

Empaque bioplástico para alimentos con propiedades antifúngicas elaborado a partir de residuos agroindustriales

D.I. Sandoval-Cárdenas¹, D.E. Camarillo-Gómez², A. Amaro-Reyes^{*2}, M.T. García-Gasca³, R. Campos-Vega² y C. Regalado-González²

1 Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerro de las Campanas s/n, 76010, Centro Universitario, 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. **2** Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Cerro de las Campanas s/n, 76010, Centro Universitario, 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. **3** Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Av. de las Ciencias s/n, Juriquilla CP 76230, Querétaro, Querétaro, México. *aldo.amaro@uaq.edu.mx

RESUMEN

El desecho de empaques plásticos no biodegradables para el empaquetamiento de alimentos representa un problema ambiental, por lo que se busca sustituirlos con bioplásticos a partir de materiales sostenibles, biodegradables y con valor añadido. En el presente trabajo se elaboró un bioplástico utilizando un residuo agroindustrial adicionado con plastificantes y acidificantes con propiedades antifúngicas y antioxidantes. El bioplástico mostró un color (sistema CIE L*a*b) entre los rojos y verdes, un ΔE de 71.01 ± 0.61 y % solubilidad en agua de 38.19 ± 1.38 . El bioplástico inhibió completamente el crecimiento, al ser evaluado por la técnica de difusión en disco, contra *Botrytis cinérea*, *Penicillium* spp y *Aspergillus niger*. El bioplástico mostró potencial como empaque para alimentos con un % de humedad bajo, alargando su vida de anaquel y fungiendo como vehículo de compuestos bioactivos en los alimentos.

Palabras clave: Bioplástico, residuo agroindustrial, actividad antifúngica.

ABSTRACT

The disposal of non-biodegradable plastic for food packaging creates an environmental problem, therefore replacing them with bioplastics created from sustainable, biodegradable, and value-added materials is desirable. The present work developed a bioplastic with antifungal and antioxidant properties using an agro-industrial waste added with plasticizers and acidifiers. The bioplastic showed a color (CIE L*a*b system) between red and green, a ΔE of 71.01 ± 0.61 and water solubility of 38.19 ± 1.38 %, like other materials made from agro-industrial wastes. The bioplastic showed complete growth inhibition when evaluated by disk diffusion technique against *Botrytis cinerea*, *Penicillium* spp and *Aspergillus niger*. The bioplastic produced demonstrates potential as a replacement for plastic food packaging with low moisture content, extending its shelf life and acting as a vehicle for bioactive compounds in food.

Key words: Bioplastic, agro-industrial residue, antifungal activity.

INTRODUCCIÓN

El uso masivo de plásticos exige una gestión adecuada del final de la vida útil del producto. El amplio uso de estos materiales en el mundo ha contribuido enormemente a la contaminación ambiental, ya que los plásticos no son biodegradables y no siempre se desechan, reutilizan o reciclan adecuadamente y, por tanto, persisten en el medio ambiente durante mucho tiempo (Webb et al., 2013; Tavares et al., 2018).

En los últimos años, los bioplásticos han surgido como alternativa al uso de plásticos. Estos materiales biodegradables toman popularidad ya que son menos contaminantes y provienen de fuentes abundantes en la naturaleza (Kowalczyk & Baraniak, 2014; Tavares et al., 2018). Los bioplásticos se componen normalmente de celulosa, almidones, biopolímeros, entre otros materiales. Los plásticos a base de almidón representan actualmente el bioplástico más utilizado, constituyendo alrededor del 50% del mercado total (Jeyasubramanian & Balachander, 2016).

Los residuos de frutas y verduras generados por la agroindustria también generan un impacto ambiental. Tan sólo la industria vitivinícola genera 5510 toneladas de residuos al año, según lo reportado por la FAO (2018). La valorización de estos residuos agroindustriales para la producción de bioplásticos contribuirá a la reducción del impacto ambiental.

