

**UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE
MENDOZA DE AMAZONAS**

FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA
ANTIMICROBIANA BIODEGRADABLE A PARTIR
DE SUERO DE LECHE Y ACEITE ESENCIAL DE
ORÉGANO (*Origanum vulgare*), PARA ENVASADO DE
QUESO FRESCO**

AUTOR: Bach. NELLY OCAMPO CACHAY

ASESOR: Ms. TONY STEVEN CHUQUIZUTA TRIGOSO

CO ASESOR: Ms. SEGUNDO GRIMALDO CHAVEZ QUINTANA

CHACHAPOYAS – PERÚ 2019

DEDICATORIA

A Dios:

Por bendecirme, al otorgarme los conocimientos necesarios para poder culminar esta investigación; por cuidar de mí y de mi familia que son mi fortaleza para enfrentar las adversidades.

A mi madre:

Delfina, por ser la madre abnegada que yo necesito en todas las etapas de mi vida, por su apoyo incondicional y por luchar conmigo para lograr mis metas.

A mis hermanas:

Pilar y Milagros por el apoyo moral y económico que me han brindado para poder desarrollar este trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haberme regalado la vida, salud, conocimientos para realizarme como profesional y por ser mi fortaleza para superar las adversidades.

Al Programa Nacional de Becas y Crédito Educativo (PRONABEC)-Beca 18, por haberme brindado el apoyo económico, para la formación académica en la carrera profesional de Ingeniería Agroindustrial.

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, a los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por brindarme la formación académica necesaria para desarrollarme como profesional.

A mis asesores, Ms. Tony Steven Chuquizuta Trigos y Ms. Segundo Grimaldo Chávez Quintana, porque gracias a su conocimiento y apoyo, he logrado realizar y culminar esta investigación.

A mis amigas y amigos más cercanos, Jhessica, Merbelita, Elita, Llony por su ayuda moral e involucramiento y asimismo a la personal técnico Marleny por apoyarme en la ejecución de este trabajo.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

Dr. POLICARPIO CHAUCA VALQUI

Rector

Dr. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN

Vicerrector Académico

Dra. FLOR TERESA GARCÍA HUAMÁN

Vicerrectora de Investigación

Ms. ERICK ALDO AUQUIÑIVIN SILVA

Decano de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

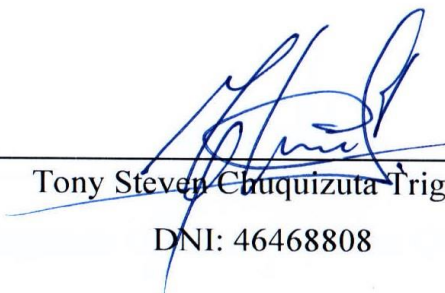
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS

El docente de la Universidad Nacional Autónoma de Chota que suscribe, hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada **Obtención de una película antimicrobiana, biodegradable a partir de suero de leche y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), para envasado de queso fresco**; de la bachiller de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, egresada de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

Bach. Nelly Ocampo Cachay

El suscrito da el visto bueno al informe de la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, manifestando su voluntad de apoyar a la Tesista en el levantamiento de observaciones y en el Acto de sustentación.

Chachapoyas, 19 de marzo de 2019



Tony Steven Chuquizuta Trigoso
DNI: 46468808

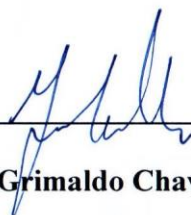
VISTO BUENO DEL CO ASESOR DE TESIS

El docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas que suscribe, hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada **Obtención de una película antimicrobiana, biodegradable a partir de suero de leche y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), para envasado de queso fresco**; de la bachiller de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, egresada de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

Bach. Nelly Ocampo Cachay

El suscrito da el visto bueno al informe de la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, manifestando su voluntad de apoyar a la Tesista en el levantamiento de observaciones y en el Acto de sustentación.

Chachapoyas, 19 de marzo de 2019



Segundo Grimaldo Chavez Quintana

Docente de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

JURADO EVALUADOR



Dr. Miguel Ángel Barrena Gurbillón
Presidente



Ms. Lizette Daniana Méndez Fasabi
Secretaria



Ms. Erick Aldo Auquiñivin Silva
Vocal

DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO

Yo **Nelly Ocampo Cachay**, identificado con DNI N° 77066910 egresada de la escuela profesional de **Ingeniería Agroindustrial**, de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

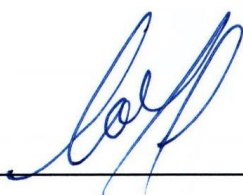
DECLARO BAJO JURAMENTO QUE:

1. Soy autor de la tesis titulada: **Obtención de una película antimicrobiana biodegradable a partir de suero de leche y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), para envasado de queso fresco**, que presento para obtener el título Profesional de Ingeniera Agroindustrial.
2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, y para su realización se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.
4. La tesis presentada no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. La información presentada es real y no ha sido falsificada, ni duplicada, ni copiada.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda la responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la Tesis para obtener el Título Profesional, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran que pudieran derivarse para la UNTRM en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la Tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente, asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción deriven.

Chachapoyas, 19 de Marzo del 2019.



Firma de la tesista



ANEXO 3-N

**ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL**

En la ciudad de Chachapoyas, el día 09 de Mayo del año 2019, siendo las 11:00 horas, el aspirante Nelly Ocampo Cachay

defiende en sesión pública la Tesis titulada: Obtención de una película antimicrobiana biodegradable a partir de suero de leche y aceite esencial de orégano (Origanum vulgare), para envasado de queso fresco.

para obtener el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Dr. Miguel Ángel Barrera Gurbillón

Secretario: Mg. Lizette Damián Mendez Fasabi

Vocal: MSc Erick Aldo Aquino Silva

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.


Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:05 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS.....	IV
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS.....	V
VISTO BUENO DEL CO ASESOR DE TESIS.....	VI
JURADO EVALUADOR.....	VII
ÍNDICE GENERAL.....	X
ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII
RESUMEN.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIAL Y MÉTODO.....	3
2.1. Material.....	3
2.2. Métodos técnicas y procedimientos.....	3
III. RESULTADOS.....	9
Módulo de Young o Módulo de elasticidad (E).....	9
Capacidad antimicrobiana o inhibitoria (CI).....	10
Capacidad biodegradable (CB).....	13
Vida útil del queso recubierto con la película.....	15
IV. DISCUSIÓN.....	19
V. CONCLUSIONES.....	22
VI. RECOMENDACIONES.....	23
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
ANEXOS.....	28
Anexo 1. Resultados del módulo de elasticidad.....	28
Anexo 2. Resultados de la evaluación de la capacidad biodegradable.....	29
Anexo 3. Etapas de la investigación.....	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental 3^2	4
Tabla 2. Resultados del módulo de elasticidad de la película	9
Tabla 3. Análisis de varianza para el módulo de elasticidad.....	10
Tabla 4. Optimización para el módulo de elasticidad	10
Tabla 5. Halos de inhibición según tratamiento	11
Tabla 6. Análisis de varianza para la capacidad inhibitoria	12
Tabla 7. Optimización para la capacidad inhibitoria.....	13
Tabla 8. Porcentaje de degradación de la película en agua destilada después de 24 horas	14
Tabla 9. Análisis de varianza para la capacidad biodegradable de la película.....	15
Tabla 10. Optimización para la capacidad biodegradable de la película.....	15
Tabla 11. Optimización de las múltiples respuestas.....	16
Tabla 12. Vida útil del queso fresco prensado recubierto con la película.....	17
Tabla 13. Módulo de elasticidad de la película antimicrobiana biodegradable.....	28
Tabla 14. Capacidad biodegradable de la película antimicrobiana biodegradable	29

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotos de los halos de inhibición utilizando AEOA al 0.1, 0.05 y 0.01 %.....	12
Figura 2. Crecimiento de UFC de <i>S. aureus</i> en muestras de queso fresco prensado envasado con la película producida.	17
Figura 3. Crecimiento de NMP de Coliformes totales en muestras de queso fresco envasado con la película.	18
Figura 4. Proceso de elaboración de la película	30
Figura 5. Evaluación del módulo de elasticidad de la película	30
Figura 6. Evaluación de la capacidad inhibitoria de la película	31
Figura 7. Evaluación de la degradabilidad de la película.	31
Figura 8. Evaluación de la vida útil del queso fresco recubierto con la película.	32

RESUMEN

La investigación tuvo por objetivo obtener una película antimicrobiana biodegradable a partir de suero de leche y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) (AEO), para el envasado de queso fresco. Para la obtención de la película, se ejecutó un experimento 3^k con $K=2$ (dosis de AEO y relación suero/almidón de yuca), el mejor tratamiento fue determinado a través de tres variables (módulo de elasticidad, capacidad antimicrobiana y biodegradable). Posteriormente, con el mejor tratamiento (0,1 % v/v AEO y 6% de almidón/suero p/v) se envasó muestras de quesos (fresco prensado) de 2x2x3 cm; se evaluó la vida útil del queso, mediante el conteo de coliformes totales y *Staphylococcus aureus*. La película desarrollada, permitió retardar el crecimiento de *S. aureus* y coliformes totales en el queso. En conclusión, el AEO puede ser empleado como aditivo de la película para conservación natural de queso fresco.

