Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

Propiedades fisicoquímicas, mecánicas y biológicas de la biopelícula obtenida de Parkinsonia praecox “goma brea” funcionalizada con aceites esenciales de Minthostachys mollis (Kunth) Griseb “muña” y Piper carpunya, “pinku” (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Productos Naturales y Biocomercio

AUTOR

Kary Violeta GONZALES DÁVILA

ASESOR

Dr. César Máximo FUERTES RUITÓN

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Gonzales K. Propiedades fisicoquímicas, mecánicas y biológicas de la biopelícula obtenida de Parkinsonia praecox “goma brea” funcionalizada con aceites esenciales de Minthostachys mollis (Kunth) Griseb “muña” y Piper carpunya, “pinku” (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2024.

Metadatos complementarios: autor / asesor

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Kary Violeta Gonzales Dávila
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	18152852
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-0014-6256
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Dra. César Máximo Fuertes Ruitón
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	15289369
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-6170-3549
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Dr. Félix Hugo Milla Flores
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	08070390
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Dra. Carmen Gladys Peña Suasnabar
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	20904674
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Mg. Eva Ramos Llica
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	29735069
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.2.1.3. Recursos Alimenticios
Grupo de investigación	NATURAL RESOURCES RESEARCH
Agencia de financiamiento	Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Intitulado "Biopelículas a base de quitosano y goma natural funcionalizadas con aceites esenciales de *Minthostachys mollis* "muña" y *Piper carpunya* "pinku", con actividad antioxidante y antimicrobiana" código N° A18040761. RR N° 03202-R-18
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N°1002 Latitud: -12.056445 Longitud: -77.085994
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2019 - 2024
URL de disciplinas OCDE	Recubrimiento, Películas https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.05.03

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Unidad de Posgrado

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN PRODUCTOS NATURALES Y BIOCOMERCIO

Siendo las **09:00 hrs. del 19 de diciembre del 2024** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado de tesis, presidido por el Dr. Félix Hugo Milla Flores e integrado por los siguientes miembros: Dr. César Máximo Fuertes Ruitón (asesor), Dra. Carmen Gladys Peña Suasnabar y la Mg. Eva Ramos Llica; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS, MECÁNICAS Y BIOLÓGICAS DE LA BIOPELÍCULA OBTENIDA DE PARKINSONIA PRAECOX "GOMA BREA" FUNCIONALIZADA CON ACEITES ESENCIALES DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (KUNTH) GRISEB "MUÑA" Y PIPER CARPUNYA, "PINKU" (RUIZ & PAV. EX HOOK) HAWKINS"**, presentado por la Bachiller en Ciencias Biológicas **Kary Violeta Gonzales Dávila.**

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Productos Naturales y Biocomercio.** Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduando.

A continuación el Jurado de la tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

17 (diecisiete) - Muy bueno

Luego el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Bachiller en Ciencias Biológicas **Kary Violeta Gonzales Dávila**, el Grado Académico de **Magíster en Productos Naturales y Biocomercio.**

Siendo las 10:35 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 10:40 hrs. del 19 de diciembre de 2024

Dr. Félix Hugo Milla Flores (P. P. T./C.)
Presidente

Dr. César Máximo Fuertes Ruitón (P.P. D.E.)
Miembro - Asesor

Dra. Carmen Gladys Peña Suasnabar (P. Asoc, T.C)
Miembro

Mg. Eva Ramos Llica (P. Aux., T.C.)
Miembro

Observaciones:

.....

.....

Jr. Puno 1002 – Lima 1
Apartado Postal 4559 Lima 1
Teléfono 619-7000 anexo 4812
Email:upg.farmacia@unmsm.edu.pe

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Dr. César Máximo Fuertes Ruitón, en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen N°367-FFB-UPG-2019 de la tesis, cuyo título es: "**Propiedades fisicoquímicas, mecánicas y biológicas de la biopelícula obtenida de Parkinsonia praecox "goma brea" funcionalizada con aceites esenciales de Minthostachys mollis (Kunth) Griseb "muña" y Piper carpunya, "pinku" (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins**", presentado por la **Bach. Kary Violeta Gonzales Dávila,** para optar al Grado Académico de Magíster en Productos Naturales y Biocomercio CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajo académico, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de **18%** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado correspondiente.

Firma del Asesor

DNI: 15289369

Dr. César Máximo Fuertes Ruitón

Escaneado con CamScanner

DEDICATORIA

- A Dios, por guiar cada paso de mi vida, iluminando mi camino rodeándome de personas llenas de altruismo y sabiduría.
- A mis padres, Antero Gonzales Amasifuén que en paz descanse y Carmela Dávila Rodríguez, mis primeros y más grandes maestros. Con optimismo y su constante apoyo han sido mis pilares que me han permitido alcanzar mis metas y crecer tanto personal como profesionalmente.
- A mi familia, esposo Carlos Javier Pérez Vargas y mis hijos Luciana Sofía y Carlos Andrés Pérez Gonzales. Su amor incondicional, paciencia y comprensión, han sido mi mayor fortaleza en este recorrido.
- A mi suegra Shirley Vargas Ríos, por sus palabras de aliento y motivación constante que me inspiraron a superar los desafíos y alcanzar mis objetivos.
- A mis hermanos Antero y Miguel Ángel Gonzales Dávila, que contribuyeron en brindarme la fortaleza y el impulso a seguir creciendo en lo profesional y en amor fraternal.

AGRADECIMIENTOS

- Dr. César Máximo Ruitón, mi asesor, profesional muy competente y gran ser humano, quien permanentemente incentiva a los jóvenes profesionales a contribuir con el desarrollo de nuestro país a través de la investigación científica.

- Dr. Hermes Escalante Añorga, mi querido maestro que en paz descanse, por su apoyo incondicional desde los años universitarios, quien me inculcó el amor por la investigación; brindándome su valioso apoyo y sabios consejos, los cuales atesoro en mi mente y en mi corazón.

- Dra. María Elena Salazar Salvatierra del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, por brindarme el área de trabajo y el apoyo para el desarrollo del estudio.

- Al Laboratorio de Referencia Nacional de Micología del Centro Nacional de Salud Pública (CNSP) del Instituto Nacional de Salud (INS).

- A la Facultad de Farmacia y Bioquímica y la Unidad de Posgrado de la UNMSM que me brindó todos los recursos para propiciar que realice y cumpla mis objetivos.

- Al Laboratorio del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM.

- Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado (VRIP) y al equipo de investigación NATURE-NATURAL RESOURCES RESEARCH, por la oportunidad de participar en calidad de tesista de maestría en el proyecto de investigación: “Biopelículas a base de quitosano y goma natural funcionalizadas con aceites esenciales de Minthostachys *mollis* "Muña" y *Piper carpunya* "Pinku", con actividad antioxidante y antimicrobiana”.

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN……1

1.1 Planteamiento del problema…….....2

1.1.1 Problema……...2

1.1.2 Justificación teórica……..2

1.1.3 Justificación práctica……....3

1.1.4 Objetivos……..3

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO……...5

2.1 Antecedentes…….. 5

2.2 Aspectos y teóricos……..6

2.3 Marco conceptual ……...18

CAPÍTULO III.METODOLOGÍA…….21

3.1 Tipo de estudio y diseño de investigación……..21

3.2 Unidad de análisis……...21

3.3 Población de estudio…….....21

3.4 Tamaño de muestra…….21

3.5 Diseño metodológico……..21

3.5.1 Recolección y clasificación sistemática……..21

3.5.2 Extracción y purificación de la goma brea…….22

3.5.3 Obtención de los aceites esenciales……22

3.5.4 Preparación o formulación de las biopelículas a base de goma brea……..22

3.5.5 Caracterización fisicoquímica y mecánica de la biopelícula……..23

3.5.6 Evaluación de las propiedades biológicas……..25

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1 Resultados de los análisis fisicoquímico y mecánico de la biopelícula…….28

4.2 Resultados de la Actividad antibacteriana…….34

4.3 Resultados de la Actividad Antifúngica…… 35

4.4 Resultados de la Actividad Antioxidante por el Método DPPH…… 35

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN……...37

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES……41

CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS………… 42

CAPÍTULO VIII. ANEXOS……47

RESUMEN

Se consideró para el estudio la utilización de la biopelícula, la goma brea *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins llamado en varias regiones como palo verde, chivatero (Amazonas, La Libertad, Lambayeque y Tumbes), otorgándoles diferentes propiedades siendo una de ellas su contextura para la realización y caracterización con aceites esenciales de muña y pinku, el objetivo del estudio fue desarrollar y funcionalizar una biopelícula sobre la base de la goma brea *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins con aceites esenciales de *Minthostachys mollis,* "muña" y *Piper carpunya* "pinku", como una alternativa sostenible frente a las películas o films derivados de combustibles fósiles los cuales son en su mayoría no biodegradables y generan impactos negativos en el medio ambiente. Además, se busca que este material contribuya a la industria alimentaria para la conservación y prolongar la vida útil de alimentos como frutas y verduras, ofreciendo una solución que pueda ser consumida o eliminada de forma amigable con el entorno.

La metodología incluyó la elaboración de la biopelícula en cuatro formulaciones y dos controles, evaluando sus propiedades fisicoquímicas, mecánicas y biológicas. Los resultados destacaron a la F2 (7,50% de goma brea y 0,15% de aceites de "muña" y "pinku") por su destacada actividad antioxidante y antibacteriana, aunque presentó una resistencia mecánica limitada. Por su parte, la formulación F4 (10% de goma brea y 0,20% de aceites de "muña" y "pinku") mostró una actividad antioxidante comparable a la de F2, siendo la segunda más efectiva en actividad antibacteriana, con propiedades mecánicas mejoradas, la biopelícula compuesta demostró una actividad inhibitoria frente a *E. coli* ATCC 25922 *y S. aureus* ATCC 25923, además de presentar actividad antioxidante ante el radical DPPH.

Palabra claves: biofilms, aceite esencial, biodegradable, goma brea, propiedades mecánicas.

ABSTRACT

The use of the biofilm, the gum pitch *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins was considered for the study, called in several regions as palo verde, chivatero (Amazonas, La Libertad, Lambayeque and Tumbes), granting them different properties, one of them being their texture for the realization and characterization with essential oils of muña and pinku, the objective of the study was to develop and functionalize a biofilm based on the gum pitch *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins with essential oils of *Minthostachys mollis*, "muña" and *Piper carpunya* "pinku", as a sustainable alternative to films derived from fossil fuels, which are mostly non-biodegradable and generate negative impacts on the environment. In addition, it is sought that this material contributes to the food industry for the conservation and prolong the useful life of foods such as fruits and vegetables, offering a solution that can be consumed or eliminated in an environmentally friendly way. The methodology included the elaboration of the biofilm in four formulations and two controls, evaluating their physicochemical, mechanical and biological properties. The results highlighted F2 (7.50% of pitch gum and 0.15% of "muña" and "pinku" oils) for its outstanding antioxidant and antibacterial activity, although it presented a limited mechanical resistance. On the other hand, formulation F4 (10% pitch gum and 0.20% of "muña" and "pinku" oils) showed an antioxidant activity comparable to that of F2, being the second most effective in antibacterial activity, with improved mechanical properties. The composite biofilm demonstrated an inhibitory activity against *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923, in addition to presenting antioxidant activity against the DPPH radical.

Keywords: biofilms, essential oil, biodegradable, pitch gum, mechanical properties.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características organolépticas del aceite esencial de muña…….14

Tabla 2. Componentes mayoritarios detectados en el aceite esencial de muña…....15

Tabla 3. Características organolépticas del aceite esencial de pinku……..……17

Tabla 4. Componentes mayoritarios detectados en el aceite esencial de pinku…....18

Tabla 5. Referencias de cantidades usadas en la purificación de la goma brea……..22

Tabla 6. Composición de cada biopelícula formulada……24

Tabla 7. Resultados del análisis de espesor……30

Tabla 8. Resultados del análisis de opacidad……..30

Tabla 9. Resultados del análisis de humedad……..31

Tabla 10. Resultados del análisis de solubilidad…….32

Tabla 11. Resultados del análisis de tensión……...33

Tabla 12. Resultados del análisis de permeabilidad de vapor de agua……...34

Tabla 13. Resultados de la Actividad antibacteriana……..35

Tabla 14. Actividad antioxidante de la biopelícula…….35

Tabla 15. Resultados Estadísticos de la Actividad Antioxidante por el Método…....57

DPPH

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Especie vegetal *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav. ex Hook.) Hawkins……....11

Figura 2. Frutos de *P. praecox*……..12

Figura 3. Flores de *P. praecox*……..12

Figura 4. Exudado de *P*. praecox ……12

Figura 5. Goma cristalizada de P. praecox……..12

Figura 6. Especie vegetal *M. mollis* (Kunth) Griseb……13

Figura 7. Ramas de *M. mollis* (Kunth) Griseb……....14

Figura 8. Hojas de *M. mollis* (Kunth) Griseb……..14

Figura 9. Especie vegetal *P. carpunya* Ruiz & Pavon…….....16

Figura 10. Ramas y hojas de *P. carpunya* Ruiz & Pavon……17

Figura 11. Estípula de *P. carpunya* Ruiz & Pavon……. 17

Figura 12. Liofilizado de goma brea en un beaker……..58

Figura 13. Homogenización en el agitador magnético……..... 58

Figura 14. Incorporación del propilenglicol a los aceites……58

Figura 15. Aceites esenciales de muña y pinku……58

Figura16. Los aceites de muña y pinku preparados para su incorporación……..58

Figura 17. Se añadió glicerol al 5%al beaker en agitación…….58

Figura 18. Secado de las biopelículas en una estufa a 32°C por 24 horas……..59

ABREVIATURAS

AE	: Aceite esencial
ASTM	: American Society for Testing and materials
ATCC	: American Type Culture Collection
CNSP-INS	: Centro Nacional de Salud Pública del Instituto Nacional de Salud
DMSO	: dimethyl sulfoxide
DPPH	: 1,1-difenil-2-picrilhidracilo
FFB	: Facultad de Farmacia y Bioquímica
F1….., F6	: Formulación de las biopelículas
%CRL	: Porcentaje de Radical libre captado
PDA	: Agar papa dextrosa
TSA	: Agar Tripticasa Soya
TSB	: Caldo Tripticasa Soya
UNMSM	: Universidad Nacional Mayor de San Marcos
m.s.n.m.	: metros sobre el nivel de mar
mL	: mililitro
mg	: miligramo
TS	: resistencia a la tracción
WVP-PVA	: Permeabilidad de vapor de agua

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

Los polímeros naturales han sido utilizados para conservar alimentos antes de la segunda mitad del siglo XX, donde el mercado fue dominado por los plásticos que se emplean para envasados de alimentos, gracias a su bajo costo, resistencia mecánica, sellabilidad térmica, grados de rigidez y versatilidad de forma. Sin embargo, esos combustibles fósiles no renovables son en su mayoría no biodegradables y su incineración produce compuestos tóxicos como furanos y dioxinas que causan efectos nocivos al medio ambiente, en este contexto la demanda a nivel mundial de agentes biodegradables y renovables que puedan reemplazar a los plásticos convencionales es de interés mundial. Dando mucho énfasis a los compuestos biopolímeros utilizados como coberturas, para dar protección e incremento de la vida útil de las frutas y alimentos, a la vez compuestos que puedan ser consumidos o eliminados fácilmente, y que otorguen propiedades mecánicas como; adecuado flujo de gases y eviten la presencia de microorganismos (1).