Por otra parte, la incidencia de 33 al 100 % de hongos y levaduras en frutos rojos, como la zarzamora y frambuesa, contenidos en empaques plásticos genera fuertes pérdidas económicas. Los hongos que afectan estos productos comúnmente son *Botrytis cinerea*, *Rhizopus* (en fresa), *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium* y *Fusarium* (Tournas y Katsoudas, 2005).

El objetivo de este trabajo fue diseñar un bioplástico con propiedades antifúngicas, como empaque para alimentos, elaborado a partir de un residuo agroindustrial y plastificantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los materiales para la preparación del empaque, polímeros, agentes plastificantes y reguladores de pH fueron grado reactivo usando marcas PROLAB, Reactivos Analíticos AyT y Gold Bell. Los residuos agroindustriales fueron donados por Tierra de Peña, ubicado en Carretera Bernal, Querétaro.

Preparación del bioplástico

El bioplástico se elaboró a partir de una mezcla de residuos agroindustriales con plastificante, la cual se encuentra bajo registro de patente. A partir de la mezcla se elaboró una película con 0.54 mm de grosor.

Determinación de propiedades ópticas

La prueba de transmisión de luz se realizó en la región visible y las propiedades de color de la película se evaluaron utilizando el espacio de color CIELAB mediante un KONICA CM-3600d COLORFLEX-DIFF2. Las coordenadas de color determinadas fueron L (luminosidad), a (rojo-verde) y b (amarillo-azul). El instrumento se calibró con una baldosa blanca estándar. Las medidas se llevaron cabo por quintuplicado en posiciones aleatorias sobre la superficie de la película. Se calcularon los valores medios de estas cinco pruebas. La diferencia de color total (ΔE) se calculó de la siguiente manera Ecuación (1):

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (1)$$

Donde L^* , a^* y b^* eran los parámetros de color de la placa blanca estándar, y L , a y b eran los parámetros de color de la muestra de empaque.

Determinación de la solubilidad en agua del empaque

El análisis de la solubilidad en agua se realizó por triplicado siguiendo el método propuesto por Nogueira et al., (2022). El bioplástico se cortó en circunferencias de 2 cm de diámetro. El porcentaje inicial de materia seca de cada muestra se cuantificó gravimétricamente mediante su deshidratación en estufa a 105 °C durante 24 h. Los empaques secos se sumergieron individualmente en 50 mL de agua destilada durante 24 h a 25 ± 2 °C. Tras este periodo, las muestras no solubilizadas se recuperaron y se secaron en estufa a 105 °C durante 24 h para determinar la materia seca final. La solubilidad en agua de las películas se calculó como el porcentaje de peso que permaneció tras la inmersión en agua, utilizando la Ecuación (2).

$$\% \text{ solubilidad en agua: } \frac{mip - mpf}{mip} \quad (2)$$

Donde mip es la masa seca inicial de las películas (g) y mpf es la masa seca final de las películas no solubilizadas (g).

Evaluación de la actividad antifúngica

El análisis microbiológico se realizó con el método de difusión en disco de agar, siguiendo a la metodología de Ji et al. (2016) con modificaciones. Los hongos se recuperaron de un cultivo madre y se inocularon por picadura en cajas Petri con agar papa dextrosa (APD), *Penicillium* y *Aspergillus niger* se incubaron durante 3 días a 30 °C, mientras que *Botrytis cinérea* se incubó en obscuridad y a temperatura ambiente (~25°C) durante 15 días. Las esporas se recuperaron en suspensión añadiendo dos mililitros de 0.05 % (p/v) Tween 80 estéril a la superficie de cada placa. La concentración de esporas se determinó mediante recuento en cámara de Neubauer y se inocularon a 1×10^6 esporas por extensión en superficie en una placa APD de 60 mm. Las placas se incubaron durante 72 h como se mencionó previamente. Posteriormente, se cortaron círculos de biomasa de 7 mm de diámetro, utilizando puntas de micropipeta estériles. Los discos fúngicos se colocaron sobre una lámina de bioplástico, previamente esterilizada por ambos lados mediante exposición durante 15 min a luz UV, colocada dentro de una caja Petri estéril. El control consistió en transferir los discos de biomasa a una placa con APD estéril. Las placas se incubaron durante 72 h a 30 °C o temperatura ambiente, dependiendo de la cepa, y el crecimiento microbiano se determinó midiendo el diámetro de los círculos de cultivo fúngico. El porcentaje de inhibición radial se calculó utilizando la Ecuación (3).