Palabras clave: envase biodegradable, Modulo de Young.

ABSTRACT

The aim of the research was to obtain a biodegradable antimicrobial film from whey and oregano essential oil (*Origanum vulgare*) (AEO), for the packaging of fresh cheese. To obtain the film, a 3k experiment was carried out with $K = 2$ (dose of AEO and serum / cassava starch ratio), the best treatment was determined through three variables (modulus of elasticity, antimicrobial and biodegradable capacity). Later, with the best treatment (0.1% v / v AEO and 6% starch / serum w / v), samples of cheeses (fresh pressed) of 2x2x3 cm were packed; the shelf life of the cheese was evaluated by counting total coliforms and *Staphylococcus aureus*. The developed film allowed retarding the growth of *S. aureus* and total coliforms in the cheese. In conclusion, the AEO can be used as an additive to the film for natural conservation of fresh cheese.

Key words: biodegradable container, Young's module.

I. INTRODUCCIÓN

El consumo de plásticos ha ido creciendo a pesar de las múltiples tensiones comerciales y campañas que se han realizado con la finalidad de reducir el consumo de este material (Guevara, 2018); cada año, aproximadamente 8,2 millones de toneladas de desechos plásticos se vierten en los océanos del mundo, causando daños a las especies que viven en él, desde arrecifes de coral embalsados en sacos, tortugas amordazadas en pajitas, hasta ballenas y aves marinas que mueren de hambre porque sus vientres están atestados de pedazos de plástico que no hay espacio para comida real (Howard, Gibbens, Zachos & Parker, 2019).

La producción de plásticos continua con un ritmo acelerado, se prevé en los próximos diez años se incrementará hasta en un 40% y que en 2050 habrá más plásticos que peces en el mar (Laville, 2019), poniendo en riesgo la salud y seguridad alimentaria, porque solo en la producción de 100 mil millones de bolsas plásticas se utiliza 12 millones de barriles de petróleo (Howard et al., 2019), considerando que la mayor parte de la fabricación de plásticos son convertidos en envases y embalajes de un solo uso para alimentos, lo que al ser arrojados al medio ambiente lo contaminan y/o contribuyen al cambio climático por su bajo nivel de degradación (Laville, 2019), ya que en el caso de las bolsas plásticas tardan aproximadamente 55 años para degradarse (Greenpeace, 2016).

Debido a este tipo de contaminación por plásticos, en muchos países se vienen desarrollando soluciones innovadoras (Howard et al., 2019), como la obtención de biopolímeros biodegradables a partir de materias primas renovables (almidón de maíz, almidón de yuca, azúcares, aceites vegetales, etc.), que tienen bajo impacto ambiental, por su propiedad de degradarse en diferentes condiciones, acuáticas, microbiológicas y condiciones ambientales, en corto tiempo (Zapata, Pujol & Coda, 2012).

La contaminación de los alimentos es un problema real que la industria alimentaria debe prevenir, para que productos inaceptables no vulneren la salud y vida de los consumidores (Orberá, 2004), la contaminación de estos puede realizarse por factores químicos, físicos y biológicos (bacterias, parásitos) en alimentos proteicos como leche, mantequilla, quesos, carnes y otros (García, 2002).

La producción de queso (frescos y maduros), registró un crecimiento de 11,37% (FAO, 2014), lo que significa que la prevención de la contaminación debe ser altamente cuidadosa en todas las etapas de la cadena de valor, evitando la contaminación por bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; esta última bacteria se encuentra regularmente en las heces del ganado sano y es transmitida al hombre principalmente por la ingestión de productos bovinos como quesos frescos elaborados sin buenas prácticas de manufactura, es por ello que esta bacteria es utilizada como indicador de posible contaminación fecal y presencia de patógenos en alimentos, aunque *E. coli* puede ser un residente inocuo del tracto gastrointestinal, varios estudios han documentado que las cepas de *E. coli* O157:H7 producen diarrea y otras enfermedades extra intestinales en humanos (Varela, Pérez & Estrada, 2016).

En la actualidad existen muchas técnicas para conservar quesos e inhibir el crecimiento bacteriano, entre ellos están los métodos de conservación más comunes para quesos; la refrigeración, maduración de quesos, así como la adición de agentes antimicrobianos e insumos químicos (benzoato de sodio o potasio, sorbato de sodio o potasio, nitritos y nitratos, etc.) la combinación de dos o más métodos (López, 2004); el uso de la dosis de nitritos y nitratos por encima de las cantidades normadas causan riesgos a contraer cáncer (Huanca & Solis, 2010). Es por ello que los últimos años se está investigando sustancias de origen natural que tengan actividad conservadora en los productos alimentarios, como los aceites esenciales (Vásquez et al., 2014).

Esta investigación se centró en la obtención de un envase antimicrobiano biodegradable a partir de la combinación suero de leche/ almidón con adición de aceite esencial de orégano para inhibir *E. coli* y prolongar la vida útil del queso envasado en esta película.

II. MATERIAL Y MÉTODO

2.1. Material

Obtención de la película biodegradable

La película fue elaborada a partir de almidón de yuca más la adición de suero lácteo de quesería (obtenidos del Comercial Tito, ubicado en la ciudad de Chachapoyas y en la Facultad de Ingeniería zootecnista, Agronegocios y Biotecnología - UNTRM, respectivamente).

Para la obtención de la película se adaptó la metodología de López, Chavez & Chuquizuta (2017), que permitieron establecer el ratio de gramos de almidón por mililitro de suero (RAS), además permitió establecer el porcentaje de alcohol poli vinílico (PVC) y glicerina para la plastificación del biopolímero.

Aceite esencial de orégano (AEO)

El AEO fue adquirido en la ciudad de Lima de la marca “Now Essential Oils” y en cuyas especificaciones indica que es 100% puro.

Queso fresco

Se utilizó queso fresco prensado obtenido de la Facultad de Ingeniería zootecnista, Agronegocios y Biotecnología - UNTRM, con las siguientes especificaciones de calidad sanitaria (25 UFC/g *Staphylococcus aureus* y 60 UFC/ mL coliformes totales), con el cual se realizó la evaluación de la vida útil del queso envasado con la película obtenida.

2.2. Métodos técnicas y procedimientos

Diseño experimental

Se utilizó un diseño factorial 3^k (superficie de respuesta), donde k es el número de variables en estudio (RAS y AEO) con tres niveles para cada una de ellas, asimismo se tendrá como variables de respuesta: módulo de elasticidad, degradabilidad y capacidad antimicrobiana de la película.

Tabla 1. Diseño experimental 3²

N°	Bloque	Ratio almidón / suero	Aceite esencial de orégano
		g/mL	%
1	1	0,060	0,05
2	1	0,060	0,05
3	1	0,037	0,01
4	1	0,037	0,10
5	1	0,060	0,05
6	1	0,083	0,05
7	1	0,083	0,10
8	1	0,060	0,10
9	1	0,037	0,05
10	1	0,060	0,05
11	1	0,083	0,01
12	1	0,060	0,01
13	2	0,060	0,05
14	2	0,060	0,05
15	2	0,037	0,01
16	2	0,037	0,10
17	2	0,060	0,05
18	2	0,083	0,05
19	2	0,083	0,10
20	2	0,060	0,10
21	2	0,037	0,05
22	2	0,060	0,05
23	2	0,083	0,01
24	2	0,060	0,01
25	3	0,060	0,05
26	3	0,060	0,05
27	3	0,037	0,01
28	3	0,037	0,10
29	3	0,060	0,05
30	3	0,083	0,05
31	3	0,083	0,10
32	3	0,060	0,10
33	3	0,037	0,05
34	3	0,060	0,05
35	3	0,083	0,01
36	3	0,060	0,01

Asimismo, se procedió a utilizar la optimización de las múltiples respuestas (deseabilidad) utilizando Statgraphics Centurion, para la mejora del proceso en la obtención y con ello se eligió el mejor tratamiento (T) que mejores características presentó para evaluar la vida útil del queso fresco recubierto con la película.