Para conservar la calidad de frutas y vegetales se utiliza los recubrimientos los cuales tiene un mecanismo que permiten modificar su atmosfera interna debido a una barrera física a los gases, de esta manera retardar la maduración y senescencia(2). Es una interesante alternativa debido a su fácil manipulación y procesamiento, bajo costo, abundancia, no tóxico, esto ayudaría a las necesidades de alcanzar una agricultura sostenible(3).

Estas películas tienen una excelente biodegradabilidad, son biocompatibles y son comestibles. Existe variación en las propiedades mecánicas y de barrera de la película que se deben principalmente al tipo, concentración del biopolímero y al tipo de disolvente utilizado. Sin embargo, las propiedades funcionales de las biopelículas se han mejorado cuando se combinan con otros compuestos formadores de película(4)(5).

Se consideró para el estudio la utilización de la biopelícula, la goma de brea cuyo nombre científico es *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins llamado en varias regiones como chivatero (Amazonas), rompe trapo (Ica), palo brea, caraquil, palo verde (La Libertad, Lambayeque, Piura y Tumbes).Siendo un arbusto de 4 a 6 m de alto, del tallo principal se obtiene un exudado hidrocoloide, es utilizado como alimento para el ganado vacuno y

caprino; los troncos secos se usa como leña de baja calidad, como goma para pegar papeles y en la salud para afecciones bronquiales.

El objetivo principal es caracterizar las propiedades fisicoquímicas, mecánicas y la evaluación de las propiedades biológicas de las biopelículas funcionalizadas con aceite esencial de *Misthotachys mollis* (Kunth) Griseb (muña) y *Piper carpunya* (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins (pinku).La muña es popularmente reconocida por sus propiedades digestivas, se usa para tratar cólicos, diarreas, flatulencia (carminativo), vómitos(6).En pinku se utilizan las hojas y frutos frescos en la medicina tradicional (decocción y aplicación directa) para tratar problemas respiratorios, afecciones bronquiales como expectorante, inflamaciones genéricas, trastornos gastrointestinales (úlceras, diarreas e infecciones parasitarias intestinales), infecciones tópicas (candidiasis vaginal)(7).

Los aceites esenciales (AE) tienen actividad antioxidante y antimicrobiana(8). Por lo tanto, la importancia en desarrollar una biopelícula antibacteriana, eficaz y biodegradable, que permita evitar la contaminación de los alimentos, reducir la tasa de oxidación y prolongar la vida útil de los alimentos como frutas y vegetales.

1.1.Planteamiento del problema

1.1.1. Problema

¿Cómo se puede elaborar biopelículas de *Parkinsonia praecox* (goma brea), funcionalizarlas con aceites esenciales de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb y *Piper carpunya* (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins y caracterizar las propiedades fisicoquímicas y biológicas?

1.1.2. Justificación teórica

El cuidado del medio ambiente constituye un problema que abarca el nivel mundial, por lo tanto, el uso de agentes biodegradables y renovables constituye una buena alternativa porque podría remplazar a los plásticos. Así, es importante la investigación en busca de compuestos biopolímeros que se usen como coberturas, para dar protección e incremento de la vida útil de los alimentos, a la vez que puedan ser consumidos o eliminados fácilmente, un aporte al Biocomercio utilizando especies nativas de nuestro país, incorporando los aceites esenciales que presentan propiedades biológicas.

Contribuir al desarrollo de una biopelícula con actividad antibacteriana, eficaz y biodegradable para evitar la contaminación y reducir la tasa de oxidación, para prolongar la vida útil de los alimentos, siendo de gran importancia para la salud pública.

1.1.3. Justificación práctica

El interés en la utilización de biopelículas funcionalizadas y perfeccionadas sería un aporte a la industria alimentaria como una alternativa frente al uso de materiales de embalaje obtenidos de combustibles fósiles no renovables. Los biopolímeros biodegradables debido a su fácil manipulación y procesamiento, abundancia, no tóxico, bajo costo, contribuye significativamente a las necesidades de alcanzar una agricultura sostenible, además de ser una alternativa ecológica y natural a los sistemas de empaquetamientos sintéticos, mediante películas de cobertura que reduzcan la oxidación del alimento y regulen el crecimiento de microorganismos, consiguiendo extender el tiempo de vida de un alimento. En la actualidad a nivel mundial se está dando mucho auge en la producción de alimentos orgánicos, libres de agentes sintéticos como son los fertilizantes y plaguicidas, por lo que la aplicación de estas películas a productos de exportación tendría un mejor reconocimiento nacional e internacional. Parte del presente estudio es la formulación y elaboración de las biopelículas a partir de *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins (goma brea) y funcionalizada con aceites esenciales de las especies vegetales aromáticas *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb y *Piper carpunya* (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins.

1.1.4. Objetivos

Objetivo general

Caracterizar las propiedades fisicoquímicas, mecánicas y evaluar las propiedades biológicas de la biopelícula obtenida de *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins y funcionalizarlas con aceites esenciales de *Minthostachys mollis,* “muña” y *Piper carpunya* “pinku”.

Objetivos específicos

1. Elaborar y formular biopelículas a partir de *P. praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins (goma brea) y funcionalizarlas con aceites esenciales de *M. mollis* (muña) y *P. carpunya* (pinku).

2. Determinar las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las biopelículas obtenida de *P. praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins (goma brea) y funcionalizarlas con aceites esenciales de *M. mollis* y *P. carpunya*.

3. Determinar la actividad antioxidante de las biopelículas, mediante la prueba de DPPH=2,2-Difenil-1-picrilhidracilo.

4. Determinar la actividad antimicrobiana de las biopelículas enfrentados a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, con el Método estandarizado ASTM E2180 - 18.

5. Determinar la actividad antifúngica frente a *Aspergillus fumigatus.*

CAPITULO II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

En la actualidad los investigadores coinciden en estudiar las propiedades físico-químicas de las películas comestibles; la presencia del aceite esencial en la película obteniendo un menor valor de la permeabilidad del vapor de agua para la conservación de la película del almidón de maíz y para la gelatina. Según los resultados de los análisis se concluye que la presencia de una nueva composición en la película puede ser favorable para controlar la permeabilidad del vapor de agua y del oxígeno, para lo cual se requiere ensayos previos(9).

En este estudio se realizó la obtención de un biopolímero con una matriz de almidón de papa, en ácido acético al 5% obteniéndose un polímero con 61,76% de amilosa y 38,28% de amilopectina, se determinaron que la goma Xantan y el quitosano le brindan una mejor textura a la biopelícula, mejora la relación de amilopectina de biopolímeros a partir del almidón de *Solanum tuberosum* (10).

En el estudio realizado, utilizó goma brea (*Cercidium praecox*) lo consideró como un soporte estructural para películas a base de emulsión, siendo 20 g / 100 g de glicerol la cantidad satisfactoria del biofilm(11).

Un estudio comparativo entre los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* de tres regiones del Perú, en ellos se notó la presencia de compuestos como la pulegona y la 2-S-trans mentona que presentan propiedades antimicrobianas(12).
Se realizó un estudio acerca de la actividad antimicótica del aceite de *Minthostachys mollis* "muña", el aceite esencial inhibió completamente el desarrollo de *Trichophyton mentagrophytes* y *Trychophyton tonsurans*(13).

El estudio ha experimentado la variación del tipo de aceite esencial, para lo cual dentro del estudio se realizó la actividad antibacteriana y antioxidante de los aceites esenciales de tres especies: *Piper carpunya* (pinku), *Piper lineatum* y *Piper acutifolium*. La primera mostró un aceite esencial con actividad antifúngica significativa, mientras que el aceite esencial de *Piper*

lineatum exhibió una actividad antimicrobiana contra bacterias gram positivas. Las tres especies tienen propiedades antioxidantes(14).

Resultaron susceptibles a la acción antibacteriana del aceite esencial de *M. mollis*, donde las cepas bacterianas de *S. aureus, S. epidermidis y E. coli*, cuyo principal constituyente es el carvacrol(15).

Se determinó la suceptibilidad de *E. coli* y *S. aureus*, frente a los aceites esenciales de *M. mollis* (Kunth) Griseb. "muña" y *P. carpunya* Ruíz & Pav. "pinku", confirmando la actividad antibacteriana, otorgada por la pulegona en caso de muña y el metileugenol en el aceite de pinku(16).

2.2. Aspectos Teóricos

2.2.1. Propiedades físicas de las biopelículas

Presentan las siguientes categorías: propiedades mecánicas, propiedades de barrera, propiedades ópticas y de apariencia, propiedades estructurales (17).

2.2.1.1. Propiedades mecánicas

Son las siguientes: embalaje, resistencia a la tracción, módulo elástico, alargamiento, deformabilidad, ya que deben tener una resistencia mecánica adecuada para mantener su integridad durante la manipulación y el almacenamiento(18).

2.2.1.2. Propiedades de barrera

Las propiedades de barrera de una biopelícula determinan el paso o impedimento de diferentes gases a través de ella(19).La permeabilidad de los gases sobre la biopelícula se da cuando estos se solubilizan y se difunden(20).Los gases inicialmente se disuelven en la biopelícula y luego a consecuencia de la gradiente de concentración se difunden a través de ella(20)(21).La permeabilidad al vapor de agua y permeabilidad a los gases, es la propiedad de barrera estudiadas en las biopelículas por su aplicación en los alimentos(20).

Permeabilidad al vapor de agua (PVA): se define como "la cantidad de vapor de agua que atraviesa un material por unidad de superficie, cuando entre sus paredes existe una diferencia

de presiones, en condiciones de humedad relativa y temperatura específicas". El agua bajo la forma de vapor es permeable en las biopelículas que debe controlarse, debido a que su función del agua está en las reacciones de deterioro de los alimentos; (22)(23). El cual se determina por varios métodos, como por ejemplo técnicas gravimétricas y el método descrito según, la Norma ASTM8 E96/E96M-10(24).

Permeabilidad a gases: La permeabilidad a los gases CO_2 y O_2 son ampliamente estudiadas debido a que tiene relación directa con los mecanismos de la oxidación de los alimentos(23).Para determinar la permeabilidad a los gases CO_2 y O_2 se emplea biopelículas aisladas, así mismo se puede hacer uso del método de acumulación en celdas que requiere cromatografía de gases(20).

2.2.1.3. Propiedades ópticas y apariencia

La apariencia de una biopelícula para su aceptación final del producto se atribuye al brillo, color y translucidez (19).

2.2.1.4. Propiedades estructurales

"Las propiedades de las biopelículas dependen de varios factores estructurales tales como: la relación entre la zona cristalina y amorfa, la movilidad de la cadena polimérica y las interacciones entre los grupos funcionales de los hidrocoloides, lípidos y aditivos"(20)(19), entre otros.

"Para caracterizar la estructura de los biopolímeros y determinar la relación entre la química estructural del polímero y las propiedades físico-químicas y mecánicas de las biopelículas se pueden utilizar varias técnicas, tales como: microscopía electrónica de barrido, difracción de rayos X, calorimetría diferencial de barrido, análisis térmico mecánico y métodos espectroscópicos(20).

2.2.2. Teoría de la formación de la biopelícula

Los procesos de formación de películas comestibles son: por casting húmedo y por casting seco. En ambos casos el material que forma la película debería de formar un gel espacialmente reordenado que incorpore todos los agentes que forman la película, tales el tipo de biopolímero, los plastificantes y otros aditivos. El método del casting húmedo utiliza solventes para la

dispersión de los materiales que van a formar la película, después se secan para eliminar el solvente y así formar la estructura de la biopelícula(25).Para el proceso en seco, se aplica con reserva calor a los materiales que van a formar la biopelícula para aumentar su temperatura por el punto de fusión y así se hacen fluir. Por tanto, se deben de conocer previamente las propiedades termoplásticas de estos materiales para así poder diseñar el proceso(25). No es recomendable utilizar temperaturas altas, tampoco exceso de álcalis en los procedimientos.

2.2.3. El mecanismo de la película biodegradable

2.2.3.1. Adsorción. Se refiere principalmente al etileno, porque el etileno tiene la función de madurar frutas y verduras. Reducir el contenido de este compuesto químico en el empaque puede inhibir o ralentizar efectivamente el proceso de maduración de frutas y vegetales, el consumo nutricional y la fuerza respiratoria, extendiendo así la vida útil. La adsorción de este, se logra principalmente agregando un absorbente de etileno a la película envolvente(26).

2.2.3.2. Función de ajuste de gas. El gas está implicado principalmente en el ajuste de las concentraciones de O_2 y CO_2. Mantener la concentración de gas adecuada en el empaque puede prolongar efectivamente la vida útil de las frutas y verduras. El O_2 y el CO_2 están estrechamente relacionados con la respiración de frutas y verduras. Si se reduce la concentración de O_2 y aumentar la concentración de CO_2 puede inhibir su propio metabolismo respiratorio de frutas y verduras y puede reducir su propio consumo y así se podrá extender el efecto de la conservación de los alimentos(26).

2.2.3.3. Agente antivaho. Semejantes a la "niebla" esto se debe a la evaporación en la condensación de vapor de agua de frutas y verduras en la superficie de la formación de la película delgada. El efecto de embalaje en niebla no es solo la apariencia de las frutas y verduras, sino también la calidad de estas y al envasar con demasiada agua generará bacterias lo que provocará la pudrición. La adición de un agente antivaho a la película envolvente puede proporcionar una mejora eficaz.(26).

