

ORIGINAL

## Active packaging technology: cassava starch/orange essential oil for antimicrobial food packaging

### Tecnología de empaques activos: almidón de yuca/ aceite esencial de naranja para el envasado antimicrobiano de alimentos

Olga Lucia Torres Vargas<sup>1</sup> , Iván Andrés Rodríguez Agredo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad del Quindío, Grupo de Investigación en Ciencias Agroindustriales (GICA) Instituto Interdisciplinario de las Ciencias, Laboratorio de Ingeniería de Alimentos, Armenia, Quindío. Colombia.

**Citar como:** Torres Vargas OL, Rodríguez Agredo IA. Active packaging technology: cassava starch/orange essential oil for antimicrobial food packaging. Multidisciplinar (Montevideo). 2024; 2:102. <https://doi.org/10.62486/agmu2024102>

Recibido: 24-12-2023

Revisado: 03-04-2024

Aceptado: 31-07-2024

Publicado: 01-08-2024

Editor: Misael Ron 

#### ABSTRACT

New technologies for active food packaging that can protect and interact with the food, increasing its shelf life are currently being developed. Essential oils are active compounds that, in addition to providing antibacterial protection, can improve the functional and mechanical properties of films. This research aimed to evaluate the influence of orange (*Citrus sinensis* L.) essential oil (AEN) on the physical and antimicrobial properties of active films produced from cassava (*Manihot esculenta*) starch and alginate (AY/AG) using the plate diffusion technique. The films were formulated with different concentrations of AEN (0, 0,5, 1,0 and 1,5 %). Elongation at break (EB), water vapor permeability (WVP), moisture content, solubility and Luminosity ( $L^*$ ) decreased significantly ( $p < 0,05$ ) with the addition of AEN, on the other hand, tensile strength (TS),  $b^*$  value (tendency towards yellow) and opacity increased. Scanning electron microscopy (SEM) images showed a smooth, uniform appearance and continuous dispersion between cassava starch, alginate. The results obtained indicated that the incorporation of AEN presented an inhibitory effect against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. Therefore, the films obtained have a high potential to be used in the development of antimicrobial packaging for food applications.

**Keywords:** Orange Essential Oil; Antimicrobial Activity; Starch Films; Physical Properties.

#### RESUMEN

Nuevas tecnologías para el envasado activo de alimentos que pueden proteger e interactuar con el alimento, aumentando su vida útil se están desarrollando en la actualidad. Los aceites esenciales son compuestos activos que, además de brindar protección antibacteriana, pueden mejorar las propiedades funcionales y mecánicas de las películas. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la influencia del aceite de esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) (AEN) en las propiedades físicas y antimicrobianas de películas activas producidas a partir de almidón de yuca (*Manihot esculenta*) y alginato (AY/AG) mediante la técnica de difusión en placa. Las películas fueron formuladas con diferentes concentraciones de AEN (0, 0,5, 1,0 y 1,5 %). El alargamiento a la rotura (EB), la permeabilidad al vapor de agua (WVP), el contenido de humedad, la solubilidad y la Luminosidad ( $L^*$ ) disminuyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) con la adición de AEN, en cambio, la resistencia a la tracción (TS), el valor de  $b^*$  (tendencia hacia el amarillo) y la opacidad aumentaron. Las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) mostraron una apariencia lisa, uniforme y una dispersión continua entre el almidón de yuca, el alginato. Los resultados obtenidos indicaron que la incorporación de AEN presentó un efecto inhibitorio contra las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Por lo tanto, las películas obtenidas, tienen un alto potencial para ser utilizadas en el desarrollo de empaques antimicrobianas para aplicaciones alimentarias.

**Palabras clave:** Aceite Esencial de Naranja; Actividad Antimicrobiana; Películas de Almidón; Propiedades Físicas.

## INTRODUCCIÓN

Los compuestos antimicrobianos se incorporan en películas comestibles como componentes bioactivos para mejorar la seguridad y calidad de los alimentos. Los aceites esenciales exhiben fuertes propiedades antimicrobianas, pueden mejorar las propiedades funcionales y mecánicas de las películas (Sadaf & Idrees, 2022).

Prolongada la calidad, la seguridad y la vida útil de los productos agrícolas, aumenta la aceptabilidad del consumidor. Las películas comestibles representan una solución alternativa para la conservación de vegetales mínimamente procesados. Los materiales de recubrimiento con antimicrobianos naturales pueden ser una oportunidad para aumentar la seguridad de los productos frescos. Las películas comestibles también controlan las desventajas de los aceites esenciales aplicados en la conservación de vegetales (Yousuf et al., 2021; Zhu et al., 2021).

Las películas formuladas con ingredientes activos de origen natural son prometedoras para la formulación de envases biodegradables y su utilización en la conservación de alimentos, representan una alternativa ecológica a los envases utilizados tradicionalmente en la industria de alimentos (Jafarzadeha et al., 2020). El almidón, es un polisacárido natural, de bajo costo, biodegradable y de buena biocompatibilidad y puede ser utilizado como portador de sustancias bioactivas que mejoran la función de los envases para alimentos (Menzel, C. 2020). Como plastificante, el glicerol puede reducir la cohesión entre las moléculas y aumentar la fluidez de la cadena de polímeros, mejorando así la flexibilidad de la película y reduciendo su fragilidad (Chillo et al., 2008). Los aceites esenciales tienen una naturaleza aceitosa y volátil que puede afectar la integridad o el grado de hidrofobicidad de las películas poliméricas, cambiando sus propiedades mecánicas y de barrera (Atarés & Chiralt, 2016). Por lo tanto, se necesitan estudios para examinar el potencial de cada agente antibacteriano, así como su interacción con el material utilizado para producir las películas de almidón activo.