Técnicas

Módulo de elasticidad

Se calculó el módulo de elasticidad con los datos obtenidos (Anexo 1) mediante el Analizador de textura CT3 25K (texturómetro) de marca Brookfield y utilizando la siguiente ecuación.

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \frac{(m \cdot g)(\Delta L)}{A \cdot L} \dots \dots \dots \text{ecuación 1.}$$

Donde:

E= Módulo de elasticidad

σ = Tensión mecánica

ε = Deformación

Capacidad inhibitoria

Se realizó mediante la adaptación de la técnica de difusión en agar, basada en la metodología de Bauer & Kirby a través del uso de discos de plástico embebidos en AEO diluido en alcohol (AEOA) (Hernandez et al., 2011). Se cortaron 6 discos de cada una de las 36 muestras, con un diámetro de 1cm. Seguidamente se utilizaron 3 de c/u para ser embebidas en AEOA a concentraciones de 0,01, 0,05 y 0,1% respectivamente, posteriormente fueron colocadas sobre placas Petri sembradas con *E. coli* en agar Macconkey; los 3 discos restantes de c/u fueron testigos que solo tenían AEO agregado en el proceso de obtención al igual que todas las muestras; finalmente se incubaron a 37 °C por 24 horas y se hicieron mediciones de los halos de inhibición.

Capacidad biodegradable

La capacidad biodegradable fue evaluada sumergiendo láminas de película en agua destilada, por un lapso de 24 horas (Ruiz, Montoya & Paniagua (2009). El cálculo del porcentaje de biodegradabilidad se realizó de acuerdo con los datos obtenidos (Anexo 2) y mediante la siguiente ecuación:

$$\%B = \frac{(WBI - WBF)}{WBI} \times 100 \dots \dots \dots \text{ecuación 2.}$$

Donde:

%B = Porcentaje de biodegradación

WBI = Peso de bioplástico inicial

WBF = Peso de bioplástico final

Vida útil del queso fresco recubierto con la película

El queso fresco prensado fue recubierto con la película que tenía el mejor tratamiento obtenido mediante de la optimización de las múltiples respuestas resultando el tratamiento 8 (T8).

La evaluación de la vida útil del queso recubierto se realizó mediante el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker y de coliformes totales por método del número más probable (NMP) en caldo Brilla; dando lectura a los resultados para cada muestra por triplicado después de 12 horas de incubación a 37 °C, esta evaluación se basó en la norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos (DIGESA, 2003).

Procedimiento

Para la obtención de la película antimicrobiana biodegradable se realizaron los siguientes pasos:

El lacto suero se filtró y pasteurizó; paralelamente se pesó el almidón de yuca según los RAS correspondientes (Tabla 1).

Para elaborar la película se midieron 1500 mL de suero a pH de 5,9 a 6,5 en una probeta y se multiplicaron por el RAS de 0,083; 0,060 y 0,037 g/mL respectivamente, para agregar la cantidad necesaria de almidón; se pre gelatinizó a 95 °C por 30 minutos y se gelatinizó a 125 °C durante 30 minutos en un autoclave de 20 litros de capacidad; luego se plastificó el polímero utilizando Alcohol poli vinílico (PVA) al 4% y glicerina al 2% a 95 °C con agitación manual durante 90 minutos; también se fraccionó el bioplástico en 600 mL y en caliente se agregó el AEO en las dosis respectivas para luego ser extendidas sobre una superficie lisa; después de cuatro días se retiraron las láminas secas de película y se guardaron en sobres manila en un lugar seco y fresco hasta su evaluación.

Evaluación de la película:

Para evaluación del módulo de elasticidad se cortaron 3 láminas de 25 cm² por cada unidad experimental y se procedió a realizar la evaluación utilizando el texturómetro C3.

Para la evaluación antimicrobiana se utilizó *E. coli* obtenido del Hospital Virgen de Fátima de la ciudad de Chachapoyas, fue enriquecido en caldo peptona durante 12 horas a 37 °C y finalmente sembrado en agar Macconkey para la evaluación de capacidad inhibitoria de la película.

El porcentaje de biodegradabilidad se evaluó, colocando 25 cm² de película (secadas a 30 °C por 24 horas) en bolsitas de tela (por cada UE y por triplicado) y sumergiéndolas en 250 mL de agua destilada durante 24 horas, luego se secó a 30 °C durante 24 en un estufa Ecocell y finalmente se tomaron los datos y se calculó el %B.

Para la evaluación de la vida útil del queso se recubrió el queso fresco prensado con la película con mejor tratamiento; se cortaron muestras de queso fresco prensado de 2x2x3 cm, se recubrieron con la película y se almacenaron a temperatura ambiente; finalmente se realizó el conteo de UFC de *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en el queso recubierto hasta pasar los límites microbiológicos establecidos por DIGESA.

Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza, para determinar el efecto de los factores y sus interacciones sobre las variables de respuesta; el resumen de análisis ANVA se llevó a cabo en el software estadístico STATGRAPHICS CENTURIÓN XV; asimismo este software permitió la optimización numérica de las múltiples respuestas (deseabilidad), determinando el mejor tratamiento para obtener una película antimicrobiana biodegradable permitieran evaluar la vida útil del queso recubierto con la misma.

III. RESULTADOS

Módulo de Young o Módulo de elasticidad (E)

Tabla 2. Resultados del módulo de elasticidad de la película

Nº	Ratio almidón / suero (RAS) g/mL	Aceite esencial de orégano %	Módulo de elasticidad E (MPa)
1	0,060	0,05	4,434
2	0,060	0,05	5,048
3	0,037	0,01	1,395
4	0,037	0,10	1,785
5	0,060	0,05	24,287
6	0,083	0,05	9,088
7	0,083	0,10	5,077
8	0,060	0,10	4,366
9	0,037	0,05	1,624
10	0,060	0,05	3,430
11	0,083	0,01	6,728
12	0,060	0,01	5,618
13	0,060	0,05	3,729
14	0,060	0,05	4,513
15	0,037	0,01	1,770
16	0,037	0,10	1,343
17	0,060	0,05	5,494
18	0,083	0,05	4,846
19	0,083	0,10	6,488
20	0,060	0,10	4,078
21	0,037	0,05	2,681
22	0,060	0,05	3,751
23	0,083	0,01	6,107
24	0,060	0,01	7,711
25	0,060	0,05	3,703
26	0,060	0,05	3,703
27	0,037	0,01	1,389
28	0,037	0,10	1,298
29	0,060	0,05	4,363
30	0,083	0,05	5,795
31	0,083	0,10	5,088
32	0,060	0,10	5,720
33	0,037	0,05	2,128
34	0,060	0,05	4,181
35	0,083	0,01	9,602
36	0,060	0,01	7,436

La Tabla 2, muestra los módulos de elasticidad para cada uno de los tratamientos, observando un valor alto y bajo de E para los tratamientos 5 y 28 respectivamente, considerando que el módulo de elasticidad es parámetro que caracteriza el comportamiento de un material elástico, según la dirección en la que se aplica una fuerza.

En la Tabla 3, se describe el análisis de varianza para la variable del módulo de elasticidad, demostrando la existencia de diferencia significativa entre los tratamientos y en especial para la variable RAS (p-valor < 0.05), además, este efecto significativo no repercute entre AEO y sus interacciones.

Tabla 3. Análisis de varianza para el módulo de elasticidad

Análisis de varianza					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:RAS	102,991	1	102,991	7,64	0,0100
B:AEO	8,69862	1	8,69862	0,65	0,4286
AB	2,53402	1	2,53402	0,19	0,6680
bloques	21,1049	2	10,5524	0,78	0,4670
Error total	377,569	28	13,4846		
Total (corr.)	542,2	35			

Para obtener un tratamiento optimizado en las variables de estudio como RAS y AEO se maximizó el módulo de elasticidad mediante el diseño de superficie de respuesta tal y como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Optimización para el módulo de elasticidad

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
RAS	0,037	0,083	0,083
AEO	0,01	0,1	0,01

La maximización de las variables de estudio permitió obtener un valor deseado (Óptimo) de 8,53 MPa para E, perteneciendo al tratamiento con características de RAS 0,083 g/mL y AEO 0,1 %.

Capacidad antimicrobiana o inhibitoria (CI)

Los halos de inhibición para cada uno de los tratamientos se muestran en la Tabla 5, observando mayor CI para los tratamientos 8, 20, 28 y 32 donde los halos de inhibición contra *E. coli* fueron (3,0, 3,3, 3,0 y 4 mm respectivamente), mostrando que hubo mayor inhibición en muestras con tratamiento post obtención (embebidas en AEOA), a comparación con el patrón (películas que solo contenían AEO aplicado durante la obtención, antes la etapa de extendido).