2.2.3.4. Actividad antibacteriana. Efecto que producen los microorganismos que se encuentran en la superficie, cuyo crecimiento facilita que los alimentos se echen a perder.

Por lo tanto, agregar cierto agente antibacteriano en la recubierta de los alimentos inhibe el crecimiento microbiano y así garantizar la seguridad alimentaria(26).

2.2.4. Métodos de evaluación de la actividad antioxidante

Para medir la capacidad antioxidante de los compuestos existen diferentes métodos, los que se clasifican en dos categorías:

La primera categoría en un sistema modelo por monitoreo a los cambios asociados usando medios físicos, químicos o instrumentales y mide la inhibición de la oxidación.

La segunda categoría, involucra a los ensayos captadores de radicales libres, los cuales incluyen métodos basados en mecanismos de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o transferencia de electrones (ET). Los ensayos ORAC (capacidad de absorber radicales oxigenados) y TRAP (método antioxidante que atrapa los radicales totales), son los preferidos métodos utilizados para medir el HAT. Los ensayos TEAC (capacidad antioxidante equivalente a Trolox), FRAP (Poder antioxidante reductor férrico), el método de ABTS (capacidad de captación de radicales del ácido 2,2-azonobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico ABTS) y el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) por su capacidad de abstracción de átomos de hidrógeno de polifenoles y otros grupos funcionales(27)(28).

2.2.5. Teoría de la propiedad antimicrobiana

Las propiedades antimicrobianas de los recubrimientos comestibles pueden evaluarse utilizando diferentes tipos de microrganismos y diferentes métodos de pruebas, incluido el ensayo de difusión en agar de disco de película, la enumeración por recuento de placa de la población microbiana y la prueba de inoculación de la superficie de la película(29).

2.2.6. Preparación de biopelículas

La formación se debe a las fuerzas intermoleculares como: la interacción electrostática o iónica y enlaces covalentes, para lo cual se requiere que las moléculas estén disueltas, para esto se conocen diversos métodos como la modificación del pH, incorporación de sales, aumento de la temperatura de la solución, modificación enzimática, usar solventes de grado alimenticio o adicionar productos químicos(25). Para producir biopelículas se puede emplear los siguientes métodos: el método seco, no requiere el uso de solventes; dos ejemplos de este método son: la extrusión y el prensado en caliente. El prensado en caliente aplica calor a temperaturas que sobrepasen al punto de fusión para fundir el material. El método húmedo

utiliza solventes para dispersar los materiales formadores de biopelícula, seguido de deshidratación para eliminar el solvente y darle consistencia a la biopelícula. Los materiales forman una estructura de gel, siendo indiferente el proceso usado. Se sugiere utilizar temperatura baja para no afectar las estructuras químicas. Los mecanismos de formación de la mayoría de los biopolímeros después de la gelificación aún no son determinados con claridad(30).Cuando el hidrocoloide se encuentra solubilizado se puede incluir otros componentes (lípidos y aditivos) de tal manera que formen emulsiones que sean empleadas para la preparación de recubrimientos o para preparar la biopelículas(18)(22). Las biopelículas se obtienen por procesos de extrusión y laminación o por preformado en placa (casting), estos procesos también se emplean en la industria de los polímeros sintéticos(18). El principal método para formar biopelículas es removiendo el solvente por evaporación y preformado en placa, este método se emplea para componentes dispersos en una solución acuosa, tal técnica consiste en verter la solución en moldes, luego se elimina el solvente por secado. En el proceso se controla el espesor de la biopelícula por medio de aplicadores, así mismo se controla la velocidad y temperatura de secado que influyen en la estructura cristalina y propiedades finales de la biopelícula(21).

2.2.7. Clasificación taxonómica, características botánicas, composición química, usos, propiedades biológicas y actividad antioxidante de la goma brea, muña y pinku.

La determinación taxonómica se realizó según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981) del Herbario, autenticado por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

2.2.7.1. *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav. ex Hook.) Hawkins

2.2.7.1.1. Clasificación taxonómica: Goma brea

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: Parkinsonia

Especie: *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav. ex Hook.) Hawkins

Sinónimo: *Cercidium praecox* (Ruiz &Pav. Ex Hook) Harms

Nombre común: Palo verde, chivatero (Amazonas), palo brea (Piura), caraquil (La Libertad), goma brea, brea gum.



Figura 1. Especie vegetal *P. praecox* Foto propia

2.2.7.1.2. Características Botánicas de goma brea

Tiene talle arbustivo o arbóreo es espinoso y presenta de 3 a 8 m de altura, con 10 a 30 cm. de diámetro, corto, tortuoso y corteza lisa, característica por su color verde claro. Las ramas también son tortuosas y de color verde. En cada nudo hay espinas, de hasta 2 cm. de longitud, casi siempre solitarias. La corteza externa verde caña, lenticelada, pulverulenta o lisa, corteza interna de color verde cremoso; ramitas terminales cilíndricas, lenticeladas, lisas o escasamente pulverulentas, con espinas rectas. Presenta hojas compuestas, bipinnadas, alternas, con 1-3 pares de folíolo de 5-6 cm de largo, y 1.5-2 mm de ancho, las pinnas con 6 pares de folíolos de 3-6 mm de largo, bases obtusos, oblongos, ápice y, borde entero, con estípulas pequeñas no espinosas, hojas pubescentes, pero con 2 espinas axilares, lignificadas. Inflorescencias en racimos corto, axilares. Las flores en los nudos de las ramas terminales y laterales, hermafroditas, de color amarillo intenso, vistosas, el estandarte hacia la base con puntos de color anaranjado; cáliz, cortamente campanulado, 1-2 mm de largo; la corola con 5 pétalos, 0.6-10 mm de largo, oblongos a orbiculares. El ovario ligeramente oblongo de 3-4 mm de largo estambres libres, estilo filiforme de hasta 4-5 mm de largo. El fruto una legumbre, plana, estrechamente oblonga a elipsoide, de 4.5-10 cm de largo, 0.7- 1.3 cm de ancho y las semillas con 1 a 5 por fruto.

Las hojas son compuestas, pequeñas y se caracterizan por brotar después de iniciada la floración(31).



Figura 2. Frutos de *P. praecox*. Foto propia



Figura 3. Flores de *P. praecox*. Foto propia

2.2.7.1.3. Composición química de goma brea

Goma brea(GB) es un exudado hidrocoloide obtenido de *P. praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins anteriormente *Cercidium praecox* (árbol de brea), que crece en regiones semi áridas en el Sur de América(32). Es un polisacárido ácido, formado por 75g/100 g de azucares hidrolizables, tales como L-arabinosa, D-xilosa, ácido D-glucorónico y 4 ometil-D -glucoronato, no presenta almidón, dextrina o taninos(33).Estos carbohidratos están asociados con aproximadamente 8g/100 g de proteína, lo que puede indicar la presencia de proteoglicanos que son cruciales para la funcionalidad de la goma principalmente por sus propiedades emulsionantes(34)(11).



Figura 4. Exudado de *P. praecox* Foto propia



Figura 5. Goma cristalizada de *P. praecox* Foto propia

2.2.7.1.4. Usos y propiedades de la goma brea

Esta especie ha sido usada para el tratamiento de afecciones bronquiales (remedio para la tos) y como pegamento casero. Puede usarse en alimentación, en la industria de adhesivos, envases y farmacéutica. El árbol segrega la goma de su tronco y ramas para cicatrizar las lesiones que se producen en la corteza.(35) (36).

2.2.7.2. Muña (*Minthostachys mollis* Griseb.)

2.2.7.2.1. Clasificación Taxonómica: Muña

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: Minthostachys

Especie: *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb

Nombre común: Muña, en quechua y coa o huaycha en aymara.



Figura. 6 Especie vegetal *M. mollis* (Kunth) Griseb Foto propia

2.2.7.2.2. Características botánicas de muña.

La muña es un subarbusto escandente o apoyante, de 0.8 hasta 2.5 metros de alto, sus tallos son densamente vellosos con pelos rectos, curvos o crispados hasta 1mm de largo, a veces glabrescentes; entrenudo cerca de 13 cm de largo; la corteza es de color marrón pálido, marrón rojizo, marrón anaranjado, o marrón oscuro. Las hojas son ovadas, pero extremadamente variables en forma y dimensiones, los márgenes inferiores a fuertemente aserrados, presentan ápices atenuados o agudos, acuminados, muy raramente obtusos, las bases redondeadas, débilmente atenuadas o agudas, a veces obtusas, rara vez cordadas o subtruncadas; peciolo 2-10 mm el largo; superficie superior de las hojas escasamente o densamente con pelos adpresos curvados uniformemente distribuidos aprox. 0.5 mm de largo, o subglabras; la superficie inferiores de las hojas, de moderada a muy densamente

peludas, con pelos rectos a ligeramente crispados, de alrededor de 1.0 mm de largo. Las inflorescencias extremamente variables, verticiladas, congestionadas, con un número muy elevado de flores en eje, las brácteas 1-4 (-5) veces más largas que el radio de las inflorescencias, densas, con numerosas flores blancas, con bractéolas lineales de 1-3 mm de longitud; pedicelos de 0.5-1.5 (-2.0) mm de largo. Los cálices de (2.0 -) 2.5-4.5 (-5.0) mm de largo, generalmente densamente piloso de tamaño de los pelos de 0.5-1.0 mm de largo, gradualmente más cortos en los dientes o casi de la misma longitud, los tubos de 1.00-2.25 mm de largo, los labios cerca de 1.00 - 2.25 mm de largo, 40-50% de la longitud del cáliz; dientes delgados, más o menos atenuados, erectos, los dientes del labio inferior del cáliz libre a la boca del tubo los del labio superior del cáliz libres cerca de 2/3-4/5 del labio; corolas con tubos (2-) 3-5 (-6) mm de largo(37).



Figura 7. Ramas de *M. mollis* (Kunth) Griseb Foto propia



Figura 8. Hojas de *M. mollis* (Kunth) Griseb foto propia

2.2.7.2.3. Característica físico-químico del aceite esencial de *M. mollis*

Tabla 1. Características organolépticas de los aceites esenciales de muña.

Características Organolépticas	Aceite esencial *M. mollis*
Color	Ligeramente amarillento
Olor	Aroma similar al mentol
Sabor	Picante fresco no persistente

Aspecto	Líquido fluído y transparente

Fuente: Gonzales K, 2022(16)

2.2.7.2.4. Composición química del aceite esencial de *M. mollis*

Los constituyentes químicos identificados mayoritariamente en el aceite esencial (AE) de *M. mollis* son los siguientes monoterpenos:

Pulegona: Es uno de los componentes importantes por su abundancia; es tóxico en cantidades altas, daña el hígado y puede llegar a provocar aborto. La toxicidad del AE explica el efecto nocivo de esta frente a plagas y parásitos.

Mentona: Sumado a la pulegona representan más del 75 % de la composición del AE. Componente popular de la menta (*Mentha piperita*), se caracteriza por poseer buen aroma, presenta propiedades digestivas.

Carvacrol: Componente dominante en baja proporción. Se encuentra en especies como: tomillo del monte serpolio (*Thymus serpyflum*), la ajedrea de jardín (*Satureja hortensis*) y orégano (*Origanium vulgare*)(38).

Tabla 2. Componentes mayoritarios detectados en los aceites esenciales de muña.

Constituyente químico	**Tiempo de retención**	**% en las muestras**
Pulegona	23.05	40.94
Mentona	20.56	32.72
Limoneno	16.46	1.92
Carvacrol	26.35	0.99

Fuente: Gonzales K(16)

2.2.7.2.5.Usos y propiedades de muña

La muña (*M. mollis*) es popularmente reconocida por sus propiedades digestivas, se usa para tratar cólicos, diarreas, flatulencia (carminativo) y vómitos. Es usada en la medicina tradicional en problemas respiratorios, contra el soroche, como expectorante(39), antiespasmódico, antiséptico, analgésico, antiinflamatorio y febrífugas(6).

2.2.7.3 . Pinku (*Piper carpunya* Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins

2.2.7.3.1 Clasificación Taxonómica

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Magnollidae

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: Piper

Especie: *Piper carpunya* (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins.

Nombre común: Pinku, carpundia, carpunya, cordoncillo, tilonga.



Figura 9. Especie vegetal *P. carpunya* Ruiz & Pavon Foto propia

2.2.7.3.2. Características botánicas de pinku

Es un arbusto aromático, hasta 3-4 m de alto, tallo nudoso, corteza lenticelada, verde-pálido, tronco principal y ramas ligeramente flexibles pero leñosas. Las hojas simples, están acompañadas de una estípula lanceolada y caduca, alternas, pecíolo corto, vaginado en la base, 8-11 mm de longitud, láminas de 9-14 de largo por 4-8 cm de ancho, enteras, coriáceas, glabras, de color verde brillante, lanceoladas, acuminada en el ápice hasta aguda a ligeramente aguda en la base, nervadura secundaria impresa en el haz y evidente en el envés, 2 a 3 pares de nervios secundarios oblicuos, ascendentes. Las inflorescencias,

se presentan en espigas erguidas, cilíndricas, blanquecinas a cremas, opuestas a las hojas, de 7-12 mm de largo por 3 mm de diámetro, pedúnculo glabro de 6-9 mm de largo. Las flores dispuestas circularmente en la espiga blanquecinas, 1-2 mm de largo, ovario súpero, estilo corto, con tres estigmas sésiles. Los frutos en drupas negras, globosas, de 1-2 mm de diámetro(40).



Figura 10. Ramas y hojas de *P. carpunya* Ruiz &Pavon



Figura11. Estípula de *P. carpunya* Ruiz &Pavon Foto propia

2.2.7.3.3. Característica físico-químico del aceite esencial de pinku

Tabla 3. Características organolépticas del aceite esencial pinku

Características Organolépticas	**Aceite esencial *P.carpunya***
Color	Ligeramente verde
Olor	Intenso
Sabor	Picante persistente
Aspecto	Líquido fluído translucido

Fuente: Gonzales K(16)

Tabla 4. Componentes mayoritarios detectados en el aceite esencial de pinku

Constituyente químico	Tiempo de retención	% en las muestras
Metileugenol	27.28	40.49
Safrol	24.51	31.24
Isohomogenol	29.81	7.50
Germacreno B	30.22	6.23

Fuente: Gonzales K(16)

2.2.7.3.4. Usos y propiedades de pinku

No existen muchas publicaciones acerca de *P. carpunya*, cabe señalar que es una planta utilizada en la medicina tradicional(41).