El aceite esencial de naranja (AEN) obtenido de la cáscara de cítricos (*Citrus sinensis* L.) tiene fuertes propiedades antimicrobianas, lo que podría deberse a la alta cantidad relativa de compuestos terpénicos, incluido el D-limoneno (90 % -96 %), mircenol (19 %) y linalool (0,32 %) (Silveira et al., 2021). Ha atraído especial atención en las comunidades científicas por sus posibles aplicaciones como conservante natural (Aguar et al., 2020). Es reconocido como seguro (GRAS) por la FDA 2018. se usa como conservante o agente saborizante en las industrias alimentarias (Sharma & Tripathi, 2008) y se ha convertido en una opción ideal para su incorporación en películas activas formuladas con almidón (Tan et al., 2019), no solo mejora las capacidades antimicrobianas y antioxidantes de las películas, sino que también funciona como agente de relleno en la solución formadora de la película (SFP), mejorando las propiedades mecánicas y físicas (Sahraee et al., 2019). Sin embargo, no hay información disponible sobre su actividad en la mezcla almidón de yuca/Alginato o su impacto en las propiedades funcionales de la película. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue formular películas a base de almidón de yuca/alginato activas con AEN y estudiar su efecto sobre las propiedades físicas y antimicrobianas de las películas obtenidas.

## MÉTODO

Para la elaboración de las películas se utilizó almidón de yuca como componente formador de la matriz de la película el cual fue adquirido por TECNAS, Medellín, Colombia. El alginato de sodio y el glicerol fueron adquiridos a Sigma-Aldrich, USA y el AEN a la empresa (Natuaroma S.A., Colombia). Las cepas bacterianas *S.aureus* Gram (+) y *E coli* Gram (-) y fueron adquiridas a Merck, Colombia.

### Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis

La composición química del AEN fue determinada mediante cromatografía de gases- espectrometría de masas (GC-MS). Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent HP- 6890N acoplado a un detector selectivo de masas Agilent 5975N (Agilent Technologies, HP EE.UU), la identificación de los compuestos se basó en los espectros de masas (MS) obtenidos con los datos de la biblioteca NIST02.L, NIST5a.L y NIST98.L y se utilizó el modo de monitorización iónica seleccionado para determinar las concentraciones de los compuestos.

### Concentración mínima inhibitoria (MIC)

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de AEM fue seleccionada una bacteria Gram-negativa *Escherichia coli* (ATCC 25922) y una Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) obtenidas del cepario del Grupo GYMOL de la Universidad del Quindío. Las cepas se cultivaron previamente en medio

Luria Bertani (LB) (10g/L de triptona, 5g/L extracto de levadura y 5g/L de NaCl) por 24h a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . Después de este periodo, la suspensión bacteriana correspondió aproximadamente a 108 CFU/mL. Las pruebas de MIC fueron realizadas con concentraciones entre 0,01 y 5mg/mL de AEN, en microplacas con un volumen de 200  $\mu\text{L}$  del medio LB y 10  $\mu\text{L}$  de bacteria en cada dilución. Lecturas de absorbancia fueron tomadas a 490 nm, antes y después de la incubación por 24h a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . La MIC fue definida como la concentración más baja de AEN en mg/mL capaz de inhibir el crecimiento microbiano, medido por diferencia entre la absorbancia final e inicial de cada bacteria.

### Preparación de las películas

Las películas formuladas con almidón de yuca fueron obtenidas mediante el método de difusión en placa o "casting" siguiendo la metodología propuesta por Torres et al., 2021 con algunas modificaciones. Se preparó la solución formadora de película (SFP) mediante la homogenización de los siguientes componentes: Una suspensión acuosa de 1,8 % (w/w) de almidón de yuca a  $60^\circ\text{C}$  durante 30 minutos a 600 rpm, 1,2 % (w/w) de alginato de sodio a 600 rpm con agitación constante. Las cantidades de glicerol (15 %) y cloruro de calcio (1,7 %) se calcularon en base a la masa del alginato de sodio. Posteriormente, se añadió la solución de cloruro de calcio a la disolución de alginato de sodio y se calentó una solución de glicerol durante 15 minutos. Todos los componentes se mezclaron para obtener la SFP. Posteriormente se adicionó de AEN (0, 0,5, 1,0 y 1,5 % a la SFP, una vez homogenizada la SFP fue vertida en los moldes y se secaron en una estufa de aire forzado (Binder, FD-115, Alemania), hasta obtener las películas. Todas las películas se almacenaron a  $20^\circ\text{C}$  en un desecador con una humedad relativa de 50 %, hasta su posterior caracterización. Se formulará una película control (PC) utilizando la misma metodología, pero sin incorporación de AEN.

### Caracterización de las películas

#### *Espesor*

El espesor de las películas formuladas, fue medido siguiendo la metodología descrita por (Siripatrawan & Harte, 2010) con algunas modificaciones. Para la realización de las medidas se utilizará un micrómetro digital con una precisión de 0,001 mm (Mitutoyo, Corp, Ltd., Tokio, Japón). Fueron tomadas diez mediciones en puntos seleccionados al azar en cada tipo de película obtenida, el valor de cada espesor será el promedio de las medidas realizadas.