Tabla 5. Halos de inhibición según tratamiento

Nº	Ratio almidón / suero g/mL	Aceite esencial de orégano %	Capacidad inhibitoria / Halos de inhibición (mL)	
			Con AEOA	Sin AEOA
1	0,060	0,05	1,8	0,0
2	0,060	0,05	2,3	0,0
3	0,037	0,01	0,0	0,0
4	0,037	0,10	2,7	0,8
5	0,060	0,05	1,0	0,0
6	0,083	0,05	1,3	0,0
7	0,083	0,10	2,0	1,0
8	0,060	0,10	3,0	0,5
9	0,037	0,05	1,0	0,0
10	0,060	0,05	0,5	0,2
11	0,083	0,01	0,0	0,0
12	0,060	0,01	0,0	0,0
13	0,060	0,05	2,0	0,0
14	0,060	0,05	1,7	0,0
15	0,037	0,01	0,0	0,0
16	0,037	0,10	2,3	0,3
17	0,060	0,05	1,2	0,0
18	0,083	0,05	1,0	0,0
19	0,083	0,10	0,7	0,8
20	0,060	0,10	3,3	0,7
21	0,037	0,05	0,7	0,0
22	0,060	0,05	1,8	0,0
23	0,083	0,01	0,0	0,0
24	0,060	0,01	0,0	0,0
25	0,060	0,05	1,0	0,0
26	0,060	0,05	1,3	0,0
27	0,037	0,01	0,7	0,0
28	0,037	0,10	3,0	0,5
29	0,060	0,05	1,0	0,0
30	0,083	0,05	1,7	0,0
31	0,083	0,10	3,0	1,0
32	0,060	0,10	4,0	0,3
33	0,037	0,05	1,3	0,0
34	0,060	0,05	0,5	0,0
35	0,083	0,01	0,0	0,0
36	0,060	0,01	0,0	0,0

En la Figura 1, se muestra las tres placas más demostrativas en la medida de halos de inhibición de la película, para cada una de las tres concentraciones de AEOA correspondientes. En la primera placa se observa halos de inhibición entre 3 a 4 mm (para películas con 0,1% de AEO); en la segunda placa los halos de inhibición fueron de 0,5 a 2 mm (para películas con 0,05% de AEO) y en la última placa (películas con 0,1% de AEO) no se observan halos de inhibición.



Figura 1. Fotos de los halos de inhibición utilizando AEOA al 0.1, 0.05 y 0.01 %

En la Tabla 6, se describe el análisis de varianza para la variable capacidad inhibitoria, demostrando diferencia significativa entre los tratamientos y en especial para la variable AEO que tuvo efecto contra *E. coli* (p-valor < 0.05), además, este efecto significativo no repercute entre RAS y sus interacciones.

Tabla 6. Análisis de varianza para la capacidad inhibitoria

Fuente	Análisis de varianza				
	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:RAS	0,244213	1	0,244213	0,84	0,3834
B:AEO	30,2047	1	30,2047	103,86	0,0000
AB	0,264485	1	0,264485	0,91	0,3652
bloques	0,340556	2	0,170278	0,59	0,5767
Falta de ajuste	8,38279	21	0,39918	1,37	0,3213
Error puro	2,6175	9	0,290833		

Para obtener un tratamiento optimizado en las variables de estudio como AEO y RAS, se maximizó la capacidad antimicrobiana (medida en halos de inhibición) y se realizó mediante el diseño de superficie de respuesta (Tabla 7).

Tabla 7. Optimización para la capacidad inhibitoria

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
RAS	0,037	0,083	0,037
AEO	0,01	0,1	0,1

La maximización de las variables de estudio permitió obtener un valor deseado del halo de inhibición (Óptimo) de 2,96 mm. Además, permitió identificar que la película con mayor CI fue el tratamiento con características de RAS 0,037 g/mL y AEO 0,1 %.

Capacidad biodegradable (CB)

Los resultados de la biodegradabilidad se muestran en la Tabla 8; observando degradación en todas las unidades experimentales, dentro de ellas la muestra 27 (correspondiente a un RAS 0,037 g/mL y AEO 0,01 %) fue altamente biodegradable a comparación de la muestra 8 que presentó menor degradación (correspondiente a un RAS de 0,060 g/mL y AEO 0,05 %).

Tabla 8. Porcentaje de degradación de la película en agua destilada después de 24 horas

Nº	Ratio almidón / suero g/mL	Aceite esencial de orégano %	Capacidad biodegradable %
1	0,060	0,05	62,79
2	0,060	0,05	76,96
3	0,037	0,01	65,97
4	0,037	0,10	78,44
5	0,060	0,05	67,51
6	0,083	0,05	67,82
7	0,083	0,10	67,67
8	0,060	0,10	55,44
9	0,037	0,05	68,53
10	0,060	0,05	65,59
11	0,083	0,01	60,71
12	0,060	0,01	72,92
13	0,060	0,05	56,95
14	0,060	0,05	57,63
15	0,037	0,01	70,89
16	0,037	0,10	64,00
17	0,060	0,05	64,99
18	0,083	0,05	71,02
19	0,083	0,10	60,74
20	0,060	0,10	73,68
21	0,037	0,05	65,15
22	0,060	0,05	63,90
23	0,083	0,01	65,10
24	0,060	0,01	67,38
25	0,060	0,05	71,13
26	0,060	0,05	74,85
27	0,037	0,01	81,82
28	0,037	0,10	70,56
29	0,060	0,05	71,07
30	0,083	0,05	67,55
31	0,083	0,10	65,31
32	0,060	0,10	59,29
33	0,037	0,05	73,66
34	0,060	0,05	69,01
35	0,083	0,01	59,04
36	0,060	0,01	65,84

En la Tabla 9, se describe el análisis de varianza para la variable capacidad biodegradable, demostrando la existencia de diferencia significativa entre los tratamientos y en especial para la variable RAS (p-valor < 0.05), además, este efecto significativo no repercute entre AEO y sus interacciones.

Tabla 9. Análisis de varianza para la capacidad biodegradable de la película

Fuente	Análisis de varianza			Razón-F	Valor-P
	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio		
A:RAS	9030,8	1	9030,8	49,08	0,0428
B:AEO	9,44809	1	9,44809	0,05	0,5672
AB	12,768	1	12,768	0,07	0,5437
bloques	1032,16	2	516,081	2,80	0,5778
Error total	5520,01	30	184,0		
Total (corr.)	15593,0	35			

Para obtener un tratamiento optimizado en las variables de estudio como RAS y AEO se minimizó la capacidad biodegradable mediante el diseño de superficie de respuesta, cuyos resultados se puede apreciar en la Tabla 10.

Tabla 10. Optimización para la capacidad biodegradable de la película

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
RAS	0,037	0,083	0,083
AEO	0,01	0,1	0,01

La minimización de las variables de estudio permitió obtener un valor deseado (Óptimo) de 64,026% de biodegradación de la película. Además, permitió identificar que la película con menor %B fue el tratamiento con características de RAS 0,083 g/mL y AEO 0,01 %.

Vida útil del queso recubierto con la película

Mediante la optimización de las múltiples respuestas en Tabla 11, se encontró la mejor formulación para la película con capacidad antimicrobiana y biodegradable para el envasado de queso fresco prensado; siendo la unidad experimental número 8 (perteneciente a la película elaborada con RAS 0,060 g/mL y AEOA 0,1%).