En la zona de Camporredondo en Amazonas, donde fue colectada la especie vegetal, utilizan las hojas y frutos frescos en la medicina tradicional, la infusión de hojas y espigas para combatir la flatulencia, infección intestinal; desinfectante de heridas, afecciones bronquiales. Como vermífugo mezclado con paico, se muele las hojas y las infrutescencias, se exprime el jugo y se toma en ayunas durante 3 días.

Para alimento se muele las hojas y se prepara un caldo verde con huevos o las hojas molidas se mezcla con ají para sazonar carnes(42).

2.3. Términos conceptuales

2.3.1. Biopelícula o biofilm

Son capas finas de biopolímeros, se aplican en los alimentos; tienen un papel importante en su preservación, distribución y marketing. Se utilizan diferentes tipos de polímeros como formadores de película, los materiales utilizados para formar películas y recubrimiento comestibles incluyen biopolímeros como proteínas, carbohidratos, así como lípidos o una mezcla de estos(25).

2.3.2 Aceite esencial

Son productos naturales producidos por las plantas aromáticas y están presentes como mezclas variables de terpenos, especialmente monoterpenos ($C_{10)\ y}$ sesquiterpenos (C_{15}) y también diterpenos (C_{20})(43).

2.3.3. Biodegradable

Son productos que son perecederos por la naturaleza ya que pueden ser degradados por muchos efectos ambientales diferentes, incluida la contaminación por bacterias y hongos. La biopelícula de polisacáridos se degrada con el tiempo gracias a los enlaces glicosídicos que se encuentran entre las unidades de monosacáridos(5).

2.3.4. Agentes antimicrobianos

Son compuestos que se utilizan para la conservación de alimentos frescos envasados, algunos de ellos se derivan de fuentes naturales y se han utilizado tradicionalmente como aditivos alimentarios su efecto antimicrobiano se ha relacionado con el aumento de la concentración de protones causando la disminución del pH externo, alterando la integridad y la permeabilidad de las membranas de las células microbianas, ocasionando perturbación en el transporte de nutrientes, causando la inactivación celular y la muerte. Los ácidos orgánicos, las enzimas, las bacteriocinas, los compuestos y subproductos derivados de las plantas, incluidos los aceites esenciales, como timol o carvacrol. Los ácidos orgánicos y sus sales son los compuestos más comúnmente utilizados como agentes antimicrobianos debido a su eficacia conocida y bajo costo. Algunos de ellos se han incorporado tradicionalmente a los recubrimientos, como los ácidos laúrico, acético, sórbico, cítrico, benzoico o propiónico(44).

2.3.5. Cultivo microbiológico

Los cultivos microbianos son métodos de diagnóstico básico y fundamental que se utilizan ampliamente como herramienta de investigación en biología molecular. Los cultivos microbianos se utilizan para determinar el tipo de organismo, abundancia en la muestra que se analiza o ambas cosas(45).

2.3.6. Elongación y tracción

Es la capacidad de las películas para extenderse antes de romperse. Describe la naturaleza de la plasticidad de la película. Por lo general, se requiere plasticidad o extensibilidad para que una película mantenga su integridad cuando se aplica a productos alimenticios(10).

2.3.7. Espesor

Es una característica para determinar la viabilidad de la biopelículas como materiales de envasados para productos alimenticios ya que el grosor afecta a otras características de las películas tales como resistencia a la tracción, elongación y permeabilidad de vapor de agua(4).

CAPÍTULO III.-METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio y diseño de investigación

Experimental, aplicada.

3.2. Unidad de Análisis

Las biopelículas fueron obtenidas en el laboratorio del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

3.3. Población de estudio

Polisacáridos obtenidos de *P. praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins palo verde "chivatero" (Distrito El Milagro, provincia de Utcubamba, Departamento de Amazonas)

Aceite esencial de *M. mollis* Griseb. muña (localidad Villarrica, Distrito San José de Lourdes Departamento de Cajamarca)

Aceite esencial de *P. carpunya* Ruíz & Pav. pinku (localidad de Pillías, Distrito de Camporredondo, Departamento de Amazonas).

3.4. Tamaño de muestra

P. praecox (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins se colectó 3.20 kg de goma, materia seca y solidificada.

M. mollis Griseb. Muña, se colectó 41 kg y se obtuvo 10 kg en peso seco de hojas frescas y sumidades floridas.

P. carpunya Ruíz & Pav. Pinku, se colectó 30 kg de hojas frescas y sumidades floridas y se obtuvo 11 kg de peso seco.

3.5. Diseños Metodológico:

3.5.1. Recolección y clasificación sistemática

La planta productora de goma *P. praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins, palo verde "chivatero", se colectó en el distrito del Milagro, provincia de Utcubamba, Departamento de Amazonas.

M. mollis Griseb. muña se colectó en la localidad Villarrica en el distrito de San José de Lourdes, Departamento de Cajamarca.

P. carpunya Ruíz & Pav. pinku se colectó en la localidad de Pillías, del distrito de Camporredondo, Provincia de Luya, Departamento de Amazonas.

La identificación taxonómica se realizó en el Herbario del Museo de Historia Natural de la UNMSM, siendo las siguientes muestras vegetales: *Minthostachys mollis* (muña) con **Constancia N° 297-USM-2018**, *Piper carpunya* (pinku) con **Constancia N°298-USM-2018** y *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins con Constancia **N°299-USM-2018.**

3.5.2. Extracción y purificación de la goma brea

Para la extracción y purificación de la goma brea natural se realizó los siguientes pasos:

3.5.2.1. Disolución: se colocó en un recipiente y se le agregó agua destilada, manteniendo la relación cantidad de goma y agua que se especifica en la Tabla 5. Luego se colocó el recipiente en un equipo de Baño María Modelo YCW-010.Wather Bath. Gemmyco, durante 1 hora a 70 °C con agitación paulatina.

Tabla 5: Referencias de cantidades usadas en la purificación de la Goma Brea

Cantidad de goma utilizada	**Agua (ml)**
100 g	$10^3/3$
200 g	$2x10^3/3$
300 g	10^3

Fuente propia

Filtración: Se separaron los restos de la corteza de la muestra mediante filtración por gravedad utilizando tela tul. Para obtener una solución libre de impurezas se procedió a centrifugar el producto filtrado durante 10 min a 5000 rpm. El producto centrifugado se decantó con cuidado, y se colocó en un recipiente.

3.5.2.2. Purificación: A la sustancia obtenida se le incorporó alcohol de 96°.Este proceso se repitió 3 veces, con la finalidad de purificar la goma. Luego se disolvió en agua destilada y se llevó al equipo de Baño María a 70 °C para eliminar el alcohol de la muestra. Con la proporción inicial indicada se utilizó 100 mL de alcohol de 96° para obtener la goma purificada.

3.5.2.3. Liofilizado: La muestra disuelta y libre de alcohol se colocó en recipientes de plástico y se congeló a una temperatura de – 10 °C durante 24 horas. Finalmente, la muestra se liofilizó durante 72 horas y se obtuvo muestra en polvo.

3.5.3. Obtención de los aceites esenciales

Se realizó por el método de arrastre de vapor de agua en la Unidad de Investigación de Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Los aceites obtenidos fueron sometidos a desecación con sulfato de sodio anhidro (SO_4 –Na_2 anhidro), para eliminar el exceso de humedad. Luego fueron filtrados con la ayuda de una bomba al vacío, se depositó en frascos oscuros cerrados herméticamente y se rotuló para su almacenamiento en refrigeración hasta su uso.

3.5.4. Preparación o formulación de las biopelículas a base de goma brea.

Para la preparación de las biopelículas se colocó el liofilizado de goma brea en un beaker y se incorporó agua destilada. Para facilitar la homogenización se colocó el beaker en un agitador magnético a temperatura ambiente de 25°C.

Como agente tensoactivo se empleó propilenglicol, por ello se mezcló previamente con cada aceite esencial. La agitación se realizó durante 15 minutos.

Antes de incorporar los aceites, se añadió glicerol al 5 % al beaker que contenía la dispersión de goma y se dejó en agitación por 200 rpm, hasta completa homogeneidad.

Posteriormente se incorporó los aceites esenciales de acuerdo a la concentración requerida para cada formulación. Finalmente se agregó la dispersión en una placa Petri y se depositó en la estufa a 32°C por un tiempo de 24 horas.

Tabla 6. Composición de cada biopelícula formulada

FORMULAS	GOMA	ACEITES
F1	7,50%	0,15%
F2	7,50%	0,20%
F3	10 %	0,15%
F4	10 %	0,20%
F5	7,50%	-----
F6	10 %	-----

Fuente propia

3.5.5. Caracterización fisicoquímica y mecánica de la biopelícula.

3.5.5.1. Espesor

El espesor de la biopelícula se midió con el micrómetro marca Electronic Digital Caliper. Las mediciones se tomaron al azar de 5 a 10 puntos diferentes para muestras de biopelículas individuales y se calculó el valor promedio.

3.5.5.2. Opacidad

La opacidad se determinó midiendo la absorción de la biopelícula en 600 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Modelo Thermo Scientific, Genesis 150. Para ello se cortó una pieza rectangular de cada película y se colocó directamente en una celda de cuarzo y una celda de prueba vacía se empleó como referencia. Para calcular la opacidad se empleó la siguiente fórmula, reemplazando la absorbancia a 600 nm.

$$Opacidad = Abs_{600}/x$$

Donde Abs_{600} es el valor de absorbancia a 600 nm y X es el espesor de la película (mm).

3.5.5.3. Permeabilidad de vapor de agua(24)(46)

Para determinar la permeabilidad al vapor de agua, se utilizó el método gravimétrico estándar de la ASTM E96-80. Se recortaron circunferencias de 3 cm de diámetro de cada biopelícula, las cuales se colocaron y se fijaron en la superficie de cada celda de permeación, que contenían $CaCl_2$ como agente desecante. Cada sistema completo de permeación se pesó, registrando el peso como la lectura a tiempo cero. Posteriormente las celdas fueron colocadas en un desecador que contenía 300 mL de una disolución saturada de NaCl, lo cual proporcionó una humedad relativa del 70%. El desecador fue cerrado por completo. El

cambio de peso de las celdas se registró cada 2 horas utilizando una balanza analítica Acculab (con precisión de 0.0001g), hasta el momento en que se observó un cambio en el peso en dos determinaciones consecutivas, esto es, cuando se alcanzó el equilibrio. Con los datos obtenidos se realizaron tres cálculos, midiendo la tasa de transición de vapor de agua (WVT):

Transición de vapor de agua: $\Delta w/(\Delta t \times A) = g/(m^2 s)$

Donde:

• Δw: variación de peso (g) de la celda de permeación

• Δt: variación de tiempo durante todo el ensayo

• A: área del biofilm expuesto (m^2)

Para calcular la permeanza se empleó la siguiente fórmula:

Permeanza = WVT/Sx(R1-R2)

Donde:

• S: presión de vapor de saturación a la temperatura experimental, kPa.

• R1: humedad relativa de la cámara, en fracción.

• R2: humedad relativa interna del tubo de prueba, en fracción

Finalmente para calcular la permeabilidad al vapor de agua (WVP) (g/h.m.Pa)

WVP = Permeanza x grosor de la biopelícula

3.5.5.4. Solubilidad y Humedad (52)

Solubilidad

La solubilidad en agua se realizó por triplicado según el método de Ojagh, las muestras de película previamente pesadas se sumergieron con agitación constante en 50 ml de agua destilada, durante 6 horas a una temperatura de 25 ◦C. Después de la filtración, la película no disuelta se secó a 110 ◦C hasta el peso constante (peso seco de la muestra). Se usaron tres réplicas de cada tratamiento de la película para calcular el contenido de humedad.

La solubilidad en agua (%) se determinó según la ecuación:

WS%= (peso inicial - peso final) /peso inicial x 100

Humedad

El contenido de humedad de las películas se realizó mediante el secado en una estufa a 110°C, hasta alcanzar un peso constante (peso seco de la muestra). Se usaron tres réplicas de cada tratamiento de película para calcular el contenido de humedad.

3.5.5.5.Tensión (Resistencia a la tracción)

Los ensayos de medidas de tracción se realizaron por triplicado empleando un tensiómetro Haze Lab del Laboratorio Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM. Las películas se cortaron en tiras de 60 mm x 20 mm (largo x ancho). La distancia de viraje inicial fue de 30 mm y la velocidad de la cruceta fue de 0,05 mm/s. Los parámetros obtenidos de las curvas de tensión frente a deformación fueron los siguientes: resistencia a la tracción (TS) calculada dividiendo la fuerza máxima de ruptura (F) por el área de la sección transversal de las películas(espesor, mm x ancho de la tira)(4).

$$\textbf{Resistencia a la tracción (MPa)} = F_{max} / \gamma$$

- γ: área de la sección transversal

3.5.6. Evaluación de propiedades biológicas

3.5.6.1.Actividad Antioxidante por el Método DPPH (47)

La actividad antioxidante de las películas se evaluó mediante la captación del radical libre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracilo), siguiendo el método de Siripatrawan modificado. Se mezcló 1.5 ml de la solución de trabajo de la película (25 mg de película) (Balanza analítica Acculab) disuelta en 1.5 ml de solución de agua destilada: metanol en proporción 1/1 con 0.5 ml de solución de DPPH al 0.1 mM. Luego, la mezcla se llevó a un vortex marca Scilogex, hasta la homogeneidad y se incubó a 25 °C por 30 minutos. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 517 nm en el Espectrofotómetro Ultravioleta visible modelo Genesys 150 marca Thermo Scientific

El porcentaje de radical libre captado fue determinado mediante la fórmula siguiente:

$$\%CRL_{DPPH} = [(Abs_{DPPH} - Abs_{MP}) / Abs_{DPPH}]*100$$

Donde:

- Abs $_{DPPH}$ corresponde a la solución metanólica de DPPH
- Abs $_{MP}$ se trata de la absorbancia de las muestras problema de soluciones de trabajo de películas.

Las muestras fueron trabajadas por triplicado.

