

**Caracterización de un bioplástico de
almidones de maíz y yuca con antocianinas de
repollo morado (*Brassica oleracea*) como
potencial indicador de pH**

Adela Estefanía Paspuel Herrera

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2016

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Caracterización de un bioplástico de almidones de maíz y yuca con antocianinas de repollo morado (*Brassica oleracea*) como potencial indicador de pH

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Adela Estefanía Paspuel Herrera

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2016

Caracterización de un bioplástico de almidones de maíz y yuca con antocianinas de repollo morado (*Brassica oleracea*) como potencial indicador de pH

Adela Estefanía Paspuel Herrera

Resumen: El interés por garantizar la frescura del alimento crece cada día entre los consumidores. En este estudio se elaboró un bioplástico de glicerol y almidones de maíz y yuca con extracto de antocianina de repollo morado. La primera etapa consistió en desarrollar tres bioplásticos de almidón de maíz y yuca en relación 1:10, sólidos: solución, se añadieron tres concentraciones de extracto de antocianinas (2%, 6% y 10% v/v), con un Diseño Completamente al Azar se identificó una tendencia decreciente de color en los bioplásticos y aumento de pH del pescado crudo en condiciones de temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR a través del tiempo. En la segunda etapa, se usó un Diseño Compuesto Central Rotacional con cuatro niveles factoriales, axiales y puntos centrales. Se evaluó el efecto de las variables extracto de antocianina (X_1) y relación de almidón de maíz/yuca (X_2) sobre las propiedades mecánicas, opacidad y de barrera del bioplástico. Se obtuvieron cuatro regresiones de carácter predictivo y cinco de carácter tendencioso. La variable (X_1) tuvo mayor significancia, en permeabilidad al vapor de agua, opacidad y solubilidad en agua, mientras que la (X_2) sobre el espesor. Se determinó mediante la función de utilidad una combinación óptima de 6% (v/v) de extracto de antocianina con una combinación de 50:50% de almidón de maíz y yuca respectivamente con un 46.24% de glicerol (p/v). Se recomienda utilizar la formulación óptima sobre diferentes matrices cárnicas.

Palabras clave: Biodegradable, color, empaque inteligente.

Abstract: Currently, the consumers have interest in the design of containers that guarantee the freshness of the food. In this study was to elaborate a bioplastic of glycerol and starches of maize and cassava with anthocyanin extract of purple cabbage. The first step was to develop three bioplastics made by corn starch and cassava starch in order to complete the relation 1:10 solids: solution, was added three anthocyanin extract concentrations (2%, 6% and 10% v/v) with a Completely Random Design. A decreasing tendency of color in the bioplastics and increasing of pH in storage of crude fish were identified under conditions of monitored temperature (24 ± 2) °C and (52 ± 2)% RH through time. In the second stage, a Rotational Central Composite Design was used with four factorial levels, axial and central points. The effect of the concentration variables of the anthocyanin extract (X_1) and the corn and cassava starch (X_2) were evaluated on the mechanical, opacity and the bioplastic barrier proprieties. Four mathematical regressions with predictive character and five of tendentious character were obtained. In that (X_1) had a greater significance on water vapor permeability, opacity and solubility in water, and (X_2) had a greater effect on the thickness. An optimal combination of 6% (v/v) of anthocyanin extract with a combination of 50:50% of maize starch and cassava respectively with 46.24% glycerol (w /v) was determined by the utility function. It is recommended to use the optimum formulation on different meat matrices.

Keywords: Biodegradable, colour, intelligent packaging.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
4. CONCLUSIONES	44
5. RECOMENDACIONES	45
6. LITERATURA CITADA.....	46
7. ANEXOS	52