Tabla 11. Optimización de las múltiples respuestas

Fila	Biodegradabilidad	E	Capacidad inhibitoria	Deseabilidad Prevista	Deseabilidad Observada
1	62,791	4,434	1,8	0,562519	0,656233
2	76,966	5,048	2,3	0,562519	0,471708
3	65,969	1,395	0,0	0,000000	0,000000
4	78,443	1,785	2,7	0,579662	0,226868
5	67,507	24,287	1,0	0,562519	0,000000
6	67,822	9,088	1,3	0,482233	0,513235
7	67,665	5,077	2,0	0,679815	0,642980
8	55,440	4,366	3,0	0,763271	0,861240
9	68,528	1,624	1,0	0,407036	0,225060
10	65,594	3,430	0,5	0,562519	0,357018
11	60,714	6,728	0,0	0,000000	0,000000
12	72,917	5,618	0,0	0,330915	0,000000
13	56,949	3,729	2,0	0,565719	0,682668
14	57,627	4,513	1,7	0,565719	0,703309
15	70,886	1,770	0,0	0,000000	0,000000
16	64,000	1,343	2,3	0,342313	0,169298
17	64,982	5,494	1,2	0,565719	0,570429
18	71,023	4,846	1,0	0,508683	0,465358
19	60,736	6,488	0,7	0,725739	0,504504
20	73,684	4,078	3,3	0,68659	0,581218
21	65,152	2,681	0,7	0,281724	0,348847
22	63,900	3,751	1,8	0,565719	0,592659
23	65,103	6,107	0,0	0,0	0,000000
24	67,380	7,711	0,0	0,323255	0,000000
25	71,134	3,703	1,0	0,556202	0,407381
26	74,854	3,703	1,3	0,556202	0,385500
27	81,818	1,389	0,7	0,109651	0,000000
28	70,556	1,298	3,0	0,358407	0,000000
29	71,069	4,363	1,0	0,556202	0,442572
30	67,550	5,795	1,7	0,506449	0,603015
31	65,306	5,088	3,0	0,692573	0,774692
32	59,292	5,720	4,0	0,667017	0,935171
33	73,661	2,128	1,3	0,282651	0,285038
34	69,006	4,181	0,5	0,556202	0,364918
35	59,036	9,602	0,0	0,24882	0,000000
36	65,839	7,436	0,0	0,380923	0,000000

En la Tabla 12, se observó que el tiempo de vida útil basados en los criterios microbiológicos dispuestos por DIGESA¹, para la evaluación de queso fresco recubierto con la película obtenida y almacenada a temperatura ambiente, en relación a *S. aureus* y coliformes totales ha sido de dos y tres días respectivamente.

¹ Nota: Queso fresco, se realizaron tres observaciones y se promediaron los resultados para obtener UFC/g para los dos agentes microbianos, según NTP se recomienda realizar 5 observaciones.

Tabla 12. Vida útil del queso fresco prensado recubierto con la película

Días	<i>Staphylococcus aureus</i>		Coliformes totales (NMP)	
	UFC/ g en queso recubierto	Límite de UFC/ g en queso según DIGESA	UFC/g en queso recubierto	Límite de UFC/g según DIGESA
0	25	10 a 10 ²	60	5X10 ² a 10 ³
1	63	10 a 10 ²	83	5X10 ² a 10 ³
2	98	10 a 10²	190	5X10 ² a 10 ³
3	153	10 a 10 ²	500	5X10² a 10³
4	475	10 a 10 ²	1100	5X10 ² a 10 ³

La aplicación de la película biodegradable sobre la superficie del queso fresco prensado para la evaluación de la vida útil, permitió observar la etapa de adaptación y acondicionamiento de *S. aureus*, hasta el tercer día, posterior a ello se aprecia la etapa de crecimiento exponencial. También, ha permitido obtener la ecuación de la tasa de crecimiento microbiológico donde indica que, para 26 UFC/g de *S. aureus* la tasa de crecimiento relativo fue de 0.6805 UFC/g por cada día transcurrido (Figura 2).

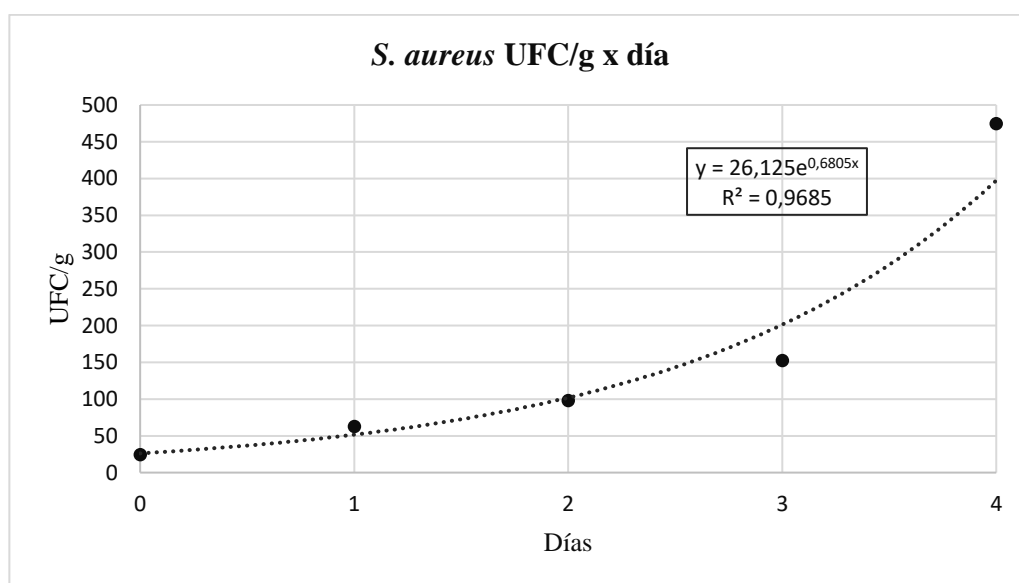


Figura 2. Crecimiento de UFC de *S. aureus* en muestras de queso fresco prensado envasado con la película producida.

La Figura 3, se observa las etapas de adaptación y acondicionamiento de coliformes totales en el queso fresco recubierto con la película durante el día uno y dos, posterior a ello se puede apreciar la etapa de crecimiento exponencial; además se ha obtenido la ecuación de la tasa de crecimiento microbiológico donde indica que, para 48 UFC/g de *S. aureus* la tasa de crecimiento relativo fue de 0,6805 UFC/g por cada día transcurrido (Figura 3).

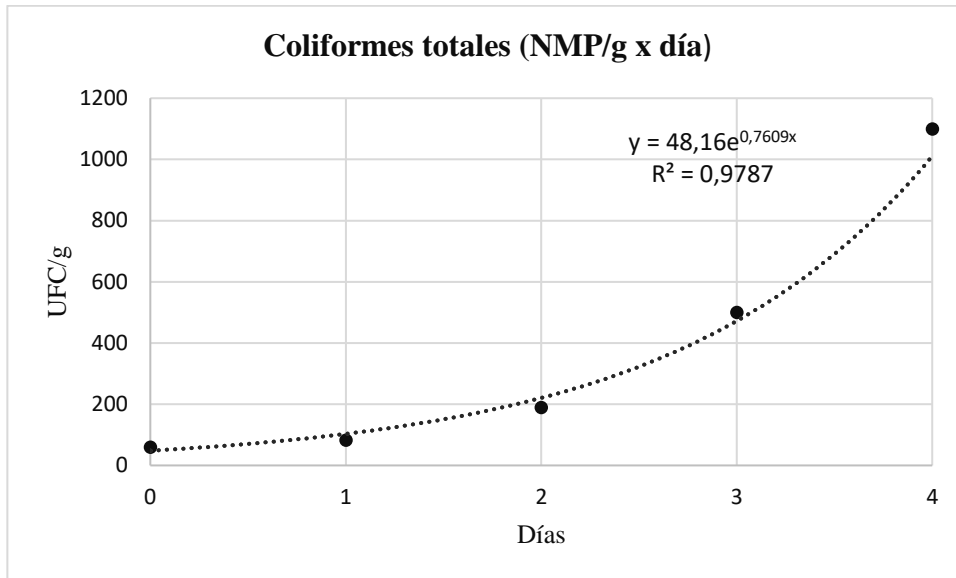


Figura 3. Crecimiento de NMP de Coliformes totales en muestras de queso fresco envasado con la película.

IV. DISCUSIÓN

Los biopolímeros son alternativas rentables y ecológicas ante el uso desmedido de plásticos, ya que están elaborados a partir de fuentes renovables, por ello se vienen investigando los diferentes métodos para mejorar las características de los biopolímeros para (Valero, Ortegón & Uscategui, 2013).

Bustamante & Peralta, (2018) obtuvieron un biopolímero a partir de la mezcla de caseína con almidón de yuca en la proporciones 1/4, es decir se mezcló 1g de caseína con 4 g de almidón para formar la base polimérica (BP) la cual fue diluida en agua en una proporción de 0,05 g de BP; en la investigación de (López, Chavez, & Chuquizuta, 2017), elaboraron biopolímero a partir de almidón de yuca, el cual fue diluido en una proporción de 0,06 g por mL de agua; teniendo en cuenta estos parámetros, se obtuvo polímeros a partir de la dilución de almidón de yuca en suero de queso en tres proporciones, los cuales fueron (0,037, 0,60 y 0,083 g/mL de RAS), que están dentro de los rango según autores ya mencionados, permitiendo evaluar propiedades de la película como el módulo de elasticidad, capacidad antimicrobiana y biodegradable como también su aplicación sobre la superficie de queso fresco (evaluando vida útil).