3.5.6.2. Ensayo de la Actividad Antimicrobiana

3.5.6.2.1. Reactivación de las cepas

Se sembraron las cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923, a partir de los ceparios, en 5 mm. de caldo Tripticasa Soya (TSB), incubándolas a 37°C por 12 horas (overnight). Las cepas fueron proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

3.5.6.2.2. Procedimiento. Método estandarizado ASTM E2180 - 18(48)

Se sembraron las dos cepas en placas con medio Agar Tripticasa Soya (TSA), incubándolas a 37°C por 24 horas. Se ajustó el cultivo de caldo bacteriano a 1,5 x 10^8 células con ayuda de un densitómetro.

Se preparó la suspensión de agar Slurry disolviendo 0,85 g de NaCl y 0,3 g de agar agar en 100 ml de agua desionizada. Se calentó con agitación en una placa caliente hasta que el agar se disolvió y luego se esterilizó en autoclave durante 15 min a 121 +/- 2°C, 15 psi, luego se dejó enfriar a 45 +/-2 °C. Posteriormente, se preparó una suspensión de agar para cada organismo analizado.

Se preparó muestras cuadradas de 3,0 × 3,0 cm de las biopelículas de tratamiento y de control, dejando en incubación 24 horas (muestra por triplicado) y cada una se colocó en una placa Petri de 15x100 mm.

Se colocó 1,0 ml de cultivo estandarizado en la suspensión de agar Slurry de 100ml a 45°C +/- 2°C. Siendo la concentración final 1,5 x 10^6 células /ml en la suspensión de agar fundido.

Se sumergió un hisopo de algodón en solución salina estéril 0,85 % y se humedeció previamente los cuadrados de biopelícula que se encontraban en las placas Petri. Con la

finalidad de ayudar a dispersar la suspensión de agar uniformemente sobre la muestra. Se pipeteó una capa fina de la suspensión de agar inoculada (0,5 ml) sobre los tratamientos y los controles. Posteriormente se dejó en incubación por 24 horas a 37°C.

Después de la incubación, cada cuadrado de film se colocó en un tubo falcon que contenía agua peptonada y se colocó en sonicación por 1 minuto, luego se puso el tubo en un vórtex por 1 min para asegurar que el agar Slurry se desprenda de las biopelículas. Luego a partir de cada muestra se realizaron las diluciones de 1:10 y 1:100 y se sembró cada una en TSA. Posteriormente se dejó en incubación por 48 horas a 37°C. Se contaron y registraron las colonias bacterianas de cada serie de diluciones y se determinó la media geométrica del número de organismos recuperados del control del período de incubación por triplicado y de las muestras tratadas con período de incubación mediante la siguiente ecuación:

$$\textbf{Media geométrica} = (\text{Log}_{10}X_1 + \text{Log}_{10}X_1 + \text{Log}_{10}X_1)\ /3$$

3.5.6.2.3. Actividad Antifúngica

Para la actividad antifúngica se utilizó como muestra: Cepa de *Aspergillus fumigatus*, obtenida en el Laboratorio de Referencia Nacional de Micología del Centro Nacional de Salud Pública (CNSP) del Instituto Nacional de Salud (INS).

Biopelícula: Se cortaron del tamaño de unos discos de 1 cm diámetro, en cada placa se colocaron dos discos de diferentes concentraciones y los controles.

3.5.6.3.1. Suspensión de conidios (49)

Se tomó una porción de conidios de *Aspergillus fumigatus,* fue cultivado en tubos de ensayo con agar papa dextrosa (PDA) a 28 ± 2°C por 10 días. Posteriormente, se preparó una suspensión de conidios, agregando al tubo 10 mL de solución salina (0,90%) estéril y se procedió a agitar vigorosamente para facilitar el desprendimiento de los mismos. La suspensión obtenida se filtró utilizando doble gasa estéril, con la finalidad de eliminar otras estructuras fúngicas y obteniendo sólo conidios en la suspensión. Se determinó el número de conidios por mL de la suspensión, y utilizando el estándar de MacFarland 0.5 y se ajustó a 10^6 conidios/mL.

3.5.6.3.2. Metodología de la Actividad Antifúngica (50)

Se determinó de acuerdo a de Souza *et.al.* modificado. En placas Petri que contiene Agar Papa Dextrosa (PDA) se diseminó uniformemente 100 µL de la suspensión de conidios con asa de Digralski. Se colocaron separadamente las biopelículas de 1 cm de diámetro en las placas de Petri con PDA inoculadas con la suspensión de conidios. Antes de enfrentar con los discos se realizó un tratamiento control con placas que contenían sólo la suspensión de conidios sin el extracto.

Luego las placas fueron incubadas por tres días a 25 ± 2°C. La medición se realiza cuando forman halos de inhibición usando una regla graduada (en milímetros). Para considerar positiva la actividad los límites de los rangos de inhibición es el doble del diámetro del disco de papel impregnado con el extracto.

CAPÍTULO IV.-RESULTADOS

4.1. Resultados de los análisis fisicoquímico y mecánico de la biopelícula

4.1.1. Espesor

Los resultados del grosor de las biopelículas obtenidas después de realizar 10 mediciones en puntos aleatorios de las biopelículas. Se observa que F2, F4 y F6 tienen un mayor espesor. Además, en las películas de ambas concentraciones se observa que, al añadir los aceites esenciales, el espesor disminuyó gradualmente. Se observa en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados del análisis de espesor

ESPESOR (mm)											
F	**E1**	**E2**	**E3**	**E4**	**E5**	**E6**	**E7**	**E8**	**E9**	**E10**	**Promedio**
F1	0.3	0.3	0.2	0.4	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.27± 0.0675
F2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.28± 0.0422
F3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	0.4	0.3	0.2	0.2	0.3	0.30± 0.0667
F4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.34± 0.0516
F5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.4	0.32± 0.0422
F6	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.3	0.3	0.4	0.4	0.35± 0.0707

Fuente propia

4.1.2. Resultados del análisis de opacidad

Se muestran los resultados del análisis de opacidad de las biopelículas obtenidas, en la Tabla 8 donde destaca las películas que presentaron un 0.15 % de aceite esencial, presentaron una mayor opacidad. F3, fórmula que presenta un mayor contenido de goma (10%) presenta una mayor opacidad que F1.

Tabla 8. Resultados del análisis de opacidad

	Opacidad					
F	**Absorbancia**	**Espesor**	**Opacidad promedio**			
F1	0.091	0.270	0.337	0.322	±	0.0257
	0.079	0.270	0.293			
	0.091	0.270	0.337			
F2	0.074	0.280	0.264	0.250	±	0.0129
	0.067	0.280	0.239			
	0.069	0.280	0.246			
F3	0.102	0.300	0.340	0.348	±	0.0084
	0.104	0.300	0.347			

	0.107	0.300	0.357			
	0.072	0.340	0.212			
F4	0.071	0.340	0.209	0.200	±	0.0179
	0.061	0.340	0.179			
	0.086	0.320	0.269			
F5	0.083	0.320	0.259	0.278	±	0.0248
	0.098	0.320	0.306			
	0.089	0.350	0.254			
F6	0.085	0.350	0.243	0.259	±	0.0190
	0.098	0.350	0.280			

Fuente propia

4.1.3. Resultados del análisis de humedad

Se muestran los resultados del análisis de humedad de las biopelículas obtenidas, en la Tabla 9 se pudo observar que las películas F2 y F4, que poseen un 0.2% de aceite, evidencian una humedad menor.

Tabla 9. Resultados del análisis de humedad

	HUMEDAD %						
F	**Peso Vacío**	**Peso Inicio (I)**	**Peso Final (F)**	**Peso I - F**	**Pin - Vacío**	**Humedad %**	**Humedad promedio**
	46.4566	47.4513	47.2899	0.1614	0.9947	16.2260	
F1	41.8063	42.8219	42.6683	0.1536	1.0156	15.1241	17.6845 ± 3.5238
	51.9974	53.094	52.856	0.238	1.0966	21.7034	
	35.5717	36.6189	36.4357	0.1832	1.0472	17.4943	
F2	36.1023	37.117	36.9596	0.1574	1.0147	15.5120	15.6017 ± 1.8494
	51.0432	52.073	51.9309	0.1421	1.0298	13.7988	
	35.6449	36.6624	36.4661	0.1963	1.0175	19.2924	
F3	38.1956	39.2012	39.0227	0.1785	1.0056	17.7506	18.3044 ± 0.8577
	39.5139	40.4764	40.3044	0.172	0.9625	17.8701	
	34.9603	36.0006	35.7961	0.2045	1.0403	19.6578	
F4	34.5621	35.573	35.4156	0.1574	1.0109	15.5703	16.3812 ± 2.9558
	34.2182	35.2559	35.1115	0.1444	1.0377	13.9154	
	38.472	39.4828	39.3468	0.136	1.0108	13.4547	
F5	30.7623	31.7739	31.6002	0.1737	1.0116	17.1708	16.5026 ± 2.7748
	39.3829	40.4082	40.2146	0.1936	1.0253	18.8823	
	33.097	34.1753	33.9936	0.1817	1.0783	16.8506	
F6	34.9018	35.9878	35.8115	0.1763	1.086	16.2339	16.4882 ± 0.3223
	39.6639	40.5186	40.3786	0.14	0.8547	16.3800	

Fuente propia

4.1.4. Resultados del análisis de solubilidad

Se muestran los resultados del análisis de solubilidad de las biopelículas obtenidas, en la Tabla 10 donde se puede observar que todas las películas tuvieron una solubilidad del 100% independientemente de la concentración de goma y aceites esenciales en cada formulación.

Tabla 10. Resultados del análisis de solubilidad

				SOLUBILIDAD		
F	**GOMA**	**GLICEROL**	**ACEITES**	**Peso Inicial**	**Peso final**	**Solubilidad %**
F1	7.50%	5%	0.15%	0.9947	0.0000	Todas las muestras tuvieron una solubilidad al 100%
				1.0156	0.0000	
				1.0966	0.0000	
F2	7.50%	5%	0.20%	1.0472	0.0000	
				1.0147	0.0000	
				1.0298	0.0000	
F3	10%	5%	0.15%	1.0175	0.0000	
				1.0056	0.0000	
				0.9625	0.0000	
F4	10%	5%	0.20%	1.0403	0.0000	
				1.0109	0.0000	
				1.0377	0.0000	
F5	7.50%	5%	-	1.0108	0.0000	
				1.0116	0.0000	
				1.0253	0.0000	
F6	10%	5%	-	1.0783	0.0000	
				1.0860	0.0000	
				0.8547	0.0000	

Fuente propia

4.1.5. Resultados del análisis de tensión (Resistencia a la tracción)

La Tabla 11 muestra los resultados del análisis de tensión de las biopelículas obtenidas, se puede observar que las películas F3, F4 y F6 son las únicas que presentaron un valor mayor a 0 en el análisis de tensión, esto se puede deber a la presencia de mayor concentración de goma (10%). Además, se observó que a medida que la concentración de aceite aumenta, la tensión disminuye, lo cual nos da certeza del impacto inversamente proporcional que tienen ambas variables.

Tabla 11. Resultados del análisis de tensión

F	G	G	ACEITES	VALOR	ÁREA FILM	MPa	TENSIÓN PROMEDIO
F1	7.50%	5%	0.15%	0.0000	1.2×10^{-3} m	-	0%
				0.0000		-	
				0.0000		-	
F2	7.50%	5%	0.20%	0.0000	1.2×10^{-3} m	-	0%
				0.0000		-	
				0.0000		-	
F3	10%	5%	0.15%	21.9000	1.2×10^{-3} m	18.25	17.08 ± 1.0929
				20.3000		16.91	
				19.3000		16.08	
F4	10%	5%	0.20%	16.4000	1.2×10^{-3} m	13.67	14.03 ± 0.3368
				17.2000		14.33	
				16.9000		14.08	
F5	7.50%	5%	-	0.0000	1.2×10^{-3} m	-	0.0000
				0.0000		-	
				0.0000		-	
F6	10%	5%	-	32.5000	1.2×10^{-3} m	27.08	26.25 ± 0.8333
				30.5000		25.42	
				31.5000		26.25	

Fuente propia

4.1.6. Resultados del análisis de permeabilidad de vapor de agua

Se puede observar que las películas F5 y F6 presentan una mayor permeabilidad de vapor de agua, lo cual se muestra en la Tabla 12 debido a que no presenta aceites esenciales en la formulación.