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros		Página
1.	Descripción del diseño experimental.	7
2.	Niveles codificados de las variables del experimento	8
3.	Niveles codificados y valores reales de los 12 tratamientos que se probaron.	9
4.	Parámetro de color L* de bioplásticos a base de almidón de maíz/yuca incorporados con extracto de antocianinas, elaborados por el método de casting durante su almacenamiento a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR, utilizados como embalaje de pescado.	13
5.	Parámetro de color a* de bioplásticos a base de almidón de maíz/yuca incorporados con extracto de antocianinas, elaborados por el método de casting durante su almacenamiento a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR, utilizados como embalaje de pescado.	14
6.	Parámetro de color b* de bioplásticos a base de almidón de maíz/yuca incorporados con extracto de antocianinas, elaborados por el método de casting durante su almacenamiento a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR utilizados como embalaje de pescado.	15
7.	Efecto de la combinación de almidón de maíz, almidón de yuca y extracto de antocianinas en espesor.	16
8.	Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado al espesor de un bioplástico.	17
9.	Efecto de la combinación de porcentaje almidón de maíz/yuca y de extracto de antocianinas en la permeabilidad al vapor de agua g.mm/h.m ² .kPa	19
10.	Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la permeabilidad al vapor de agua de un bioplástico.	20
11.	Efecto de la combinación de porcentaje relación almidón de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la solubilidad en agua.	22
12.	Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la solubilidad en agua de un bioplástico.....	23
13.	Efecto de la combinación de porcentaje relación almidón de maíz/yuca y porcentaje extracto de antocianinas en la opacidad.	25
14.	Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la opacidad de un bioplástico	26
15.	Efecto de la combinación de porcentaje almidón de maíz/ yuca, y porcentaje Extracto de antocianinas en la fuerza de perforación (N).....	28
16.	Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la fuerza de perforación de un bioplástico	29

Cuadros	Página
17. Efecto de la combinación de porcentaje relación de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la deformación por perforación	31
18. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la deformación por perforación.	32
19. Efecto de la combinación de porcentaje almidón de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la tensión por elasticidad.	34
20. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la tensión.....	35
21. Efecto de la combinación de porcentaje relación de almidón de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la deformación en la tensión.	37
22. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión	38
23. Efecto de la combinación de porcentaje relación almidón maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en el módulo de elasticidad.....	40
24. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en el módulo de elasticidad.	41

Figuras	Página
1. Flujo de proceso de extracción de antocianinas de repollo morado por el método solido-liquido.	4
2. Flujo de proceso de elaboración de un bioplástico con antocianinas de repollo morado.	5
3. pH de corte de tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) durante su almacenamiento a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR.	13
4. Efecto de extracto de antocianinas y de relación almidón maíz/yuca en espesor (mm).....	17
5. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la permeabilidad al vapor de agua.(g.mm/h.m ² .kPa)	20
6. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la solubilidad en agua (%).	23
7. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la opacidad.	26
8. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la fuerza de perforación.	29
9. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la deformación por perforación.....	32
10. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la tensión.	35
11. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la deformación en la tensión.	38
12. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en el módulo de elasticidad.	41

Figuras	Página
13. Valores óptimos de las variables independientes sobre las propiedades mecánicas, opacidad y de barrera de un bioplástico de almidón de maíz, yuca con extracto de antocianina de repollo morado.	43

Anexos	Página
1. Cambios posibles de la estructura de cianidina a diferente pH. (Rossi, 2002).	52
2. Red cabbage pH series.	52
3. Cambios de color en bioplástico de almidón de maíz, yuca con antocianinas de repollo morado a temperatura monitoreada de $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$ y $(52 \pm 2)\%$ HR, durante el almacenamiento de cortes de tilapia.	53
4. Color en el día 2 de los bioplásticos de almidón de maíz, yuca con antocianinas de repollo morado a temperatura monitoreada de $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$ y $(52 \pm 2)\%$ HR, durante el almacenamiento de cortes de tilapia.	53
5. Representación gráfica de la metodología para indicadores de frescura de (Chun et al. 2013)	54
6. Perfil de antocianinas en repollo morado (Wiczowski 2012)	54

1. INTRODUCCIÓN

Los bioplásticos se han convertido en una alternativa amigable con el ambiente, generados a partir de recursos renovables que puedan contribuir al sector agrícola por la alta demanda de sus materias primas (Arenas 2012). Estos están compuestos por unidades estructurales denominados polímeros que pueden ser elaborados a partir de cultivos de poliésteres microbianos, proteína, fibra, almidón, y celulosa (Avella *et al.* 2005).

Se estima que las pérdidas en pos cosechan de productos pesqueros son de un 30% de la captura total. En países en desarrollo se da el incremento en la exposición del pescado sin hielo a la temperatura ambiente situación relacionada con el deterioro del pescado y la seguridad alimentaria (FAO 2009).