#### *Contenido de Humedad*

El contenido de humedad fue determinado inmediatamente se obtuvieron las películas formuladas, realizando un periodo de acondicionamiento por 48h a  $25^\circ\text{C}$  a una humedad relativa de 50 %, siguiendo el método ASTM D644-99. La humedad fue determinada por el método gravimétrico, las muestras fueron cortadas en láminas de 2x2cm y pesadas. Inicialmente se tomó el peso de las películas, posteriormente fueron colocadas en un en un horno con aire forzado a  $105^\circ\text{C}$  por 24h hasta peso constante.

#### *Solubilidad*

La solubilidad de las películas formuladas fue determinada por el porcentaje de la materia seca de la película que es soluble en agua. Se siguió la metodología reportada por Akhter et al., 2019 con algunas modificaciones. Las películas formuladas se cortaron en láminas de 2 x 2cm. Las muestras fueron secadas a  $105^\circ\text{C}$  hasta peso constante, para obtener la masa seca inicial. Las películas formuladas, se colocaron en 50 mL de agua destilada, se cubrieron y se almacenaron a  $25^\circ\text{C}$  por 24h, posteriormente fueron filtradas al vacío y secadas a  $105^\circ\text{C}$  hasta peso constante para obtener la masa seca final.

#### *Permeabilidad al vapor de agua (PVA)*

Para determinar la permeabilidad al vapor de agua (PVA), las películas formuladas fueron acondicionadas por 48 horas a  $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$  y una humedad relativa de  $40 \pm 1\%$ . Una vez acondicionadas fueron evaluadas de acuerdo con la norma ASTM E-96 (2005). Las cápsulas fueron pesadas cada hora durante 9 horas, con el fin de determinar la pérdida de peso de las películas.

#### *Color y opacidad de la película*

El color y la opacidad de las películas se determinaron utilizando un colorímetro (MINOLTA, CR 400, Japón). Las películas se colocaron sobre una placa blanca definida como estándar y con iluminancia D65 (luz diurna) para determinar los parámetros de color. El parámetro  $L^*$  indica claridad, que varía de 0 (negro) a 100 (blanco); los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  son las coordenadas de cromaticidad, donde  $a^*$  varía de verde (-) a rojo (+) y  $b^*$  varía de (-) a amarillo (+).

#### *Microscopía Electrónica De Barrido (SEM)*

La caracterización morfológica de la superficie y la sección transversal de las películas obtenidas fue

realizada por microscopía electrónica de barrido (SEM). Las películas fueron cortadas en láminas de 1-2 mm de longitud. Las películas formuladas fueron fijadas con carbono conductor y metalizadas con oro para presentar propiedades conductoras eléctricas. Fue utilizado un microscopio JSM-6610LV, JEOL Ltd Japón y las películas formuladas fueron observadas sistemáticamente con aumentos de 10000x. usando un voltaje de aceleración de 5 KV y 500x usando un voltaje de aceleración de 10 KV.

#### Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de las películas se evaluó mediante el método de difusión en disco con modificaciones descrito por (Bajpai et al., 2011) con ligeras modificaciones. Discos de 5 mm de diámetro se cortaron asépticamente y se colocaron en las cajas Petri con agar Mueller-Hinton sólido y frotados con 1.0mL de  $10^{-7}$  (100  $\mu$ l) CFU/mL de las suspensiones de cultivos bacterianos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Las placas se incubaron a  $37,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Se midió el diámetro de las zonas de inhibición de los discos utilizando un micrómetro digital. Cada muestra se evaluó por triplicado y se utilizó el promedio y la desviación estándar de las mediciones como resultado.

#### Análisis estadístico

Todas las determinaciones se hicieron por triplicado y los resultados se informaron como la media  $\pm$  desviación estándar. El análisis estadístico de los datos se realizó a través de un análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa Statgraphics Centurion XVIII. Las diferencias entre los valores medios de las propiedades de las películas se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95 % ( $p < 0,05$ ). Se utilizó la prueba de Shapiro-Wilks para verificar el ajuste de la normalidad y homogeneidad de los datos de varianza.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Análisis químico de Aceite Esencial de Naranja

El análisis GC-MS identificó la presencia de siete componentes en AEN. Los principales compuestos fueron 84 % de d-limoneno y 2,1 % de  $\beta$ -mirceno principales constituyentes del AEL. También se identificaron otros cinco compuestos en menores concentraciones 0,50 % octanal, 0,42 %  $\alpha$ -pineno, 0,45 %  $\beta$ -linalol, 0,20 % ciclohexeno y 0,20 % decanal, Estos resultados concuerdan con los reportados por do Evangelho, (2019).

#### Concentración mínima inhibitoria (MIC)

Los resultados obtenidos para la actividad antimicrobiana del AEN contra dos cepas bacterianas. revelaron que el AEM presentó la concentración mínima inhibitoria (MIC) más baja de 0,025 mg/mL para la cepa gram negativa *Escherichia coli* y, de 0,050 mg/mL para la cepa gram positiva *Staphylococcus aureus*. Por lo tanto, la bacteria Gram-positiva fue más sensible a AEM que la cepa Gram-negativa. Los hallazgos obtenidos son consistentes con estudios previos publicados por Singh et al., (2015), donde se observó que la MIC mostró una mayor eficacia frente a las bacterias grampositivas en comparación con las gramnegativas.