Tabla 12. Resultados del análisis de permeabilidad de vapor de agua

F	Diámetro del tubo (m)	Radio del tubo (m)	Peso Inicial	Peso Final	Diferencia de peso	Área expuesta A (m2)	WVT (g/h.m2)	Permeanza (g/h.m2Pa)	Espesor película (m)	Espesor película (mm)	WVP - Permeanza x grosor(m)	WVP promedio (g/h.m.Pa)		
F1	0.0113	0.0057	10.8304	11.2153	0.3849	0.00003249	63.35	0.0322	0.00027	0.27	0.00000870	0.00000738	±	0.00000031
	0.0112	0.0056	10.5373	10.8460	0.3087	0.00003136	52.64	0.0268	0.00027	0.27	0.00000723			
	0.0112	0.0056	11.7415	12.0719	0.3304	0.00003136	56.34	0.0287	0.00027	0.27	0.00000774			
	0.0112	0.0056	9.9586	10.2646	0.3060	0.00003136	52.18	0.0265	0.00027	0.27	0.00000717			
F2	0.0106	0.0053	12.7779	13.0605	0.2826	0.00002809	53.80	0.0274	0.00028	0.28	0.00000766	0.00000746	±	0.00000020
	0.0106	0.0053	12.5404	12.8079	0.2675	0.00002809	50.92	0.0259	0.00028	0.28	0.00000725			
	0.0106	0.0053	10.5159	10.8131	0.2972	0.00002809	56.58	0.0288	0.00028	0.28	0.00000806			
	0.0108	0.0054	12.7995	13.0857	0.2862	0.00002916	52.49	0.0267	0.00028	0.28	0.00000748			
F3	0.0108	0.0054	13.0665	13.3958	0.3293	0.00002916	60.39	0.0307	0.00030	0.30	0.00000922	0.00000848	±	0.00000030
	0.0108	0.0054	12.5766	12.8673	0.2907	0.00002916	53.31	0.0271	0.00030	0.30	0.00000814			
	0.0108	0.0054	11.4563	11.7659	0.3096	0.00002916	56.78	0.0289	0.00030	0.30	0.00000867			
	0.0111	0.0056	10.9313	11.2571	0.3258	0.00003080	56.56	0.0288	0.00030	0.30	0.00000863			
F4	0.0111	0.0056	14.5452	14.9153	0.3701	0.00003080	64.25	0.0327	0.00034	0.34	0.00001111	0.00001041	±	0.00000087
	0.0111	0.0056	10.8541	11.1686	0.3145	0.00003080	54.60	0.0278	0.00034	0.34	0.00000944			
	0.0111	0.0056	13.4730	13.7679	0.2949	0.00003080	51.20	0.0260	0.00034	0.34	0.00000886			
	0.0111	0.0056	11.9568	12.3123	0.3555	0.00003080	61.72	0.0314	0.00034	0.34	0.00001068			
F5	0.0111	0.0056	12.1311	12.4844	0.3533	0.00003080	61.34	0.0312	0.00032	0.32	0.00000999	0.00001045	±	0.00000047
	0.0109	0.0055	13.9929	14.3484	0.3555	0.00002970	64.00	0.0326	0.00032	0.32	0.00001042			
	0.0109	0.0055	11.9970	12.3699	0.3729	0.00002970	67.14	0.0342	0.00032	0.32	0.00001093			
	0.0109	0.0055	13.5962	13.9362	0.3400	0.00002970	61.21	0.0311	0.00032	0.32	0.00000997			
F6	0.0108	0.0054	11.2069	11.5129	0.3060	0.00002916	56.12	0.0285	0.00035	0.35	0.00000999	0.00001215	±	0.00000065
	0.0104	0.0052	13.2397	13.5669	0.3272	0.00002704	64.71	0.0329	0.00035	0.35	0.00001152			
	0.0109	0.0055	11.4086	11.8084	0.3998	0.00002970	71.98	0.0366	0.00035	0.35	0.00001282			
	0.0110	0.0055	12.3934	12.7777	0.3843	0.00003025	67.94	0.0346	0.00035	0.35	0.00001210			

Fuente propia

4.2. Resultados de la Actividad antibacteriana

Se observa que hay mayor actividad antibacteriana de las biopelículas frente a *S. aureus,* y que hasta la concentración 10^{-1} hubo crecimiento bacteriano.

Tabla 13. Actividad antibacteriana de la biopelícula frente a *E. coli* y *S. aureus*

RESUMEN	*E. coli* 10^{-1}	Reducción (%)	*S. aureus* 10^{-1}	Reducción (%)
F1	3.69	89.61	0.00	-
F2	3.20	96.63	0.00	-
F3	3.77	87.40	3.84	58.00
F4	3.59	91.70	0.00	-
F5	4.67	-	4.11	-
F6	4.67	-	4.22	-

Fuente propia

4.3. Resultados de la Actividad antifúngica

Los resultados en las siguientes concentraciones de los aceites esenciales F1, F2, F3 y F4, no mostraron actividad antifúngica.

4.4. Resultados de la Actividad Antioxidante por el Método DPPH

Se observa un ligero incremento en el %CRL de las muestras F2 y F4 que son las que poseen una cantidad un poco mayor del aceite esencial. Además, se observa que los blancos también presentaban actividad biológica, lo cual se justifica por las propiedades de la propia goma brea en mezcla con el glicerol. Cabe precisar que la mayoría de las muestras procesadas presentan capacidad captora de radicales libres DPPH cercanas o mayores al 60 %.

Tabla 14. Actividad antioxidante de la biopelícula

MUESTRAS	REP1	REP2	REP3	PROM	DES VEST	BLANCO	DIF	%CRL
F1	0.213	0.208	0.213	0.211	0.003	0.099	0.112	65.93
F2	0.255	0.252	0.26	0.256	0.004	0.152	0.104	68.55
F3	0.268	0.274	0.268	0.270	0.003	0.128	0.142	56.93
F4	0.238	0.238	0.245	0.240	0.004	0.131	0.109	66.84
F5	0.227	0.228	0.227	0.227	0.001	0.103	0.124	62.29
F6	0.236	0.238	0.237	0.237	0.001	0.122	0.115	65.12
DPPH	0.355	0.314	0.32	0.3297	0.022			

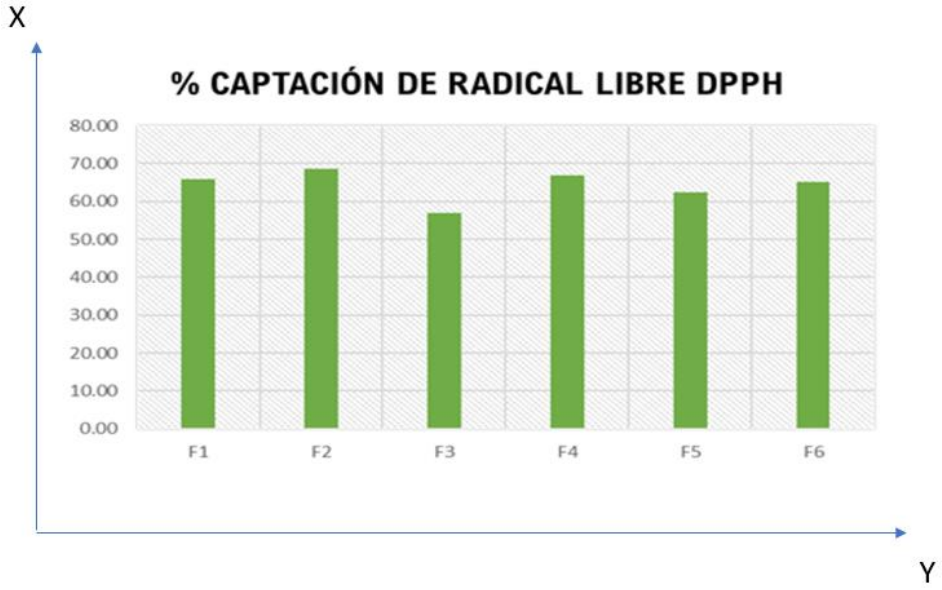


Figura 9. Porcentaje de actividad antioxidante de las biopelículas (F1, F2, F3, F4, F5 y F6).

X: % de Captación de radical libre DPPH

Y: Composición de las biopelículas en las diferentes formulaciones

CAPÍTULO V.-DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como objetivos caracterizar las propiedades fisicoquímicas, mecánicas y la evaluación de las propiedades biológicas de la biopelícula obtenida de *P. praecox* con aceites esenciales de *M. mollis,* "muña" y *P. carpunya* "pinku", donde las diferencias organolépticas se deben a la presencia de compuestos terpénicos y fenólicos en el siguiente orden.

Respecto a *P. praecox* conocida como palo brea en países vecinos como Bolivia, Paraguay, Argentina, Venezuela y países de América del Norte, la extracción y el aprovechamiento de la goma han sido usadas tradicionalmente en comunidades campesinas, realizando incisiones o cortes en forma de "V", las aplicaciones más comunes para las afecciones bronquiales (remedio para la tos) y como pegamento casero(36). Similar es la extracción y usos de la goma brea en nuestro país.

Se obtuvieron biopelículas de goma brea translúcida y de color ámbar, lo cual es compatible con los resultados obtenidos por Spotti ML *et. al*. 2016(11).

Según los resultados, el espesor de la biopelícula disminuyó levemente al añadir los aceites esenciales de "muña" y "pinku", lo cual se contradice con el estudio realizado por Ghasemlou M.,*et. al.,*2013 en el que al añadir los aceites esenciales de *Zataria multiflora* Boiss (ZEO) y *Mentha pulegium* (MEO) en las biopelículas de almidón de maíz, aumentó ligeramente el espesor, pero esto no fue significativo(53).

Todas las películas obtenidas tuvieron buena flexibilidad debido a la incorporación de glicerol al 5% como un agente plastificante, esta cantidad fue adecuada, ya que en otros estudios en los que emplearon goma brea y glicerol al 20 g/100g y 40g/100g se obtuvieron películas pegajosas(35). La acción plastificante del glicerol se sustenta en el estudio de Arham R *et. al*., 2016 en el que afirma que, al incorporar glicerol, sus moléculas ocupan espacios en la matriz polimérica generando distancias entre los polímeros y mejorando su flexibilidad(4).

En el estudio se observó que las películas que presentaron un 0.15% de aceite esencial presentaron una mayor opacidad. Sin embargo, se observó un aumento de

la opacidad al incorporar los aceites esenciales, lo cual corresponde al estudio que realizó Spotti ML *et. al*. 2016(11).

La solubilidad es una propiedad física relacionada con la capacidad de las películas comestibles para disolverse en agua. Ghasemlou M.,*et. al.,*2013, evidenció que al incorporar los aceites hubo una disminución de la solubilidad de las biopelículas. Sin embargo, en nuestro estudio se observó que la incorporación de aceites esenciales no afectó en la solubilidad de las biopelículas ya que se evidenció una solubilidad del 100% en todas las formulaciones. Con esto podemos inferir que nuestras formulaciones pueden ser aplicadas en alimentos que no tengan alta humedad, ya que una alta solubilidad como nuestro caso es desventajosa cuando se requiere resistencia al agua e integridad para envasar alimentos con altos contenidos de humedad(51).

En este estudio, a las biopelículas se les incorporó aceites esenciales extraídos de *M. mollis y P. carpunya*, especies nativas empleadas en la medicina tradicional(6)(7), debido a sus compuestos biológicamente activos según Gonzales D. K,2022 (16). En esta investigación se incorporaron los aceites en cantidades pequeñas en las biopelículas, con la finalidad de obtener una liberación gradual de los aceites.

Si bien al incorporar compuestos hidrófobos como los aceites esenciales, debería haber una disminución de la humedad, en nuestro estudio no se observa una variación significativa entre las formulaciones al incorporar los aceites esenciales, lo cual puede estar relacionado a las bajas concentraciones de aceites esenciales empleadas.

Las películas comestibles requieren una alta resistencia a la tracción para que puedan cumplir su función como empaque de alimentos y así protegerlos en el proceso de manipulación, el transporte y la comercialización. En el estudio que se realizó se observó que a medida que la concentración de aceite aumenta, la tensión disminuye, lo cual nos da certeza del impacto inversamente proporcional que tienen ambas variables de la misma manera lo explica Pérez-Gago y Krochta, 2021 (52), ya que al aumentar el nivel de lípidos se reduce la fuerza y flexibilidad de la fase proteica.

Asimismo, al realizar el análisis se observó que al emplear una concentración de 7.5% de goma brea como base del biofilm no se registraron valores en las mediciones, con lo cual se concluye que estas concentraciones de goma no serían idóneas para desarrollar biopelículas de goma brea, ya que, si bien se pueden despegar del molde, lamentablemente no pueden resistir condiciones de estiramiento.

Con concentraciones de goma al 10 % si se obtuvieron formulaciones con buena fuerza de tracción, coincidiendo con el estudio realizado por Spotti ML *et. al*. 2016 (11), quién empleó goma brea al 10% y cera de abeja al 20% y 40 %. Si bien se emplearon agentes lipídicos diferentes, se puede apreciar que emplear altos niveles de lípidos puede afectar negativamente a la fuerza de tracción de las biopelículas.

En el estudio realizado se observa que hay una reducción notable en la permeabilidad al vapor de agua cuando se incorporan los aceites esenciales coincidiendo con el estudio de Spotti ML *et. al*. 2016(11). Esta es una de las propiedades que más se estudia ya que ejerce un papel importante en el deterioro de las reacciones de los alimentos. Resultados similares obtuvieron con películas de almidón y metilcelulosa, con la adición del aceite de soya y glicerol. La incorporación de los aceites esenciales limita la disponibilidad de los grupos hidrógeno presentes en la matriz, por lo cual se reduce la formación de enlaces hidrofílicos con el agua presente en el ambiente(52).

En la actividad antibacteriana de las biopelículas con las bacterias seleccionadas se evaluaron utilizando el procedimiento del Método de prueba estándar ASTM E2180-18 (50),donde se muestra que *S. aureus* a diferencia de *E. coli* fue más sensibles y hubo crecimiento bacteriano hasta la concentración 10^{-1}. Sin embargo nuestros resultados fueron comparativos según el estudio realizado por Gonzales D. K,2022(16), donde mostró que los aceites esenciales de *M. mollis* y *P.carpunya* mostraron un efecto inhibitorio con *S. aureus* y *E. coli* ,compuestos terpénicos y fenólicos le atribuyen la actividad antibacteriana.

En este estudio se realizó la actividad antioxidante mediante el Método DPPH, se observa que la formulación F2, con un contenido de 7,50% de goma y 0,20% de aceites, exhibe la mejor actividad antioxidante (68.55 %CRL), demostrando

claramente el impacto positivo de los aceites esenciales en dicha formulación. Esta diferencia es estadísticamente significativa en comparación con la formulación F1, que contiene 7.5% de goma y 0,15% de aceites.

Además, al comparar F2 con F5, donde solo se utiliza un 7.5% de goma, se evidencia que la actividad antioxidante de F5 es inferior y también presenta una diferencia estadísticamente significativa en relación con F2. Esto confirma una vez más que la presencia de aceites esenciales desempeña un papel crucial en la capacidad antioxidante de las biopelículas formuladas. Es importante destacar que la goma sola, también muestra una actividad antioxidante del 62.29 %CRL, lo que indica que el soporte polimérico posee esta propiedad biológica.

Por otro lado, la formulación F4, con un contenido de 10% de goma y 0,20% de aceites, también muestra una actividad antioxidante atractiva, alcanzando un 66.84 % CRL. Aunque no existe una diferencia estadística significativa en comparación con F2, ambas formulaciones se consideran equivalentes y potenciales para su aplicación futura. Donde las biopelículas de este estudio con mayor cantidad de aceites esenciales hubo un ligero incremento en el porcentaje de radical libre captado %CRL, donde la concentración de los aceites esenciales sobre la actividad antioxidante de las películas tiene un efecto esperado según Shojaee-Aliabadi S,2013(55) donde informó que el grado de capacidad antioxidante de la biopelícula es proporcional a la cantidad añadida de antioxidantes aditivos. Se obtuvieron resultados similares con la película de gelatina con los extractos de orégano y romero y la película de quitosano que incorporó aceite esencial de *Zataria multiflora*. Además, según el estudio de Dimitrios B,2006 la capacidad antioxidante se atribuye a los monoterpenos fenólicos de los aceites esenciales de las especies vegetales (54).