$$\% \text{ Tasa de inhibición} = 100 \left(\frac{R - r}{R} \right)$$

Donde R es el crecimiento radial fúngico del control y r es el crecimiento radial fúngico sobre el bioplástico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades ópticas

Los parámetros de color del empaque se resumen en la Tabla 1. De acuerdo con los valores se puede observar una luminosidad (L) con tendencia hacia la oscuridad. La diferencia entre valores de *a* y *b*, muestra una mayor similitud a colores rojo-verde, que al amarillo-azul; lo cual se atribuye a los colores del residuo agroindustrial utilizado. El valor ΔE denotó una coloración intensa. Qin et al., (2019) y Nogueira et al., (2019), presentaron valores similares con poca luminosidad, colores predominantes en rojo-verde y con tendencia a los oscuros con bioplásticos producidos a partir de *Lycium ruthenicum murray* y mora azul. Estos resultados pueden atribuirse a la similitud de residuos o frutos utilizados, con alto contenido de antocianinas y colores morados.

Tabla I. Valores de color incluyendo (*L*, *a*, *b* y ΔE) de empaques bioplásticos adicionados con residuo agroindustrial.

Muestras de empaque	L	a	b	ΔE
Empaque con residuo agroindustrial	21.89±0.61	0.54±0.40	-0.79±0.28	71.018±0.61

La media de tres mediciones \pm valores de DE (desviación estándar) en la misma columna.

Porcentaje de solubilidad en agua

La solubilidad en agua es un parámetro que indica la afinidad que tiene un empaque o película al agua. El % de solubilidad fue de 38.19 ± 1.38 , similar al reportado por Kurek et al. (2019) y Nogueira et al. (2022) con valores de 40 y 33 %, respectivamente al usar residuos de uva; mientras que fue casi el doble al reportado por Nogueira et al. (2019) con mora azul. Los % altos de solubilidad mostrados por Kurek et al., (2019) pueden ser atribuidos al contenido de glicerol de un 30 %, seguido por los resultados de este proyecto y los presentados por Nogueira et al., (2022). Esta similitud en solubilidad, se debe a el uso de residuos agroindustriales similares, con una naturaleza hidrofílica (Bodini et al., 2020). Por consiguiente al incrementar la cantidad del residuo en la formulación, incrementa la interacción con el agua, facilitando su solubilización. También puede deberse a que el extracto se comportó como plastificante, provocando así una disminución de la cohesividad de la matriz y por ello aumentando la movilidad de la cadena polimérica, lo que contribuyó a la transferencia de agua a su estructura y a su solubilización.

Evaluación de la actividad antifúngica

La actividad antifúngica del bioplástico contra *Penicillium sp*, *Aspergillus niger* y *Botrytis cinérea*, se determinó mediante la medición del diámetro de crecimiento. Los resultados se muestran en la Tabla 1. Todos los controles mostraron crecimiento; en cambio sobre los empaques hubo una inhibición total del crecimiento fúngico. Mendoza et al., (2013) reportó actividad antifúngica contra *Botrytis cinérea* ante extractos de bagazo de uva, argumentando podría atribuirse a la composición del residuo, encontrándose los ácidos grasos presentes en las fracciones activas.