#### Análisis morfológico de las películas

En la figura 1, se presentan las imágenes de la apariencia visual y las fotografías de SEM realizadas a la PC y a la película PA/AY/AEN-1,5 %. Como se puede observar en la figura 1 a) las películas presentaron una matriz cohesiva, continua y flexible a la manipulación, superficies lisas sin presencia de grietas que pudieran propiciar su rotura o partículas insolubles que se puedan observar a simple vista.

En la figura 1, a) y d) corresponde a la PC sin y con incorporación de AEN en su formulación, en las imágenes b) y e) sección superficial de la PC y PA/AY/AEN-1,5 % y c) y f) sección transversal de la PC y PA/AY/AEN-1,5 %.

En la figura 1 b) la incorporación de AEN en las PA/AY/AEN, independientemente de la concentración, redujo la homogeneidad de las secciones transversales, con presencia de poros más concentrados en la superficie.

En la figura 1 d) se alcanza apreciar visualmente una pequeña disminución en su brillo y una apariencia un poco opaca atribuida a la incorporación de AEN a la película, pero conservan su transparencia. La apariencia que presentan la PA/AY/AEN es atribuida a la composición química del AEN la cual presenta una combinación de resinas y aceites esenciales los cuales son obtenidos por la extracción de la especia característica y al combinarse con la solución formadora de la película le brinda esta apariencia (Rodianawati, 2015). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en el análisis de color.

Las imágenes de SEM de la sección superficial y transversal de las PA/AY/AEN obtenidas se presentan en la figura 1b) y e) presentaron una apariencia laminar continua, homogénea propia del almidón de yuca/glicerol/alginate. En la figura 1e) y 1f) se pueden distinguir microporos no uniformes entre la capa exterior e interior de la matriz formadora de película. Este comportamiento es atribuido a la hidrofobicidad del aceite y su diferencia de densidad con la solución acuosa de almidón pueden afectar la estabilidad de la solución formadora de película y en consecuencia formar estructuras heterogéneas debido a la separación de fases y la presencia de poros (Phan

et al., 2002 ) y pueden contribuir a la propiedad antibacteriana de las películas, considerando que facilitan el proceso de difusión del aceite esencial desde el interior de la matriz polimérica. a la superficie para realizar la acción deseada.