Buscando atender la necesidad de los consumidores preocupados por la calidad e inocuidad de un producto alimenticio surgen los empaques inteligentes (López Rubio *et al.* 2004), que pueden de proteger y otorgar información de alguna característica del alimento al consumidor, volviéndose más competitivo en relación a empaques convencionales (Dainelli *et al.* 2008). Gracias a que algunos poseen indicadores de frescor que monitorean la calidad de los alimentos que se pierde por el crecimiento microbiano y que produce metabolitos tales como dióxido de carbono compuestos nitrogenados, aminos biogénicos, toxinas. (Smolander y Sikam 1997) que generalmente producen un cambio de pH en el alimento y que es imposible para el consumidor detectar. (Chen y Evans 2005). Estudios han comprobado que los polímeros a base de almidón de yuca (*Manihot esculenta*) pueden ser utilizados como matriz para agentes indicadores de pH (Ditchfield *et al.* 2010)

El repollo morado (*Brassica oleracea*) es un producto que tiene pérdidas en pos cosecha sin embargo, posee la antocianina denominada cianidina 3, 5 glucósido en mayor proporción la cual, mediante la pérdida de un protón, adición de agua y aumento de pH puede cambiar de estructura desde una forma quinoidal a una estructura pseudobase carbinol, que es incolora o chalcona, de color amarillo (Franco *et al.* 2001). Esta característica de las antocianinas otorga coloraciones diferentes por lo que puede ser considerado un indicador.

Un indicador de pH puede ser definido como una sustancia que indica la presencia o ausencia de otra sustancia o el grado de reacción entre dos o más sustancias mediante el cambio de una característica como color (Kerry y Grady 2006).

Una de las dificultades identificadas en este estudio fue la elaboración de los bioplásticos por el método de casting y poder obtener una viscosidad óptima con almidones de maíz y

yuca con extracto de antocianinas que permitan su correcta formación al momento de secado.

En esta investigación se busca evaluar y caracterizar el efecto de las variables concentración relación almidones maíz/yuca y la concentración de extracto de antocianinas, sobre las propiedades mecánicas, opacidad y propiedades de barrera de un bioplástico. Esta investigación consta de los siguientes objetivos:

- Identificar cambio de color en bioplástico de almidones maíz y yuca con concentración de extracto de antocianinas en el almacenamiento de cortes de tilapia (*Oreochromis niloticus*) a condiciones de temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR durante dos días.
- Desarrollar la metodología superficie de respuesta para la caracterización de las variables independientes, porcentaje relación almidón maíz/yuca y porcentaje extracto de antocianinas en las propiedades mecánicas, opacidad y propiedades de barrera del bioplástico.
- Determinar la combinación de almidones de maíz, yuca y extracto de antocianinas que optimice las propiedades mecánicas, opacidad y de barrera del bioplástico.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación. Este estudio se hizo en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, departamento de Francisco Morazán Honduras. En el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ), donde se evaluaron los tratamientos, los análisis químicos, preliminares y análisis físicos

Materia prima. Para llevar a cabo el estudio se utilizó almidón de yuca (AY) *Manihot sculenta* y almidón de maíz (AM) *Zea mays* adquirido en el supermercado “Más × menos”. La glicerina fue adquirida por la empresa JG Scientific. Ambos proveedores localizados en la ciudad de Tegucigalpa, Honduras. El repollo morado, se adquirió en el puesto de ventas de Zamorano, se cosechó a los 75 días después del trasplante en los campos de Zamorano y la tilapia también fue adquirida en el puesto de ventas.

Ensayos iniciales. Estos estudios se basaron en la revisión de literaturas.

Inicio pretratamientos.

Extracción de antocianinas. Se utilizaron 100 gramos de repollo morado, se molió en el procesador de alimentos marca Oster. Se utilizó la metodología de extracción ESLA (Extracción de antocianinas sólido-líquido) (Zapata 2014). Para lo cual se necesitaron 300 ml de solución al 50% de etanol (157,89 ml de etanol al 95% y 142.10ml de agua). Se procedió a reposar la muestra por 2 horas a 36 °C. Luego, se separó la col morada molida de la solución etílica con un colador. Se llevó la solución diluida a la centrifugadora por 20 minutos a 2500rpm.

Se utilizó el rota vapor Buchi R-215 a 59 °C con 100rpm durante 45 min para concentrar y reducir en aproximadamente 13 veces el volumen del extracto de antocianinas, esta temperatura fue utilizada debido a que a temperatura mayor de 60 °C las antocianinas empiezan a degradarse. (Zapata 2014). Al final se obtuvo un extracto de antocianina de 23 mL con un pH de 5.62, éste pH está entre 4 y 6, pH característico de las frutas y hortalizas frescas o procesadas, donde se observa una mezcla en equilibrio de las formas catión

flavilio, bases quinoidales y carbinol, como así también de la forma chalcona (Moldovan *et al.* 2012).