Tabla 1. Actividad antifúngica en empaques adicionados con un residuo agroindustrial

Tiempo (días)	<i>Botrytis cinérea</i>		<i>Penicillium spp</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	Control APD (mm)	Con empaque	Control APD (mm)	Con empaque	Control APD (mm)	Con empaque
1	SC	SC	SC	SC	34.6±1.2	SC
2	38.3±0.5	SC	13.5±0.8	SC	42.3±1	SC
3	49.8±0.4	SC	18.6±0.9	SC	51.3±0.7	SC
4	52.6±0.9	SC	21.7±2	SC	53.2±2.8	SC
5	52.7±1	SC	33.2±4.8	SC	55.5±1	SC
6	53.7±1.5	SC	36.2±1.5	SC	56.7±1.1	SC

SC: Sin crecimiento. La media de tres mediciones \pm valores de DE (desviación estándar) en la misma columna. Utilizando como control placas con APD inoculadas con los tres diferentes hongos.

CONCLUSIÓN

En esta investigación se desarrollaron empaques bioplásticos incorporando un residuo agroindustrial que mostró colores que van de los rojos-verdes, con tendencia a los oscuros, alta solubilidad en agua, así como actividad antifúngica. Los empaques bioplásticos tienen potencial aplicación en la industria de los alimentos como alternativa al uso de empaques plásticos. Biodegradable o comestibles.

esto posiblemente puede atribuirse a la cantidad de antocianinas presentes en el residuo utilizado. Por otra parte, su % de solubilidad (38.19%) puede deberse a la adición del residuo y su naturaleza hidrofílica. Por último, el bioplástico muestra una inhibición del 100% contra *Penicillium spp*, *Aspergillus niger* y *Botrytis cinérea*, ya que el residuo es rico en fenoles, los cuales participan directamente en los mecanismos de defensa de las plantas contra hongos patógenos, los cuales podrían aumentar la permeabilidad celular, reduciendo el crecimiento fúngico.

BIBLIOGRAFÍA

- Bodini, R. B., Pugine, S. M. P., de Melo, M. P., & de Carvalho, R. A. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory properties of orally disintegrating films based on starch and hydroxypropyl methylcellulose incorporated with *Cordia verbenacea* (erva baleeira) extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 714–724. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.075>
- Jeyasubramanian, K., & Balachander, R. (2016). Starch bioplastic film as an alternative food-packaging material. *Journal of Achievements of Materials and Manufacturing Engineering*, 75(2), 78–84. <https://doi.org/10.5604/17348412.1228383>

- Ji, N., Liu, C., Zhang, S., Xiong, L., & Sun, Q. (2016). Elaboration and characterization of corn starch films incorporating silver nanoparticles obtained using short glucan chains. *LWT - Food Science and Technology*, *74*, 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.065>
- Kurek, M., Hlupić, L., Elez Garofulić, I., Descours, E., Ščetar, M., & Galić, K. (2019). Comparison of protective supports and antioxidative capacity of two bio-based films with revalorised fruit pomaces extracted from blueberry and red grape skin. *Food Packaging and Shelf Life*, *20*(October 2018). <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100315>
- Mendoza, L., Yañez, K., Vivanco, M., Melo, R., & Cotoras, M. (2013). Characterization of extracts from winery by-products with antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Industrial Crops and Products*, *43*(1), 360–364. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.048>
- Nogueira, G. F., Fakhouri, F. M., Velasco, J. I., & de Oliveira, R. A. (2019). Active edible films based on arrowroot starch with microparticles of blackberry pulp obtained by freeze-drying for food packaging. *Polymers*, *11*(9). <https://doi.org/10.3390/polym11091382>
- Nogueira, G. F., Soares, I. H. B. T., Soares, C. T., Fakhouri, F. M., & de Oliveira, R. A. (2022). Development and Characterization of Arrowroot Starch Films Incorporated with Grape Pomace Extract. *Polysaccharides*, *3*(1), 250–263. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010014>
- Qin, Y., Liu, Y., Yong, H., Liu, J., Zhang, X., & Liu, J. (2019). Preparation and characterization of active and intelligent packaging films based on cassava starch and anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. *International Journal of Biological Macromolecules*, *134*, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.029>
- Webb, H. K., Arnott, J., Crawford, R. J., & Ivanova, E. P. (2013). Plastic degradation and its environmental implications with special reference to poly(ethylene terephthalate). *Polymers*, *5*(1), 1–18. <https://doi.org/10.3390/polym5010001>