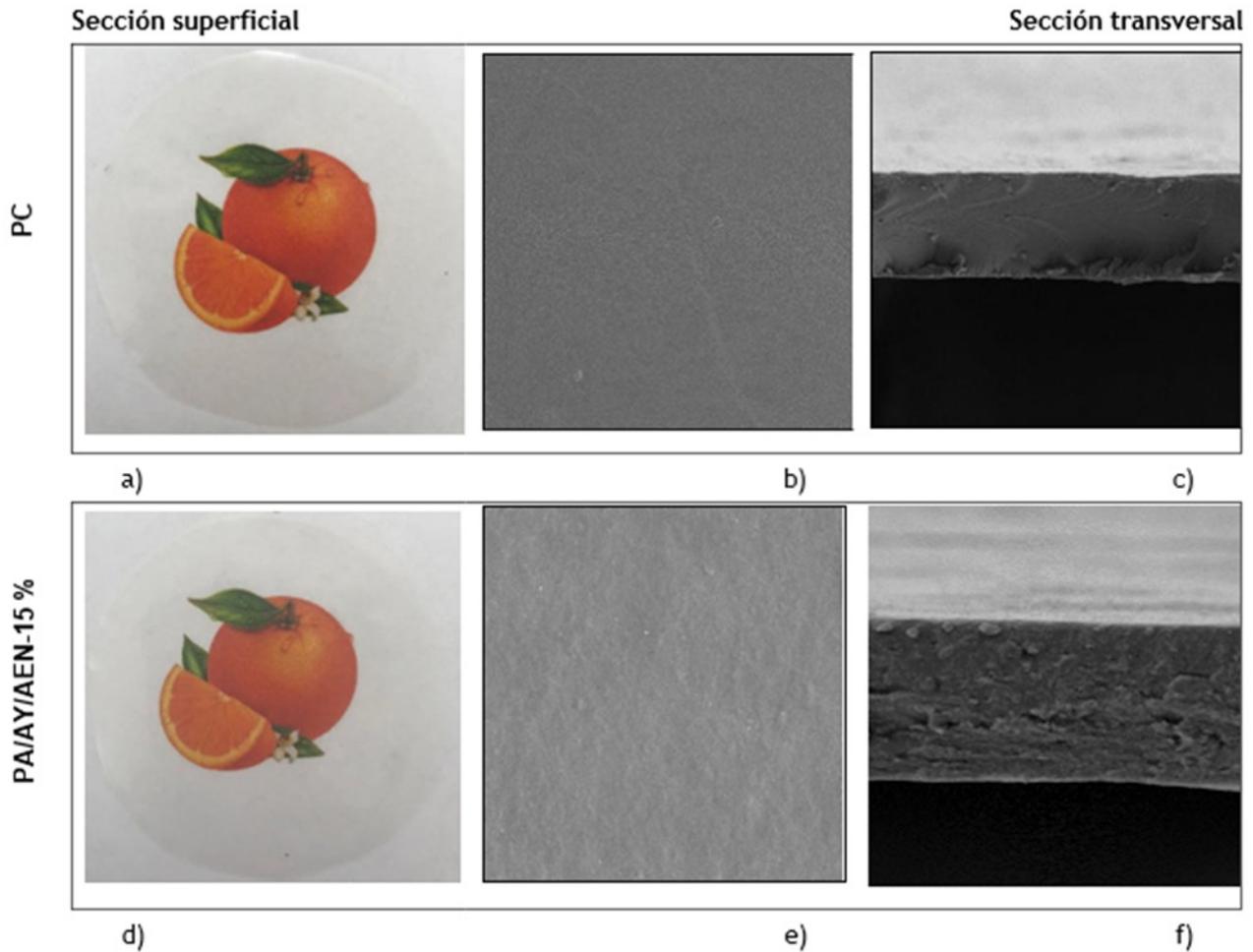


Figura 1. Imágenes de la apariencia visual y las fotografías de SEM realizadas a la PC y a la película PA/AY/AEN-1,5 %

**Propiedades físicas**

Los valores de contenido de humedad, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua de películas formuladas incorporadas con AEN como agente antimicrobiano se muestran en la tabla 1. La película de control mostró el mayor contenido de humedad (15,31 %) y solubilidad en agua (51,31 %). Se observó una disminución significativa ( $P \leq 0,05$ ) en el contenido de humedad y la solubilidad en agua para las películas PA/AY-AEN.

La incorporación de AEL mejora la humedad en la superficie de la película debido a su carácter aceitoso natural (Istiqomah et al., 2022). Estos valores indican espacios libres más pequeños en la SFP, atribuidos a la disminución producida por el AEL del número de enlaces de hidrógeno con el agua y la formación de una red más densa con mejor resistencia (Suriyatem et al., 2018). La adición AEN cambió la solubilidad en agua de 51,72 % a 30,15 %, con una reducción en la difusión de sustancias solubles en agua debido a la formación de una capa externa insoluble de gránulos de almidón (Cao, et al., 2017).

Tabla 1. Porcentajes de humedad y solubilidad, permeabilidad al vapor de agua (PVA), de las películas que contienen o no diferentes concentraciones de aceite esencial de Naranja (AEN)			
Película	% Humedad	% Solubilidad	PVA (g/ hm <sup>2</sup> )
PC	15,31 ± 0,22 <sup>a</sup>	51,72 ± 0,21 <sup>a</sup>	52,62 ± 0,01 <sup>a</sup>
PA/AY/AEN -0,5%	13,61 ± 0,15 <sup>b</sup>	46,03 ± 0,13 <sup>b</sup>	42,28 ± 0,03 <sup>b</sup>
PA/AY/AEN -1,0%	10,72 ± 0,02 <sup>c</sup>	39,05 ± 0,12 <sup>c</sup>	38,14 ± 0,02 <sup>c</sup>
PA/AY/AEN -1,5%	8,72 ± 0,02 <sup>c</sup>	30,15 ± 0,15 <sup>d</sup>	31,27 ± 0,05 <sup>d</sup>

Los datos reportados son valores medios ± desviación estándar.  
 La mediana de una misma columna con diferentes letras es significativamente diferente (Tukey:  $p > 0,05$ ).

Los valores de PVA (tabla 1) para todas las películas son relativamente bajos. El valor más alto de PVA fue la película control ( $52,62 \text{ g/ hm}^2$ ) mientras que, la película formulada con 1,5 % AEN presentó el valor más bajo PA/AY/AEN -1,5 % ( $31,27 \text{ g/ hm}^2$ ). Estos valores nos indican que los monoterpenos hidrofóbicos presentes en el AEN influye en las propiedades hidrofóbicas de las películas de almidón y, por lo tanto, afecta la transferencia de vapor de agua de las películas reduciendo así la PVA al aumentar la hidrofobicidad de las películas formuladas (Yanwon, S., & Threepopnatkul, P., 2015).

El espesor de las películas (tabla 2) osciló entre 0,084 y 0,106 mm, no se presentaron cambios significativos ( $P < 0,05$ ) se observó que existe una buena compatibilidad entre los componentes de la SFP, el espesor de la película PA/AY/AEN aumentó de espesor 0,106 mm, este aumento puede estar asociado a los sólidos contenidos en el AEN. La incorporación AEL mejoró ( $p < 0,05$ ) el esfuerzo de tensión (ET) y porcentaje de elongación (% E) de PA/AY/AEN (tabla 2) en comparación con PC. Este comportamiento es atribuido a la presencia de varios grupos funcionales adicionales, como grupos hidroxilo, cetona y éster en los componentes de AEL, que pueden formar interacciones más fuertes entre los componentes (de Oliveira et al. 2020).

**Tabla 2.** Espesor y propiedades mecánicas de las películas que contenían o no diferentes concentraciones de aceite esencial de Naranja (AEN)

Películas	Espesor (mm)	TS (MPa)	EB (%)
PC	0,084± 0,02 <sup>NS</sup>	5,37±0,23 <sup>a</sup>	22,70±0,82 <sup>a</sup>
PA/AY/AEN -0,5 %	0,106± 0,01	8,27±0,36 <sup>b</sup>	20,53±0,61 <sup>a</sup>
PA/AY/AEN -1,0 %	0,107± 0,03	11,53±0,74 <sup>c</sup>	18,35±0,17 <sup>b</sup>
PA/AY/AEN -1,5 %	0,106± 0,01	15,82±0,95 <sup>d</sup>	14,43±0,23 <sup>c</sup>

Los datos reportados son valores medios ± desviación estándar.  
La mediana de una misma columna con diferentes letras es significativamente diferente (Tukey:  $p > 0,05$ ).