CAPITULO VI. -CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron biopelículas de goma brea funcionalizadas con aceites esenciales de *M. mollis* (muña) y *P. carpunya*, (pinku) las cuales mostraron aspecto translúcido, de color ámbar, así como una notable flexibilidad y resistencia a la tracción de hasta 17,8 N.

2. Las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las biopelículas fueron evaluadas, destacando su promisoria capacidad de permeabilidad al vapor de agua, atribuida a la presencia de los aceites esenciales. Sin embargo, su naturaleza hidrofílica sugiere un potencial uso preferencial en alimentos con baja humedad, dado que una alta solubilidad, como en nuestro caso, resulta desventajosa.

3. La formulación F2 (7,50% de goma brea y 0,15% de aceites de "muña" y "pinku") mediante la prueba de DPPH presentó la mejor actividad antioxidante, aunque su resistencia mecánica fue limitada. Por otro lado, la formulación F4 (10% de goma brea y 0,20% de aceites de "muña" y "pinku") exhibió una actividad antioxidante comparable a la de F2 y propiedades mecánicas mejoradas. Esto la convierte en la opción más completa para un posible uso como embalaje de alimentos, reafirmando así la idoneidad de la goma brea como polisacárido para la elaboración de películas comestibles, particularmente en combinación con los aceites esenciales utilizados en este estudio, lo cual podría aplicarse en alimentos con bajo contenido de humedad, como frutas y verduras de cáscara gruesa.

4. La formulación F4 (10% de goma brea y 0,20% de aceites de "muña" y "pinku") demostró actividad antimicrobiana efectiva contra *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923, evaluada mediante el Método estandarizado ASTM E2180-18.

5. Se observó que las formulaciones de goma brea y aceites esenciales no presentaron actividad antifúngica frente a *Aspergillus fumigatus*, esto sugiere que las concentraciones de aceites esenciales utilizadas podrían no ser suficientes para proporcionar una protección efectiva contra este tipo de hongos.

CAPÍTULO VII.-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Otoni CG, Avena-Bustillos RJ, Azeredo HMC, Lorevice M V, Moura MR, Mattoso LHC, et al. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables—A Review. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2017;16(5):1151–69.

2. Fernández Valdés D, Bautista Baños S, Fernández Valdés D, Ocampo Ramírez A, Falcón Rodríguez A. Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas Eatable films and coverings: a favorable alternative in the postharvesIng. conservation of fruits and vegetables. Rev Ciencias Técnicas Agropecuarias [Internet]. 2015;24(3):52–7. Available from: ISSN -1010-2760

3. Bautista-Baños S, Hernández-Lauzardo AN, Velázquez-Del Valle MG, Hernández-López M, Ait Barka E, Bosquez-Molina E, et al. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Prot. 2006;25(2):108–18.

4. Arham R, Mulyati MT, Metusalach M, Salengke S. Physical and mechanical properties of agar based edible film with glycerol plasticizer. Int Food Res J [Internet]. 2016;23(4):1669–75. Available from: http://www.ifrj.upm.edu.my

5. Yuan G, Lv H, Yang B, Chen X, Sun H. Physical Properties, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Chitosan Films Containing Carvacrol and Pomegranate Peel Extract. J Mol. 2015;20(6):11034–45.

6. Carhuapoma M, López S, Roque M, Velapatiño B, Bell C, Whu D. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb "Ruyaq muña." Cienc Invest [Internet]. 2009 [cited 2021 Sep 2];12(2):83–9. Available from: https://doi.org/10.15381/ci.v12i2.3404

7. Ballesteros JL, Tacchini M, Spagnoletti A, Grandini A, Paganetto G, Neri LM, et al. Rediscovering Medicinal Amazonian Aromatic Plants: *Piper carpunya* (Piperaceae) Essential Oil as Paradigmatic Study. Evidence-based Complement Altern Med [Internet]. 2019;1–11. Available from: https://doi.org/10.1155/2019/6194640

8. Rajendran MP, Pallaiyan BB, Nija S. Chemical composition, antibacterial and antioxidant profile of essential oil from *Murraya koenigii* (L.) leaves. Avicenna J Phytomed. 2014;4(3):200–14.

9. Suput D, Lazic V, Popovic S, Hromis N. Edible films and coatings: Sources, properties and application. Food Feed Res. 2015;42(1):11–22.

10. Alarcón-Cavero HA&, Arroyo-Benites E. Evaluación de las Propiedades Químicas y Mécanicas de Biopolímeros a partir del almidón modificado de la papa. Rev Soc Quím. 2016;82(3):315–23.

11. Spotti ML, Cecchini JP, Spotti MJ, Carrara CR. Brea Gum (from *Cercidium praecox*) as a structural support for emulsion-based edible films. Food Sci Technol. 2016 May 1;68:127–34.

12. Fuertes-Ruitón C, Munguía- Chipana Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "Muña" de tres Regiones peruanas por Cromatografía de gases y Espectrometría de masas. Cienc Invest. 2001;4(1):23–

38.

13. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña). Revista Perú Med Exp Salud Pública [Internet]. 2008;25(3):298–301. Available from: https://doi.org/10.17843/rpmesp.2008.253.1281

14. Ruíz-Quiroz JR. Actividad Antifungica In Vitro y Concentración Mínima Inhibitoria mediante Microdilución de ocho plantas medicinales. Tesis para optar el Grado Académico de Magíster en Microbiología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.

15. Torrenegra-Alarcón M, Granados-Conde C, Durán-Lengua M, León-Méndez G, Yáñez-Rueda X, Martínez C, et al. The chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Minthostachys mollis*. Orinoquia [Internet]. 2016;20(1):69–74. Available from: https://doi.org/10.22579/20112629.329

16. Gonzales D. K, Salazar S. ME, Fuertes R. CM. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Minthostachys molli*s Griseb. "Muña" y *Piper carpunya* Ruíz & Pav. "Pinku." Cienc Invest. 2022 Mar 29;24(2):21–6.

17. Peng Y, Yin L, Li Y. Combined effects of lemon essential oil and surfactants on physical and structural properties of chitosan films. Int J Food Sci Technol. 2013 Jan;48(1):44–50.

18. Wihodo M, Moraru CI. Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. J Food Eng. 2013;114(3):292–302.

19. García MA, Pinotti A, Martino MN, Zaritzky NE. Characterization of Starch and Composite Edible Films and Coatings. In: Edible Films and Coatings for Food Applications. Springer New York; 2009. p. 169–209.

20. Zaritzky N. Edible Coatings to Improve Food Quality and Safety. In: Food Engineering Series. Springer; 2011. p. 631–59.

21. Donhowe G, Fennema O. Edible films and coatings: characteristics, formation, definitions, and testing methods. In: Edible coatings and films to improve food quality [Internet]. Technomic Publishing Co.; 1994 [cited 2024 Jan 12]. p. 1–24. Available from: https://cir.nii.ac.jp/crid/1573950398974157184.bib?lang=en

22. Cerqueira MA, Lima ÁM, Teixeira JA, Moreira RA, Vicente AA. Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. J Food Eng. 2009 Oct;94(3–4):372–8.

23. Mchugh TH, Avena-Bustillos FL, Krochta JM. Hydrophilic Edible Films: Modified Procedure for Water Vapor Permeability and Explanation of Thickness Effects. J Food Sci Technol. 1993;58(4):899–903.

24. Carballo EA, Martínez ES. Determinación de la Permeabilidad al Vapor de Agua por el Método ASTM E96/E 96M-05 en películas de quitosano. 2010.

25. Han JH. Edible Films and Coatings: A Review. In: Innovations in Food Packaging: Second Edition. Texas,USA: Elsevier Ltd.; 2014. p. 213–55.

26. Yuqiu Y, Jingjing W, Chunxia L, Houwei W, Derong,LiN. Research on

Biodegradable Films and Their Comparison with Ordinary Films. In: 3rd Internacional Conference on Automation, Macanical Control and Computational Engineering (AMCCE 2018). 2018.

27. Shahidi F, Ho CT. Antioxidant measurement and applications: An overview. In: ACS Symposium Series [Internet]. 2007. p. 2–7. Available from: https://pubs.acs.org/sharingguidelines

28. Wu J, Chen S, Ge S, Miao J, Li J, Zhang Q. Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. Food Hydrocoll [Internet]. 2013;32(1):42–51. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.029

29. Campos CA, Gerschenson LN, Flores SK. Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. Vol. 4, Food and Bioprocess Technology. 2011. p. 849–75.

30. Lacroix M, Vu KD. Edible Coating and Film Materials: Proteins. In: Innovations in Food Packaging: Second Edition. Elsevier Ltd.; 2013. p. 277–304.

31. Burkart A. Fabaceae Lindley. In: Flora Fanerogámica Argentina. 1976. p. 309.

32. Bertuzzi MA, Slavutsky AM. Formulation and Characterization of Film Based on Gum Exudates from Brea Tree (*Cercidium praecox*). J Food Sci Eng. 2013;3:113–22.

33. De Pinto G, Rodriguez O, Martinez M, Rivas C. Composition of *Cercidium praecox* Gum Exudates. Biochem Syst Ecol. 1993;21(2):297–300.

34. Majewska-Sawka A, Nothnagel EA. Update on Extracellular Matrix The Multiple Roles of Arabinogalactan Proteins in Plant Development. Am Soc Plant Physiol [Internet]. 2000;122:3–9. Available from: https://academic.oup.com/plphys/article/122/1/3/6091929

35. Coirini R, Zapata R,Contreras A, Karlin M, Llaya M. Goma de Brea (Cercidium praecox) como alternativa productiva en zonas áridas de Latinoamérica. XIV Congreso Forestal Mundial. Durbán, Sudáfrica.2025

36. Alesso S, Araujo P, Tapias R. Aprovechamiento de la goma de brea (*Cercidium praecox*) en bosques secundario del Parque Chaquero Seco. Influencia del tamaño de las heridas sobre la producción. Red Rev Científicas Am Lat , el Caribe,España y Port [Internet]. 2003;10:60–70. Available from: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48101007

37. Alexander N. Schmidt-Lebuhn. A Revision of the Genus Minthostachys (Labiatae). In: Botanical Garden. New York; 2011. p. 74.

38. Mora F, Araque M, Rojas L, Ramírez R, Silva B, Usubillaga A. Chemical Composition and in vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb Vaught from the Venezuelan Andes. 2009;1(4):9–12. Available from: https://doi.org/10.1177/1934578x1501000743

39. Mora FD, Araque M, Rojas LB, Ramírez R, Silva B, Usubillaga A. Chemical Composition and in vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb Vaught from the Venezuelan Andes.

40. Blackmore S, Harrington AJ, West MJ, Road C, Lawson GW, Simons RH. Revision of Piper (Piperaceae) in the New World .The taxonomy of Piper section Churumayu. In: British Museum Natural History [Internet]. 1990 [cited 2024 Jan 30]. p. 53–237. Available from: https://www.biodiversitylibrary.org/item/19389#page/1/mode/1up

41. Chávez N. La Materia Médica del Incanato. 1ra ed. Mejía Baca, editor. USAAC-Perú; 1977. 426 p.

42. Maquera D, Tello M, Romero S, Cotacallapa D. Chemical Components of Essencial oils of Muña *Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb.in Huánuco. Investig Vald. 2009;3(2):1–13.

43. Flores-Encarnación M, Nava-Nolazco R, Carreño-López R, Aguilar-Gutiérrez G, García-García S, Cabrera-Maldonado C. The Antibacterial Effect of Plant-Based Essential Oils. Int J Res Stud Biosci [Internet]. 2016;4(12):1–6. Available from: https://doi.org/10.20431/2349-0365.0412001

44. Kuorwel KK, Cran MJ, Sonneveld K, Miltz J, Bigger SW. Antimicrobial Activity of Natural Agents Coated on Starch-Based Films against *Staphylococcus aureus*. J Food Sci. 2011;76(8):1–28.

45. Rouf A, Kanojia V, Naik H, Naseer B, Qadri T. An overview of microbial cell culture. J Pharmacogn Phytochem. 2017;6(6):1923–8.

46. González-Jiménez FE, Velazquez-Parra A, Perea-Flores J, Vivar -Vera G, Jiménez-Guzmán J. Caracterización fisicoquímica y microestructural de biopelículas a base de almidón nativo de *Oxalis tuberosa*. Coloq Investig Multidiscip 2019 J CIM. 2019;7(1).

47. Sganzerla WG, Nochi L, Gonçalves da Rosa C, Aline da Rosa A, Maciel-Silva FW, Gelinski Kempe PR, et al. Production of nanocomposite films functionalized with silver nanoparticles bioreduced with rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil. J Agric Food Res. 2023 Mar 1;11(1):10.

48. ASTM E2180-18. Standard Test Method for Determining the Activity of Incorporated Antimicrobial Agentes In Polymeric or Hydrophobic Materials. Vol. 11, Assessment. 2021. p. 7–9.

49. Ruíz-Quiroz JR. Actividad Antifungica In Vitro y Concentración Mínima Inhibitoria mediante Microdilución de ocho plantas medicinales. TESIS Para optar el Grado Académico de Magíster en Microbiología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.

50. Centeno-Briceño S y Carrera-Jaspe Y.Actividad antifúngica y antiaflatoxigénica de extractos de *Melissa officinalis* (Lamiaceae) sobre *Aspergillus flavus*.Saber.Universidad de Oriente,Venezuela.2013;25(2):185-191.

51. Ghasemlou M, Aliheidari N, Fahmi R, Shojaee-Aliabadi S, Keshavarz B, Cran MJ, et al. Physical, mechanical and barrier properties of corn starch films incorporated with plant essential oils. Dep Nutr Food Exerc Sci. 2013;98(1):1–27.

52. Pérez-Gago MB, Nadaud P, Krochta JM. Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films. J Food Sci. 1999;64(6):1034–7.

53. Shojaee-Aliabadi S, Hosseini H, Mohammadifar MA, Mohammadi A, Ghasemlou M, Ojagh SM, et al. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. Int J Biol Macromol [Internet]. 2013;52(1):116–24. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.08.026

54. Dimitrios B. Sources of natural phenolic antioxidants. Trends Food Sci Technol. 2006;17(9):505–12.

CAPÍTULO VIII.-ANEXOS

Anexo 1: Constancia **N° 297-USM-2018**de Ficha Taxonómica de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb

Anexo 2: Constancia **N°298-USM-2018** de Ficha Taxonómica de *Piper carpunya*, (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins

Anexo 3: Constancia **N°299-USM-2018** de Ficha Taxonómica de *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pav.ex Hook) Hawkins

Anexo 4: Informe de resultados de la composición química de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "muña" y *Piper carpunya*, (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins"pinku".