El módulo de elasticidad (E) o módulo de Young (Y) es una propiedad mecánica que se mide en las películas. Carissimi, Hickmann y Rech (2018), obtuvo películas de la oxidación lipídica de yuca con extracto de micro algas, a partir de ello evaluaron Y, donde la película con el mejor tratamiento presentó 316.7 ± 48.9 MPa y el más bajo fue de $6,0 \pm 0,4$ MPa; en el estudio de Li et al. (2017), el módulo de elasticidad de las películas almidón de batata y AEO (0 y 1.5%) fue $8,93 \pm 1,0$ MPa siendo el más bajo y $37,39 \pm 3,88$ MPa siendo el más alto, indicando además que las películas con más incorporación de AEO disminuyen el módulo de elasticidad; lo que se puede corroborar con el estudio de Lee et al. (2019), donde el módulo de elasticidad tenía una disminución significativamente a medida que aumentaba la concentración de AEO. En la presente investigación se obtuvo módulos de elasticidad bajos a comparación de los autores antes mencionados, en el cual el más alto fue de 24,3 MPa (0,05% AEO y RAS 0,060) y el más bajo de 1,29 MPa (0,1% AEO y RAS 0,037), observando la misma tendencia respecto a la concentración de AEO y E.

Nisar et al. (2017), evaluaron la capacidad inhibitoria del aceite esencial de clavo de olor (CLO), en niveles 0,5 %, 1,0 % y 1,5 contra *E. coli*, presente en películas de pectina compuestas activas y mediante el uso del método de difusión en disco, realizaron la lectura de los halos de inhibición que se incrementó de 12,53 mm a 21,20 mm según los niveles de CLO respectivos; mientras que Arfat et al. (2018) también desarrollaron películas de poliácida (PLA), incorporando CLO (15-30%) y nano-hojas de óxido de grafeno (1% p / p) el cual tuvo efecto contra *E. coli* pero fue menor a comparación con otras bacterias gram positivas, demostrando que el CLO no es el aceite más adecuado para tratar *E. coli*; sino que hay otros más específicos.

De los resultados obtenidos, los halos de inhibición contra *E. coli* fueron mayores de 1 mm a 4 mm, cuando se aplicó AEOA al 0.1%, siendo muy bajos a comparación de los resultados que obtuvieron Lee et al. (2019) quienes evaluaron la combinación de hidroxipropilmetilcelulosa con nano emulsión de aceite esencial de orégano (AEO) en 0, 2.5, 5, 7.5% (v / v), evaluando su efecto contra *E. coli*, dando como resultados halos de inhibición mayores a 20 y 30 mm de acuerdo a los respectivos tratamientos.

La biodegradabilidad o solubilidad en agua de las películas es muy importante ya de acuerdo a sus aplicaciones en los alimentos, se requieren de preferencia porcentajes bajos de solubilidad. En el estudio de Dos Santos et al. (2018), la solubilidad en agua de la película partir de almidón de yuca/extracto de residuo de calabaza y AEO 2%, fueron de 17 a 22%, además el aumento de AEO no redujo la solubilidad porque había mayor cantidad de glicerol haciéndolo más hidrofílicos a la película mientras que el estudio de Nisar et al. (2017), la solubilidad de las películas de pectina en agua destilada fueron de 25,37 a 17,44% al aumentar la concentración de aceite AEO de 0,5 a 1,5%.

Devi y Dutta (2019), fabricaron películas de quitosano/ almidón/ halloysite (ChSHT), donde solubilidad en agua de la película fueron, 38 a 40 % para películas ChS y de 10 a 17% para películas ChSHT, lo que indicaron que a mayor composición de la base polimérica menor solubilidad en agua; por otro lado la solubilidad en agua de la película obtenidas en este trabajo, a partir de 0,037 g/mL de RAS y 0,01% AEO fue la que presentó 81% solubilidad siendo la más alta,

mientras que la película con menor % de solubilidad fue la película a partir de 0,060 de RAS y 0,1 % AEO el cual fue de 55,4 siendo la más baja que contrastando este último resultado con los demás autores la solubilidad o biodegradabilidad es muy alta.

La aplicación de las películas antimicrobianas en los alimentos es cada vez más estudiada, con la finalidad de prolongar la vida útil de alimentos mediante una alternativas saludables; es por ello, autores como Artiga, Acevedo y Martín (2017), lograron incrementar la vida útil del queso hasta 15 días reduciendo la carga microbiana de *S. aureus* de 1,4 y 1,5 log CFU / g en trozos de queso recubiertos que contenían 2,0 y 2,5% de AEO en refrigeración, mientras que al utilizar 1,5% de AEO no tuvo efecto significativo en la reducción del microorganismo; asimismo, Diniz et al. (2019) incrementó la vida útil de queso recubriendo con una mezcla de aceites esenciales AEO y aceite esencial de romero (AER) en refrigeración hasta 21 días, reduciendo la carga microbiana mesófila y *E. coli*; además también logró mantener las características fisicoquímicas y organolépticas de este alimento.

La norma sanitaria según DIGESA (2003), establece criterios microbiológicos para el control de calidad e inocuidad del queso fresco indicando que los límites microbiológicos presentes en este alimento deben ser de 10 a 10^2 para *S. aureus* y 5×10^2 a 10^3 para coliformes totales. De acuerdo a esta norma, el presente estudio evaluó la vida útil del queso cubierto con la película elaborada con el mejor tratamiento (0,067 g/ mL de RAS y 0,1% de AEO), en el cual se realizó el conteo diario de UFC/g determinando que la película solo mantiene inocuo al queso fresco prensado durante dos a tres días almacenados a temperatura ambiente, ya que a partir del tercer día el crecimiento de colonias de *S. aureus* y coliformes totales exceden los límites microbiológicos ya establecidos (Tabla 12); asimismo este tiempo de vida útil, es muy bajo a comparación de autores mencionados anteriormente.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo al estudio realizado, para obtener una película con un módulo de elasticidad mayor es necesario utilizar el ratio almidón/suero de 0,060 con 0,1% de aceite esencial de orégano.

Con una concentración de aceite esencial de orégano de 0,1 % en la película obtenida, se evaluó el tiempo de vida útil mediante el conteo de UFC/g de *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en el queso fresco, manteniéndolo inocuo de dos a tres días a temperatura ambiente.

Aunque con factores mencionados se obtiene una película con muy buenas propiedades físicas, la concentración de aceite esencial de orégano no fue suficiente para dotarle de capacidad antimicrobiana e incrementar el tiempo de vida útil al queso fresco.

VI. RECOMENDACIONES

Lo resultados sugieren emplear el mejor ratio de almidón/ suero (0.060 g/mL) y mayores dosis de aceite a esencial de orégano para obtener películas con mayor capacidad inhibitoria y prolongar la vida útil del queso fresco; además es necesario seguir evaluando el efecto que existe entre la combinación de bases poliméricas y aceites esenciales para fortalecer las propiedades de películas para diferentes matrices alimentarias.

Es conveniente estudiar las propiedades de barrera de la película y las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del queso para tratar incrementar la vida útil de este a diferentes temperaturas de almacenamiento.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arfat, Y., Ahmed, J., Ejaz, M., & Mullah, M. (2018). Polylactide/graphene oxide nanosheets/clove essential oil composite films for potential food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 194-203. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.156>
- Artiga, M., Acevedo, A., & Martín, O. (2017). Improving the shelf life of low-fat cut cheese using nanoemulsion-based edible coatings containing oregano essential oil and mandarin fiber. *Food Control*, 76, 1-12. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.001>
- Bustamante , E., & Peralta, B. (2018). *Caracterización de biopolímero obtenido a partir de de leche de vaca y almidón de yuca*". Guayaquil. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/28021/1/tesis%20eduardo%20bustamante%20y%20bethsabe%20peralta.pdf>
- Carissimi, M., Hickmann, S., & Rech, R. (2018). Effect of microalgae addition on active biodegradable starch film. *Algal Research*, 201-209. doi:<https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.04.001>
- Devi, N., & Dutta , J. (2019). Development and in vitro characterization of chitosan/starch/ halloysite nanotubes ternary nanocomposite films. *Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 222-231. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.047>
- DIGESA. (2003). *Norma sanitaria que establece los criterios microbiologicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. Obtenido de http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf
- Diniz, H., De Sousa, J., Da Silva, J., Ramos, R., Suely, M., Fachine, J., . . . Magnani, M. (2019). A synergistic mixture of *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils to preserve overall quality and control *Escherichia coli* O157:H7 in fresh cheese during storage. *LWT - Food Science and Technology*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.039>.
- Dos Santos , K., Almeida, N., Haas, T., Eliseu, A., Hickmann, S., & Cladera, F. (2018). Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural

compounds. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 138-147.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.006>