### Color y opacidad de la película

En la tabla 3, se evidencian los resultados de las propiedades de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) y la opacidad de las PA/AY/AEN. La luminosidad ( $L^*$ ) disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ) a medida que incrementaba la concentración de AEN. Los valores de  $b^*$  aumentaron significativamente ( $p < 0,05$ ) en las PA/AY/AEN comparadas con la PC, los valores obtenidos para la coordenada  $a^*$  no presentaron diferencias significativas, lo que nos indica una tendencia ligeramente a tonos amarillos. Por lo tanto, los cambios de color de las películas formuladas dependen directamente del tipo y concentración del aceite esencial añadido (Mendes, et al., 2019).

La adición de AEN incremento en la opacidad podría atribuirse al hecho de que los aceites esenciales dispersos en la matriz polimérica aumentan la dispersión de la luz, lo que resulta en una mayor opacidad de las películas (tabla 3). Este comportamiento se debe al cambio en el índice de refracción de la película en la interfaz del polímero promovido por la adición de aceites esenciales.

**Tabla 3.** Coordenadas CIEL\*a\*b\* y opacidad contenida en películas con o sin diferentes concentraciones de aceite esencial de naranja (AEN)

Películas	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Opacidad
PC	87,26±0,11 <sup>a</sup>	-1,64±0,57 <sup>a</sup>	2,67±0,09 <sup>a</sup>	0,40±0,06 <sup>a</sup>
PA/AY/AEN -0,5 %	85,07±0,35 <sup>b</sup>	-1,54±0,41 <sup>a</sup>	2,98±0,05 <sup>b</sup>	0,52±0,04 <sup>b</sup>
PA/AY/AEN -1,0 %	83,21±0,74 <sup>b</sup>	-1,32±0,61 <sup>a</sup>	3,21±0,06 <sup>b</sup>	0,72±0,01 <sup>c</sup>
PA/AY/AEN -1,5 %	80,62±0,42 <sup>c</sup>	-1,27±0,58 <sup>a</sup>	4,62±0,08 <sup>b</sup>	0,89±0,02 <sup>d</sup>

Los datos reportados son valores medios ± desviación estándar. La mediana de una misma columna con diferentes letras es significativamente diferente (Tukey:  $p > 0,05$ )

Los aceites esenciales dispersos en la matriz polimérica promueven un aumento de la dispersión de la luz y, en consecuencia, de la opacidad de las películas. Este comportamiento se debe al cambio en el índice de refracción de la película en la interfaz del polímero promovido por la adición de aceites esenciales (Valencia-Sullca et al., 2018).

### Actividad Antimicrobiana

En la tabla 4 se presentan los resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana, utilizando el método de difusión en disco. La PC no presentó actividad antimicrobiana contra los microorganismos probados. Halos de inhibición que presentaron en PA/AY/AEN mostraron una mayor actividad antimicrobiana ( $p < 0,05$ ), contra *Staphylococcus aureus*. Se ha reportado que la actividad antimicrobiana observada en el AEN podría estar vinculada a la presencia significativa del 84 % de d-limoneno y 2,1 % de  $\beta$ -mirceno principales constituyentes

del AEL. El d-limoneno suele exhibir actividades antimicrobianas y antisépticas y el El  $\beta$ -mirreno, el segundo componente principal del AEN, también tiene actividad antimicrobiana (Jarine *et al.*, 2019).

Estas interacciones resultan en una liberación gradual de los compuestos antimicrobianos y garantizan su acción por un período más prolongado en comparación con la aplicación directa (Atarés & Chiralt, 2016). Además, la incorporación de aceites esenciales a los envases es interesante porque es un método indirecto de utilizar este extracto natural en los alimentos sin necesidad de añadirlos como ingrediente, reduciendo así interferencias sensoriales indeseables (Calo *et al.*, 2015).

**Tabla 4.** Actividad antibacteriana de las películas que contienen o no diferentes concentraciones de aceite esencial de naranja frente a *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Zona de inhibición (mm)		
Películas	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
PC	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
PA/AY/AEN -0,5 %	10,21±1,05 <sup>b</sup>	12,70±1,25 <sup>b</sup>
PA/AY/AEN -1,0 %	11,65±1,32 <sup>b</sup>	14,68±1,27 <sup>b</sup>
PA/AY/AEN -1,5 %	12,25±1,40 <sup>c</sup>	14,87±1,19 <sup>c</sup>

Los datos reportados son valores medios  $\pm$  desviación estándar. La mediana de una misma columna con diferentes letras es significativamente diferente (Tukey:  $p > 0,05$ ).