Anexo 5. Análisis Estadístico de la Actividad Antioxidante por el Método DPPH

Anexo 6. Fotos del proceso de preparación de las biopelículas a base de goma brea

Anexo 1: Constancia **N° 297-USM-2018.** Determinación Taxonómica de muña

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA Nº297-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida de ***César Máximo FUERTES RUITON,*** *de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como:* ***Minthostachys mollis,*** *(Kunth) Griseb. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).*

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GENERO: Minthostachys

ESPECIE*: *Minthostachys mollis *(Kunth) Griseb.*

Nombre vulgar : "muña"
Determinado por: Mg. Asunción Cano Echevarría y Biólogo José Campos

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 23 de agosto de 2018

MUSEO DE HISTORIA NATURAL — JEFE — Herbario San Marcos - USM

Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Anexo 2: Constancia **N°298-USM-2018.** Determinación Taxonómica de pinku

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA Nº 298-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril), recibida de **César Máximo FUERTES RUITON**; de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha; ha sido estudiada y clasificada como: ***Piper carpunya*** *Ruiz & Pavon*, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: MAGNOLLIDAE

ORDEN: PIPERALES

FAMILIA: PIPERACEAE

GENERO: *Piper*

ESPECIE: *Piper carpunya* *Ruiz & Pavon*

Nombre vulgar: "matico".
Determinado por: Blgo. José Campos De La Cruz

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere pertinente.

Lima, 23 de octubre de 2018

MUSEO DE HISTORIA NATURAL — Herbario San Marcos - USM — JEFE

Blga. Jasmin Opisso Mejía
JEFA (E) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ddb

Anexo 3: Constancia **N° 299-USM-2018.** Determinación Taxonómica de goma brea

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA Nº299-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida de ***César Máximo FUERTES RUITON,*** *de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como:* ***Parkinsonia praecox*** **(Ruiz & Pav. ex Hook.) Hawkins,** **Sinónimo:*Cercidium praecox*** **(Ruiz & Pav. ex Hook.)** *y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).*

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: FABALES

FAMILIA: FABACEAE

GENERO: Parkinsonia

ESPECIE*: *Parkinsonia praecox **(Ruiz & Pav. ex Hook.) Hawkins**

Sinónimo:***Cercidium praecox*** **(Ruiz & Pav. ex Hook.) Harms**

Nombre vulgar : "palo verde, canaquil"
Determinado por: Mg. Asunción Cano Echevarría y Biólogo José Campos

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 23 de agosto de 2018

MUSEO DE HISTORIA NATURAL – HERBARIO SAN MARCOS – JEFE

Mag. ASUNCION A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Anexo 4: Informe de resultados de la composición química de los AE de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "muña" y *Piper carpunya*, "pinku" (Ruiz & Pav. ex Hook) Hawkins

UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

Informe de resultados

Solicitante:	Sr. Heden Vega, UNMSM
Muestra:	1 Aceite esencial de muña y 1 aceite esencial de Corpunya.
Análisis:	Composición química de 2 aceites esenciales por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
Fecha de entrega de Resultados:	27 agosto 2018

RESULTADOS

En las páginas 2 a 6 del presente informe.

Atentamente,



Dra. Rosario Rojas Durán

Unidad de Investigación en Productos Naturales
LID-Laboratorio 209
e-mail: rosario.rojas@upch.pe
página web: www.uipn-upch.pe
Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 233227

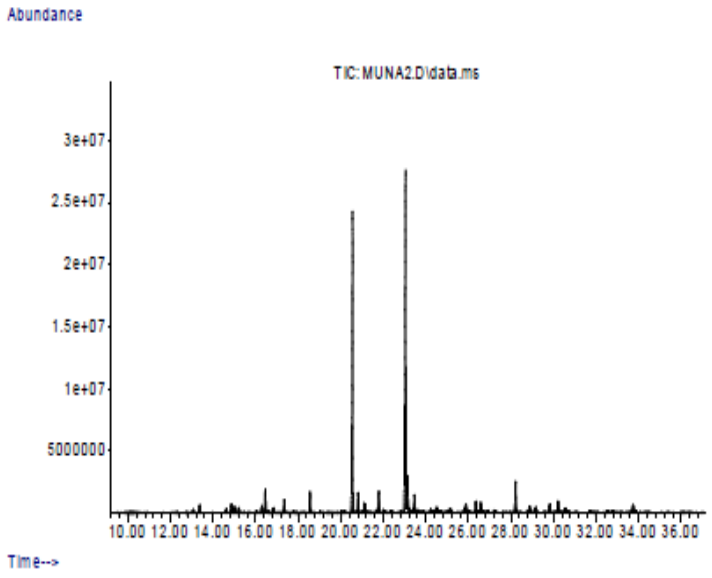
ACEITE ESENCIAL DE MUÑA

Se identificaron 22 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial.

Número	Nombre del compuesto (NIST08.L)	t_R (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	α-Pineno	13.38	0.56
2	Sabineno	14.63	0.25
3	β-Pineno	14.87	0.73
4	β-Mirceno	15.01	0.42
5	3-Octanol	15.22	0.35
6	*p*-Cimeno	16.30	0.54
7	D-Limoneno	16.46	1.92
8	*cis*-Ocimeno	16.85	0.33
9	γ-Terpineno	17.36	1.04
10	β-Linalool	18.55	1.66
11	Mentona	20.56	32.72
12	Isopulegona	21.11	1.09
13	*trans*-Dihidrocarvona	21.79	1.85
14	Pulegona	23.05	40.94
15	D-Carvona	23.15	3.67
16	Piperitona	23.47	1.42
17	Isotimol	24.51	0.53
18	Metileugenol	25.14	0.39
19	Acetato de Timol	25.81	0.32

20	Eucarvona	25.88	0.74
21	Carvacrol	26.35	0.99
22	Acetato de Geraniol	26.58	0.97
23	β-Cariofileno	28.22	2.77
24	Metilisoeugenol	28.87	0.55
25	α-Cariofileno	29.17	0.40
26	Germacreno D	29.82	0.71
27	Biciclogermacreno	30.22	1.07
28	Elemicino	30.57	0.34
29	Isoelemicino	33.74	0.73

Cromatograma GC-MS del aceite esencial de Muña



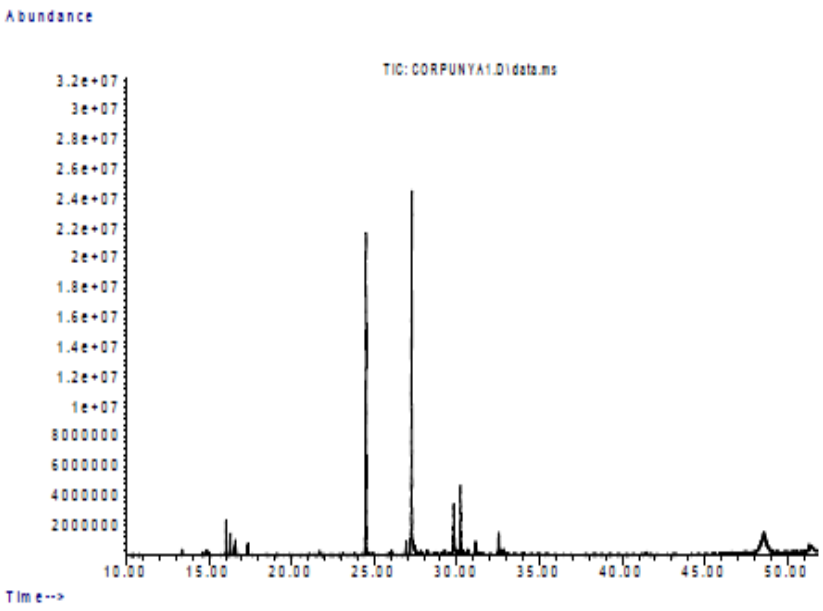
ACEITE ESENCIAL DE CORPUNYA

Se identificaron 24 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial.

Número	Nombre del compuesto (NIST08.L)	t_R (min)	% en la muestra (áreas relativas)
1	α-Pineno	13.38	0.34
2	Sabineno	14.63	0.18
3	β-Pineno	14.87	0.31
4	β-Mirceno	15.00	0.17
5	4-Careno	16.05	2.47
6	o-Cimeno	16.30	1.54
7	β-Felandreno	16.55	0.60
8	Eucaliptol	16.61	1.11
9	γ-Terpineno	17.35	0.79
10	Terpineol	21.68	0.29
11	Safrol	24.51	31.24
12	α-Cubebeno	26.06	0.28
13	Copaeno	26.94	0.96
14	Metileugenol	27.28	40.49
15	β-Cariofileno	28.21	0.23
16	L-alloaromadendreno	29.30	0.22
17	Isohomogenol	29.81	7.50
18	Germacreno B	30.22	6.23

19	δ-Cadineno	30.68	0.50
20	Elemicino	31.13	1.60
21	Spathulenol	32.54	2.35
22	Globulol	32.83	0.60

Cromatograma GC-MS del aceite esencial de Corpunya



Condiciones cromatográficas para los 2 aceites esenciales:

Equipo: Cromátografo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.

Columna: J&W 122-1545.67659 DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm

Rampa de temperatura: Empieza en 40 °C y sube a 5 °C/min hasta 180 °C; 2.5 °C/min hasta 200 °C por 5 min y finalmente 10 °C/min hasta 300 °C manteniéndose por 3 minutos.

Tiempo de corrida: 54 min

Volumen de Inyección: 1 µL

Split: 100:1

Gas portador: He, 1 mL/min

Muestra: Se diluyó 20 µL de muestra en 1 mL de diclorometano

Anexo 5. Análisis Estadístico de la Actividad Antioxidante por el Método DPPH

Tabla 15. Análisis Estadístico de la Actividad Antioxidante por el Método DPPH

Unidad		
Normalidad Kolmogorov Smirnov	**0.090**	
Homogeneidad de varianza (basada en la media recortada)	**0.056**	
Significancia ANOVA	**< 0.01**	
Tratamiento	**Tratamientos**	
F1	**F2**	0.035
	F3	0.001
	F4	0.827
	F5	0.004
	F6	0.884
F2	**F1**	0.035
	F3	0.001
	F4	0.242
	F5	0.001
	F6	0.006
F3	**F1**	0.001
	F2	0.001
	F4	0.001
	F5	0.001
	F6	0.001
F4	**F1**	0.827
	F2	0.242
	F3	0.001
	F5	0.001
	F6	0.275
F5	**F1**	0.004
	F2	0.001
	F3	0.001
	F4	0.001
	F6	0.026
F6	**F1**	0.884
	F2	0.006
	F3	0.001
	F4	0.275
	F5	0.026

Fuente propia

Anexo 6. Fotos del proceso de preparación de las biopelículas a base de goma brea.

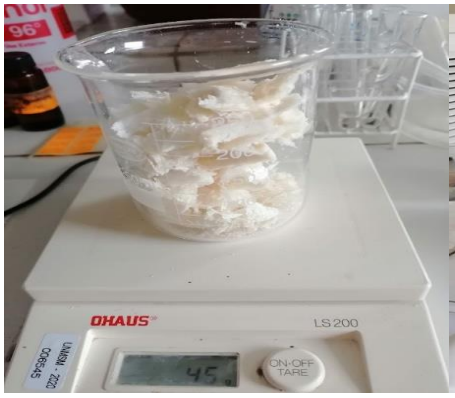


Fig. 12 Liofilizado de goma brea en un beaker



Fig.13 Homogenización en el agitador magnético



Fig. 14 Incorporación del propilenglicol a los aceites



Fig.15 Aceites esenciales de muña y pinku



Fig.16 Los aceites preparados para su incorporación

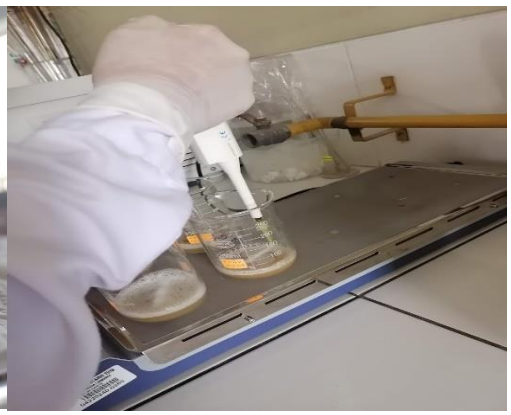


Fig.17 Se añadió glicerol al 5%al beaker en agitación

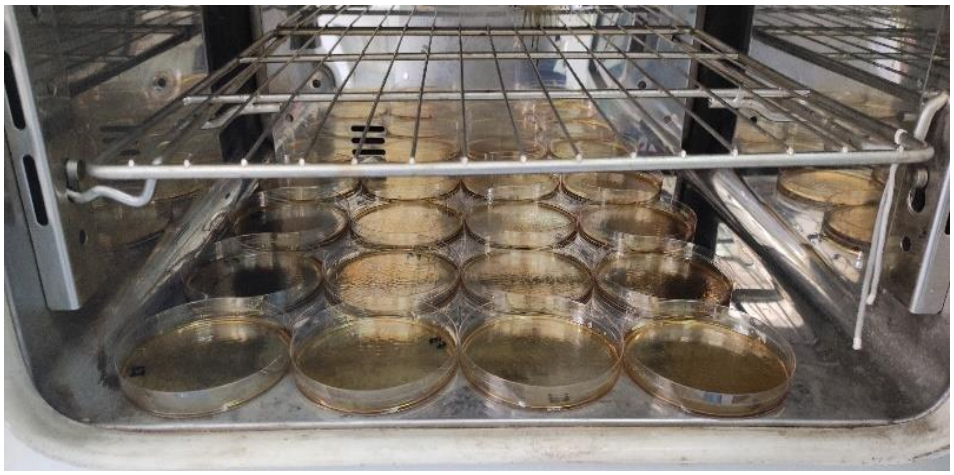


Fig. 18 Para el secado de las biopelículas se depositó en una estufa a 32°C por 24 horas.