En la figura 1 se puede observar el flujo de proceso para la extracción de antocianinas en repollo morado según la metodología de Zapata (2014) adaptado para este estudio.

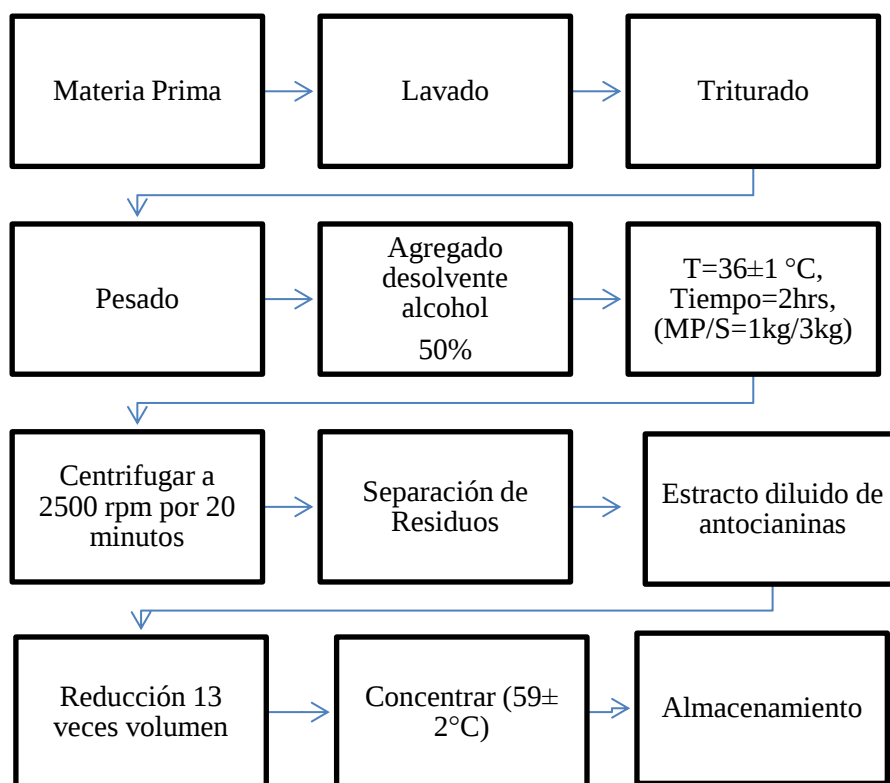


Figura 1. Flujo de proceso de extracción de antocianinas de repollo morado por el método sólido-líquido.

Elaboración del bioplástico. Se hicieron pruebas preliminares para determinar el flujo de proceso y las cantidades de extracto de antocianinas que se pueden aumentar a la formulación propuesta por Muñoz (2014) con 77.14 y 22.86% de almidón de maíz y yuca respectivamente con 46.24% de glicerol.

Para la fase preliminar se definió tres tratamientos variando la cantidad de extracto de antocianinas basados en la formación de la solución filmogénica y la visualización del color en el bioplástico como cantidad mínima. Se estableció los tratamientos con (2, 6 y 10%) de extracto de antocianinas por 100 ml de solución filmogénica de almidones.

Se utilizó la metodología de casting para la elaboración de las soluciones filmogénicas (SF) y adicionalmente se mezcló en una bolsa por 45 segundos el almidón de maíz, almidón de yuca para lograr una mejor homogeneidad. Se mezcló el 75% del agua con el glicerol, con agitación magnética constante y se calentó hasta 50 °C. Adicionalmente se agregó la mezcla de los almidones y con el otro 25% del agua para evitar la formación de grumos

calentándose hasta 70 ± 2 °C durante 5 min, fue agregado el extracto de antocianinas calentándose por otros 5 min, posteriormente se enfrió la solución a 50 °C (Muñoz 2014).