## CONCLUSIONES

El presente estudio se realizó para investigar el efecto de la incorporación de aceite esencial de naranja sobre las propiedades físicas, ópticas y estructurales de las películas formuladas. Los principales componentes del aceite esencial de naranja identificados fueron 84 % de d-limoneno y 2,1 % de  $\beta$ -mirreno, que exhiben características antimicrobianas, que podría contribuir a extender la vida útil de los alimentos envasados. La adición del aceite esencial de naranja evidenció mejoras en cuanto a la disminución de los valores contenido de humedad, solubilidad y permeabilidad al vapor del agua. También, se evidenció su efecto como agente antimicrobiano presentando inhibición frente a las cepas de: *E. coli* y *S. aureus*, evidenciando que las bacterias gram positivas fueron más sensibles a este compuesto orgánico. Los resultados obtenidos indicaron que la incorporación del aceite esencial de naranja fue positiva para la activación antimicrobiana y el rendimiento integral y de las películas, indicando su potencial utilización en el envasado de alimentos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atarés, L., & Chiralt, A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in food science & technology*, 48, 51- 62.
- Aguiar, M.F. M.C.S. das Graças Fernandes da Silva, J.B. Fernandes, M.R. Forim. (2020), Evaluation of the microencapsulation of orange essential oil in biopolymers by using a spray-drying process. *Sci. Rep.*, 10 pp. 1-11, 10.1038/s41598-020- 68823-4
- Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., & Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems-A review. *Food control*, 54, 111-119.
- Chillo, S., Flores, S., (2008). Mastromatteo, M., Conte, A., Gerschenson, L., & Del Nobile.
- M. A. Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. *Journal of Food Engineering*, 88(2), 159-168
- Jafarzadeha, S.M. Jafarib, A. Salehabadia, A.M. Nafchia, U.S.U. Kumara, H.P.S.A. Khalila (2020). Biodegradable green packaging with antimicrobial functions based on the bioactive compounds from tropical plants and their by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 100, 262-277.
- Jarine Amaral do Evangelho, Guilherme da Silva Dannenberg, Barbara Biduski, Shanise Lisie Mello el Halal, *et al.*, (2019) Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil, *Carbohydrate Polymers*, Volume 222. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114981>.
- Menzel, C. (2020). Improvement of starch films for food packaging through a three- principle approach: Antioxidants, cross-linking and reinforcement. *Carbohydrate Polymers*, 250, 116828.
- Sadaf Nazir, Idrees Ahmed Wani, (2022). Development and characterization of an antimicrobial edible film

from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) mucilage and sodium alginate, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Volume 44, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102450>.

10. Sahraee, S. Milani, J.M. Regenstein, J.M. Kafil, H.S. (2019). Protection of foods against oxidative deterioration using edible films and coatings: a review, *Food Biosci.* 32 <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100451>.

11. Sharma, N., & Tripathi, A. (2008). Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological research*, 163(3), 337-344.

12. Silveira Júnior, V. A.S. Prata, F.de M. Ramos, V.Silveira Júnior, A.S. Prata (2021). Physical aspects of orange essential oil-containing particles after vacuum spray drying processing. *Food Chem. X.*, 12 (2021), p. 100142, [10.1016/j.fochx.2021.100142](https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100142).

13. Tan, W. Dong, F. Zhang, J. Zhao, X. Li, Q. Guo, Z. (2019). Physical and antioxidant properties of edible chitosan ascorbate films, *J. Agric. Food Chem.* 67 2530-2539. Torres, O. L., Galeano, Y. V., & Lema, M. (2021). Effect of incorporating extracts from natural pigments in alginate/starch films. *Journal of Materials Research and Technology*, 13, 2239-2250.

14. Valencia-Sullca. C. Vargas. M. Atarés. L. & Chiralt. A. (2018). Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils. *Food hydrocolloids.* 75. 107-115.

15. Yousuf, B., S. Wu, MW Siddiqui. (2021). Incorporación de aceites esenciales o compuestos derivados de ellos en recubrimientos comestibles: efecto sobre la calidad y vida útil de productos frescos/recién cortados. *Tendencias en ciencia y tecnología de los alimentos*, 108, págs. 245-257, [10.1016/j.tifs.2021.01.016](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.016).

16. Zhu, Y., C. Li, H. Cui, L. Lin. (2021). Estrategias de encapsulación para mejorar las propiedades antibacterianas de los aceites esenciales en el sistema alimentario. *Control de Alimentos*, 123 (2021), pág. 107856, [10.1016/j.foodcont.2020.107856](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107856)

17. Ahmed, Md. W., Haque, Md. A., Mohibullah, Md., Khan, Md. S. I., Islam, M. A., Mondal, Md. H. T., & Ahmmed, R. (2022). A review on active packaging for quality and safety of foods: Current trends, applications, prospects and challenges. *Food Packaging and Shelf Life*, 33, 100913. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100913>

18. Alves, J., Gaspar, P. D., Lima, T. M., & Silva, P. D. (2023). What is the role of active packaging in the future of food sustainability? A systematic review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(3), 1004-1020. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11880>

19. Deshmukh, R. K., Hakim, L., & Gaikwad, K. K. (2023). Active Packaging Materials. *Current Food Science and Technology Reports*, 1(2), 123-132. <https://doi.org/10.1007/s43555-023-00004-6>

20. Farousha, K., Tham, P. E., Chew, K. W., Amornraksa, S., & Show, P. L. (2023). The Future of Food Preservation: Active Packaging with Controlled Release Systems. *E3S Web of Conferences*, 428, 02009. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202342802009>

21. Gaikwad, K. K., Singh, S., & Negi, Y. S. (2020). Ethylene scavengers for active packaging of fresh food produce. *Environmental Chemistry Letters*, 18(2), 269-284. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00938-1>

22. Jacinto-Valderrama, R. A., Andrade, C. T., Pateiro, M., Lorenzo, J. M., & Conte-Junior, C. A. (2023). Recent Trends in Active Packaging Using Nanotechnology to Inhibit Oxidation and Microbiological Growth in Muscle Foods. *Foods*, 12(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/foods12193662>