FAO. (2014). *Ganado Procesado*. Obtenido de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QP>

García, J. (2002). Contaminantes medio-ambientales en la alimentación. Obtenido de <http://www.afanion.org/documentos/Contaminantes%20medioambientales%20en%20la%20alimentaci%C3%B3n.pdf>

Greenpeace. (2016). *Plásticos en los océanos Datos, comparativas e impactos*. Obtenido de https://archivo-es.greenpeace.org/espana/Global/espana/2016/report/plasticos/plasticos_en_los_oceanos_LR.pdf

Guevara, D. (Diciembre de 2018). 2019, un año de retos para la industria plástica en América Latina. *Tecnología del plástico*. Obtenido de <http://www.plastico.com/temas/2019,-un-ano-de-retos-para-la-industria-plastica-en-America-Latina+128679?pagina=2>

Hernandez, L., Gonzales, A., Gutierrez, N., Muñoz, L., & Quintero, A. (2011). Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(3), 455-463. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v10n3/v10n3a11.pdf>

Howard, B., Gibbens, S., Zachos, E., & Parker, L. (17 de Enero de 2019). A running list of action on plastic pollution. *National Geographic*. Obtenido de <https://www.nationalgeographic.com/environment/2018/07/ocean-plastic-pollution-solutions/>

Huanca, D., & Solis, R. (2010). *Determinación de nitritos y nitratos en hot dogs de consumo de consumo directo por estudiantes de 5° y 6° grado de educación primaria del distrito Villa el Salvador*. Lima. Obtenido de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1635>

Laville, S. (3 de enero de 2019). Ditch cling film and switch to soap': 10 easy ways to reduce your plastics use in 2019. *The guardian*. Obtenido de <https://www.theguardian.com/environment/2019/jan/03/plastics-consumption-reduce-2019-10-easy-ways>

- Laville, S. (21 de enero de 2019). *Founders of plastic waste alliance 'investing billions in new plants'*. Obtenido de El guardián: <https://www.theguardian.com/environment/2019/jan/21/founders-of-plastic-waste-alliance-investing-billions-in-new-plants>
- Lee, J., Garcia, C., Shin, G., & Kim, J. (2019). Antibacterial and antioxidant properties of hydroxypropyl methylcellulose-based active composite films incorporating oregano essential oil nanoemulsions. *LWT - Food Science and Technology*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.061>
- Li, J., Ye, F., Lei, L., & Zhao, G. (2017). Combined effects of octenylsuccination and oregano essential oil on sweet potato starch films with an emphasis on water resistance. *Biomac*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.093
- López, M. (2004). *Mejoramiento de la vida en anaquel del queso tradicional rancharo y queso de pasta hilada oaxaca*. Obtenido de <http://www.bib.uia.mx/tesis/pdf/014485/014485.pdf>
- López, S., Chavez, S., & Chuquizuta, T. (2017). Evaluación de la vida útil de dos frutas usando un envase biodegradable de yuca. *Investig. Altoandin*, 19(4), 373-380.
- Nisar, T., Chao, .., Yang, Y., Tian, Y., Iqbal, M., & Guo, Y. (2017). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.068>
- Orberá , T. (2004). Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Rev Cubana Salud Pública*, 30(3). Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662004000300016
- Ruiz , G., Montoya, C., & Panigua , M. (2009). Degradabilidad de un polímero de almidón de yuca. *Revista EIA*, 67-78. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/eia/n12/n12a06.pdf>
- Valero , M., Ortégón , Y., & Uscategui, Y. (2013). Biopolímeros: avances y perspectivas. *Dyna*, 171-180. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v80n181/v80n181a19.pdf>

- Varela, Z., Pérez, L., & Estrada, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Salud Uninorte*, 32(1).
Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v32n1/v32n1a10.pdf>
- Vásquez, M., Alvarado, R., Saldaña, w., & Reyes. (2014). Efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* en la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Salmonella parathypi* y *Salmonella enteritidis* en carne de cerdo pasteurizada y refrigerada. *Revista Rebiol* , 57-68. Obtenido de <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/589/551>
- Zapata, D., Pujol, R., & Coda, F. (2012). Polímeros biodegradables: una alternativa de futuro a la sostenibilidad del medio ambiente. *Técnica Industria*(297), 76-80.
Obtenido de <http://www.tecnicaindustrial.es/tiadmin/numeros/82/889/a889.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Resultados del módulo de elasticidad.

Tabla 13. Módulo de elasticidad de la película antimicrobiana biodegradable

N°	Bloque	Ratio almidón / suero	Aceite esencial de Orégano	Longitud de Extensibilidad			TOTAL	Espesor	Fuerza	Área	Deformación	Módulo de elasticidad
		g/mL	%	R1	R2	R3	PROM (mm)	mm	fuerza (N)	área	$\epsilon = L/\Delta L$	E (MPa)
1	1,00	0,060	0,055	12,86	11,68	13,75	12,76	0,8	25	0,000706858	0,00797708	4,434
2	1,00	0,060	0,055	9,79	4,78	19,06	11,21	0,8	25	0,000706858	0,00700625	5,048
3	1,00	0,037	0,01	18,42	13,37	13,85	15,21	0,3	25	0,000706858	0,02535556	1,395
4	1,00	0,037	0,1	14,83	10,78	10,05	11,89	0,3	25	0,000706858	0,01981111	1,785
5	1,00	0,060	0,055	2,44	1,67	2,88	2,33	0,8	25	0,000706858	0,00145625	24,287
6	1,00	0,083	0,055	2,23	12,47	8,65	7,78	1	25	0,000706858	0,00389167	9,088
7	1,00	0,083	0,1	15,28	12,39	14,13	13,93	1	25	0,000706858	0,00696667	5,077
8	1,00	0,060	0,1	15,69	15,27	7,92	12,96	0,8	25	0,000706858	0,0081	4,366
9	1,00	0,037	0,055	10,98	13,51	14,70	13,06	0,3	25	0,000706858	0,02177222	1,624
10	1,00	0,060	0,055	6,19	13,70	11,04	10,31	0,5	25	0,000706858	0,01031	3,430
11	1,00	0,083	0,01	13,53	9,13	8,88	10,51	1	25	0,000706858	0,00525667	6,728
12	1,00	0,060	0,01	4,36	13,57	12,29	10,07	0,8	25	0,000706858	0,00629583	5,618
13	2,00	0,060	0,055	14,73	15,38	15,42	15,18	0,8	25	0,000706858	0,00948542	3,729
14	2,00	0,060	0,055	14,35	13,00	10,27	12,54	0,8	25	0,000706858	0,0078375	4,513
15	2,00	0,037	0,01	13,24	8,06	14,66	11,99	0,3	25	0,000706858	0,01997778	1,770
16	2,00	0,037	0,1	16,41	15,64	15,37	15,81	0,3	25	0,000706858	0,02634444	1,343
17	2,00	0,060	0,055	4,75	11,39	14,76	10,30	0,8	25	0,000706858	0,0064375	5,494
18	2,00	0,083	0,055	14,40	14,01	15,38	14,60	1	25	0,000706858	0,00729833	4,846
19	2,00	0,083	0,1	11,21	10,67	10,83	10,90	1	25	0,000706858	0,00545167	6,488
20	2,00	0,060	0,1	14,69	13,33	13,61	13,88	0,8	25	0,000706858	0,00867292	4,078
21	2,00	0,037	0,055	7,85	3,16	12,74	7,92	0,3	25	0,000706858	0,01319444	2,681
22	2,00	0,060	0,055	15,28	14,71	15,27	15,09	0,8	25	0,000706858	0,00942917	3,751
23	2,00	0,083	0,01	14,93	12,93	6,89	11,58	1	25	0,000706858	0,00579167	6,107
24	2,00	0,060	0,01	7,55	4,14	2,07	4,59	0,5	25	0,000706858	0,00458667	7,711
25	3,00	0,060	0,055	15,28	15,28	15,28	15,28	0,8	25	0,000706858	0,00955	3,703
26	3,00	0,060	0,055	15,28	15,28	15,28	15,28	0,8	25	0,000706858	0,00955	3,703
27	3,00	0,037	0,01	11,71	13,37	20,75	15,28	0,3	25	0,000706858	0,02546111	1,389
28	3,00	0,037	0,1	25,45	8,73	14,88	16,35	0,3	25	0,000706858	0,02725556	1,298
29	3,00	0,060	0,055	8,64	15,31	14,96	12,97	0,8	25	0,000706858	0,00810625	4,363
30	3,00	0,083	0,055	9,44	13,97	13,21	12,21	1	25	0,000706858	0,00610333	5,795
31	3,00	0,083	0,1	12,82	15,15	13,74	13,90	1	25	0,000706858	0,00695167	5,088
32	3,00	0,060	0,1	11,99	9,94	7,75	9,89	0,8	25	0,000706858	0,00618333	5,720
33	3,00	0,037	0,055	13,00	7,10	9,81	9,97	0,3	25	0,000706858	0,01661667	2,128
34	3,00	0,060	0,055	13,30	14,46	12,84	13,53	0,8	25	0,000706858	0,00845833	4,181
35	3,00	0,083	0,01	12,54	4,36	5,20	7,37	1	25	0,000706858	0,00368333	9,602
36	3,00	0,060	0,01	1,16	9,19	12,48	7,61	0,8	25	0,000706858	0,00475625	7,436

Anexo 2. Resultados de la evaluación de la capacidad biodegradable.

