sugimura, T., Furuya, T., Shirai, A., & Matsushima, T. (1979). Mutagenicity of pyrrolizidine alkaloids in the Salmonella/mammalian-microsome test. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 68(3), 211–216. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(79\)90152-6](https://doi.org/10.1016/0165-1218(79)90152-6)
- Yang, J., Song, W., Wang, X., Li, Y., Sun, J., Gong, W., & Sun, C. (2019). Migration of phthalates from plastic packages to convenience foods and its cumulative health risk assessments. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 12(3), 151–158. <https://doi.org/10.1080/19393210.2019.1574909>

- Yang, M. L., Chen, J., Sun, M., Zhang, D. B., & Gao, K. (2016). Antifungal Indole Alkaloids from *Winchia calophylla*. *Planta Medica*, *82*(8), 712–716. <https://doi.org/10.1055/S-0042-102459>
- Yenjit, P., Issarakraisila, M., Intana, W., & Chantrapromma, K. (2010). Fungicidal activity of compounds extracted from the pericarp of *Areca catechu* against *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro and in mango fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *55*(2), 129–132. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2009.09.003>
- Yu, X., Gao, X., Zhu, Z., Cao, Y., Zhang, Q., Tu, P., & Chai, X. (2014). Alkaloids from the Tribe *Bocconieae* (Papaveraceae): A Chemical and Biological Review. *Molecules*, *19*(9), 13042. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES190913042>
- Zaldivar, J., & Ingram, L. O. (1999). Effect of organic acids on the growth and fermentation of ethanologenic *Escherichia coli* LY01. *Biotechnology and Bioengineering*, *66*. <https://www.osti.gov/etdeweb/biblio/20006614>
- Zamuz, S., Munekata, P. E. S., Dzuovor, C. K. O., Zhang, W., Sant'Ana, A. S., & Lorenzo, J. M. (2021). The role of phenolic compounds against *Listeria monocytogenes* in food. A review. *Trends in Food Science & Technology*, *110*, 385–392. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.01.068>
- Zannou, A., Ahoussi-Dahouenon, E., & Gbaguidi, M. A. (2016). Chemical characterization of *Tectona grandis*, *Thalia geniculata*, *Lasiomorpha senegalensis* and of *Musa acuminata* used as food packing's in Benin. ~ 79 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *5*(5).
- Zhang, C. wei, Li, F. yi, Li, J. feng, Wang, L. ming, Xie, Q., Xu, J., & Chen, S. (2017). A new biodegradable composite with open cell by combining modified starch and plant fibers. *Materials & Design*, *120*, 222–229. <https://doi.org/10.1016/J.MATDES.2017.02.027>
- Zhang, L., Ren, Y., Meng, F., Bao, H., Xing, F., & Tian, C. (2022). Verification of the Protective Effects of Poplar Phenolic Compounds Against Poplar Anthracnose. *Phytopathology*, *112*(10). <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-21-0509-R>
- Zhang, R., Wang, X., & Cheng, M. (2018). Preparation and Characterization of Potato Starch Film with Various Size of Nano-SiO₂. *Polymers*, *10*(10). <https://doi.org/10.3390/POLYM10101172>
- Zheng, W. F., Tan, R. X., Yang, L., & Liu, Z. L. (1996). Two flavones from *Artemisia giraldii* and their antimicrobial activity. *Planta Medica*, *62*(2), 160–162. <https://doi.org/10.1055/S-2006-957841/BIB>

- Zhong, L. ; Lin, Y. ; Wang, C. ; Niu, B. ; Xu, Y. ; Zhao, G. ; Zhao, J., Zhong, L., Lin, Y., Wang, C., Niu, B., Xu, Y., Zhao, G., & Zhao, J. (2022). Chemical Profile, Antimicrobial and Antioxidant Activity Assessment of the Crude Extract and Its Main Flavonoids from *Tartary Buckwheat* Sprouts. <https://doi.org/10.3390/molecules27020374>
- Zhu, Z., Zhao, S., & Wang, C. (2022). β -Carboline Alkaloids from *Peganum harmala* Inhibit *Fusarium oxysporum* from *Codonopsis radix* through Damaging the Cell Membrane and Inducing ROS Accumulation. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(11), 1341. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS11111341>
- Zhumakanova, B. S., Korona-Główniak, I., Skalicka-Woźniak, K., Ludwiczuk, A., Baj, T., Wojtanowski, K. K., Józefczyk, A., Zhaparkulova, K. A., Sakipova, Z. B., & Malm, A. (2021). Phytochemical Fingerprinting and In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Aerial Parts of *Thymus marschallianus* Willd. and *Thymus seravschanicus* Klokov Growing Widely in Southern Kazakhstan. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 3193, 26(11), 3193. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26113193>