23. Jafarzadeh, S., Hadidi, M., Forough, M., Nafchi, A. M., & Mousavi Khaneghah, A. (2023). The control of fungi and mycotoxins by food active packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(23), 6393-6411. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2031099>

24. Jha, P. (2020). Effect of grapefruit seed extract ratios on functional properties of corn starch-chitosan bionanocomposite films for active packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1546-1556. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.251>

25. Just, D. R., & Goddard, J. M. (2023). Behavioral framing and consumer acceptance of new food technologies: Factors influencing consumer demand for active packaging. *Agribusiness*, 39(1), 3-27. <https://doi.org/10.1002/agr.21778>
26. Kuai, L., Liu, F., Chiou, B.-S., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., & Zhong, F. (2021). Controlled release of antioxidants from active food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 120, 106992. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106992>
27. Kumar, S., & Thakur, K. S. (2020). Active packaging technology to retain storage quality of pear cv. "Bartlett" during shelf-life periods under ambient holding after periodic cold storage. *Packaging Technology and Science*, 33(7), 239-254. <https://doi.org/10.1002/pts.2501>
28. López-Gómez, A., Navarro-Martínez, A., Garre, A., Iguaz, A., & Martínez-Hernández, G. B. (2023). The Potential of Essential Oils from Active Packaging to Reduce Ethylene Biosynthesis in Plant Products. Part 2: Fruits (Blueberries and Blackberries). *Plants*, 12(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/plants12193418>
29. Monção, É. da C., Grisi, C. V. B., de Moura Fernandes, J., Souza, P. S., & de Souza, A. L. (2022). Active packaging for lipid foods and development challenges for marketing. *Food Bioscience*, 45, 101370. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101370>
30. Nimitkeatkai, H., Techavuthiporn, C., Boonyaritthongchai, P., & Supapvanich, S. (2022). Commercial active packaging maintaining physicochemical qualities of carambola fruit during cold storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 32, 100834. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100834>
31. Pascuta, M. S., & Vodnar, D. C. (2022). Nanocarriers for Sustainable Active Packaging: An Overview during and Post COVID-19. *Coatings*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/coatings12010102>
32. Qian, M., Liu, D., Zhang, X., Yin, Z., Ismail, B. B., Ye, X., & Guo, M. (2021). A review of active packaging in bakery products: Applications and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 459-471. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.009>
33. Roopa, H., Panghal, A., Kumari, A., Chhikara, N., Sehgal, E., & Rawat, K. (2023). Active Packaging in Food Industry. In *Novel Technologies in Food Science* (pp. 375-404). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119776376.ch10>
34. R. Westlake, J., W. Tran, M., Jiang, Y., Zhang, X., D. Burrows, A., & Xie, M. (2023). Biodegradable biopolymers for active packaging: Demand, development and directions. *Sustainable Food Technology*, 1(1), 50-72. <https://doi.org/10.1039/D2FB00004K>
35. Singh, A. K., Ramakanth, D., Kumar, A., Lee, Y. S., & Gaikwad, K. K. (2021). Active packaging technologies for clean label food products: A review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(5), 4314-4324. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01024-3>
36. Sirait, M. S., Warsiki, E., & Setyaningsih, D. (2021). Potential of red fruit oil (*Pandanus conoideus* Lam.) as an antioxidant active packaging: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 749(1), 012008. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/749/1/012008>
37. Soltani Firouz, M., Mohi-Alden, K., & Omid, M. (2021). A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. *Food Research International*, 141, 110113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110113>
38. Su, J., Luo, Y., Cao, Z., Wang, X., & Ge, X. (2024). Advances in loquat post-harvest preservation and the application of nanotechnology for its active packaging. *Journal of Food Process Engineering*, 47(1), e14507. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14507>
39. Thirupathi Vasuki, M., Kadirvel, V., & Pejavara Narayana, G. (2023). Smart packaging—An overview of concepts and applications in various food industries. *Food Bioengineering*, 2(1), 25-41. <https://doi.org/10.1002/fbe2.12038>
40. Umair, M., Sultana, T., Xun, S., Jabbar, S., Riaz Rajoka, M. S., Albahi, A., Abid, M., Ranjha, M. M. A.

N., El-Seedi, H. R., Xie, F., Khan, K. ur R., Liqing, Z., & Zhendan, H. (2023). Advances in the application of functional nanomaterial and cold plasma for the fresh-keeping active packaging of meat. *Food Science & Nutrition*, 11(10), 5753-5772. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3540>

41. Westlake, J. R., Tran, M. W., Jiang, Y., Zhang, X., Burrows, A. D., & Xie, M. (2022). Biodegradable Active Packaging with Controlled Release: Principles, Progress, and Prospects. *ACS Food Science & Technology*, 2(8), 1166-1183. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00070>

#### **FINANCIACIÓN**

Ninguna.

#### **CONFLICTO DE INTERESES**

Ninguno.

#### **CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA**

*Conceptualización:* Olga Lucia Torres Vargas, Iván Andrés Rodríguez Agredo.

*Redacción -borrador inicial:* Olga Lucia Torres Vargas, Iván Andrés Rodríguez Agredo.

*Redacción -revisión y edición:* Olga Lucia Torres Vargas, Iván Andrés Rodríguez Agredo.