Tabla 14. Capacidad biodegradable de la película antimicrobiana biodegradable

N°	Bolsitas de tela PBT inicial				Bioplástico (BBI)				Peso final de la muestra + bolsita de tela				PBT-PBF	C, biodegradable
	r1	r2	r3	PBT	r1	r2	r3	PBI	R1	R2	R3	PBF	g	%
1	1,03	0,91	0,93	0,96	0,68	0,63	0,41	0,57	1,19	1,13	1,19	1,17	0,21	62,791
2	0,91	0,92	0,93	0,92	0,39	0,68	0,71	0,59	1,03	1,11	1,03	1,06	0,14	76,966
3	0,89	0,86	0,83	0,86	0,65	0,63	0,63	0,64	1,09	1,05	1,09	1,08	0,22	65,969
4	0,91	0,92	0,98	0,94	0,64	0,59	0,44	0,56	1,05	1,07	1,05	1,06	0,12	78,443
5	0,91	0,87	0,93	0,90	1,23	1,07	1,27	1,19	1,3	1,27	1,3	1,29	0,39	67,507
6	0,90	0,88	0,87	0,88	1,05	1,41	1,58	1,35	1,28	1,39	1,28	1,32	0,43	67,822
7	0,88	0,90	0,94	0,91	1,14	0,79	1,41	1,11	1,22	1,15	1,23	1,20	0,29	73,653
8	0,93	0,94	0,85	0,91	0,72	0,60	0,61	0,64	1,19	1,2	1,19	1,19	0,29	55,440
9	0,91	0,90	0,90	0,90	0,56	0,63	0,78	0,66	1,11	1,11	1,11	1,11	0,21	68,528
10	0,95	0,87	0,94	0,92	1,36	1,19	1,49	1,35	1,43	1,29	1,43	1,38	0,46	65,594
11	0,88	0,97	0,90	0,92	1,14	1,10	1,12	1,12	1,37	1,33	1,37	1,36	0,44	60,714
12	0,90	0,88	0,92	0,90	1,20	1,30	1,34	1,28	1,25	1,24	1,25	1,25	0,35	72,917
13	0,89	0,87	0,93	0,90	0,92	1,10	0,93	0,98	1,31	1,34	1,31	1,32	0,42	56,949
14	0,92	0,90	0,94	0,92	0,84	0,79	0,73	0,79	1,26	1,24	1,26	1,25	0,33	57,627
15	0,88	0,87	0,88	0,88	0,55	0,50	0,53	0,53	1,03	1,03	1,03	1,03	0,15	70,886
16	0,88	0,89	0,78	0,85	0,58	0,46	0,46	0,50	1,05	0,99	1,05	1,03	0,18	64,000
17	0,82	0,74	0,77	0,78	0,89	0,92	0,96	0,92	1,1	1,1	1,1	1,10	0,32	64,982
18	0,82	0,81	0,78	0,80	1,02	1,25	1,25	1,17	1,14	1,15	1,14	1,14	0,34	71,023
19	0,80	0,75	0,71	0,75	1,78	1,73	1,38	1,63	1,42	1,34	1,42	1,39	0,64	60,736
20	0,75	0,80	0,82	0,79	1,25	1,07	1,10	1,14	1,09	1,09	1,09	1,09	0,30	73,684
21	0,80	0,75	0,71	0,75	0,79	0,56	0,63	0,66	1,03	0,89	1,03	0,98	0,23	65,152
22	0,79	0,81	0,74	0,78	0,73	0,89	0,79	0,80	1,01	1,19	1,01	1,07	0,29	63,900
23	0,78	0,76	0,82	0,79	1,17	0,98	1,26	1,14	1,2	1,15	1,2	1,18	0,40	65,103
24	0,82	0,78	0,74	0,78	1,43	1,00	1,31	1,25	1,24	1,08	1,24	1,19	0,41	67,380
25	0,77	0,79	0,76	0,77	0,60	0,66	0,68	0,65	0,94	1	0,94	0,96	0,19	71,134
26	0,78	0,75	0,74	0,76	0,53	0,53	0,65	0,57	0,91	0,88	0,91	0,90	0,14	74,854
27	0,70	0,73	0,72	0,72	0,52	0,54	0,48	0,51	0,79	0,85	0,79	0,81	0,09	81,818
28	0,76	0,74	0,75	0,75	0,64	0,58	0,58	0,60	0,95	0,88	0,95	0,93	0,18	70,556
29	0,81	0,76	0,73	0,77	0,43	0,41	0,75	0,53	0,96	0,84	0,96	0,92	0,15	71,069
30	0,65	0,79	0,81	0,75	1,07	1,11	0,84	1,01	0,98	1,27	0,98	1,08	0,33	67,550
31	0,73	0,79	0,79	0,77	1,17	0,81	0,96	0,98	1,14	1,05	1,14	1,11	0,34	65,306
32	0,80	0,79	0,71	0,77	1,12	1,05	1,22	1,13	1,33	1,21	1,14	1,23	0,46	59,292
33	0,81	0,79	0,78	0,79	0,70	0,66	0,88	0,75	1	0,97	1	0,99	0,20	73,661
34	0,74	0,76	0,76	0,75	0,63	0,47	0,61	0,57	0,94	0,91	0,94	0,93	0,18	69,006
35	0,72	0,77	0,74	0,74	1,11	1,35	0,86	1,11	1,16	1,27	1,16	1,20	0,45	59,036
36	0,72	0,81	0,73	0,75	1,19	0,91	1,12	1,07	1,12	1,12	1,12	1,12	0,37	65,839

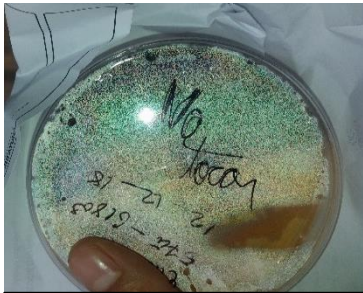
Anexo 3. Etapas de la investigación



Figura 4. Proceso de elaboración de la película



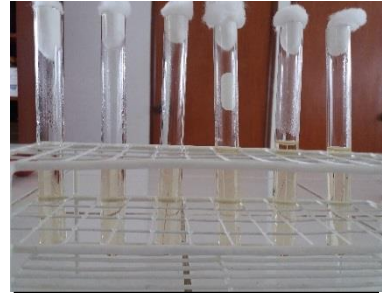
Figura 5. Evaluación del módulo de elasticidad de la película



Obtención de las colonias puras de *E. coli*



Preparación de la peptona water.



Dilución de colonias.



Siembra de *E. coli* en agar macconkey en 108 placas Petri.



Incubación a 37 °C por 24 horas.

Figura 6. Evaluación de la capacidad inhibitoria de la película



Bolsitas con bioplástico sumergidas en agua destilada a T° ambiente.



Retiro de las bolsitas, después de 24 horas.



Secado de las bolsitas utilizando el estufa a 30 ° por 24 horas.

Figura 7. Evaluación de la degradabilidad de la película.



Obtención y corte del queso fresco prensado.



Envasado del queso con la película



Preparación de peptone water, agar Baird Parker y caldo brilla



Siembra en caldo brilla, para determinar NMP UFC coliformes totales.



Siembra en agar Baird Parker, para el conteo de UFC/g de *S. aureus*.



Incubación a 37 °C por 24 horas.



Conteo de UFC de *S. aureus*.



Lectura del NMP de coliformes totales.

Figura 8. Evaluación de la vida útil del queso fresco recubierto con la película.