Secado y acondicionamiento de filmes. Después del enfriamiento se vertieron 25 ± 2 g SF, en platos de plástico de 153cm^2 de área. Para el secado se utilizó una cámara de estabilidad (Norlake Scientific) a una temperatura de 36 ± 2 °C durante 24 h. Luego del secado de las películas se separaron de los platos de plástico manualmente y se almacenaron en un desecador previo a ser analizadas a 25 °C con 75% de humedad relativa controlada, la cual se obtuvo con una solución saturada de Cloruro de Sodio (NaCl) (Soto y Candelas 2007) solamente por 24 h. No se recomienda pasar más días para evitar la degradación de antocianinas (Arenas 2012).

En la figura 2 Se puede apreciar el flujo de proceso para la elaboración de un bioplástico de almidones maíz y yuca con extracto de antocianinas de repollo morado tomado del estudio de Muñoz (2014) y adaptado por el autor.

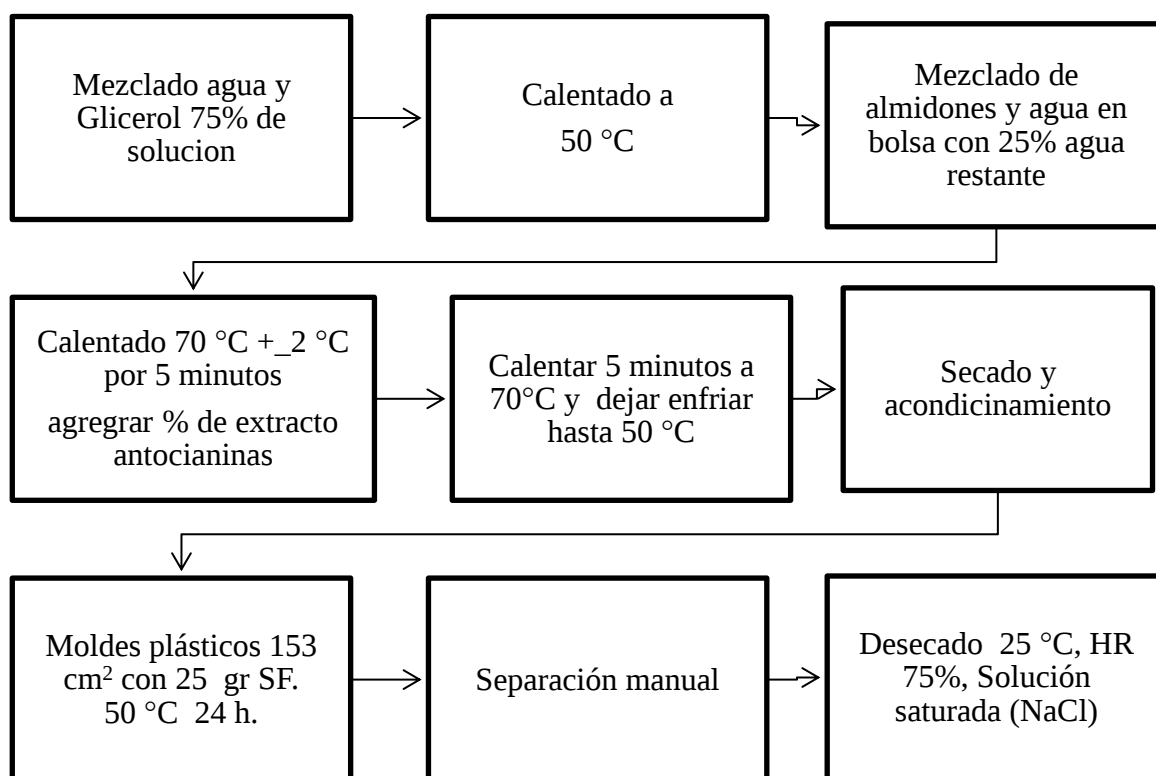


Figura 2. Flujo de proceso de elaboración de un bioplástico con antocianinas de repollo morado.

Etapa I. Preparación de las muestras. Los bioplásticos se cortaron en forma circular con un diámetro de 3 cm introducidos en vasos volumétricos (adaptados), se utilizó una muestra

de 10 g de pescado, la distancia entre el bioplástico y el pescado fue de 4 cm establecido según la metodología de (Chun *et al.* 2013) para indicadores de frescura con algunas modificaciones.

Determinación de cambio de color. Se colocaron las muestras en un solo lugar dentro del laboratorio, como base se utilizaron hojas blancas y se tomaron fotografías a una distancia de 30 cm de altura, bajo las mismas condiciones de luz. Se evaluó color a través de una aplicación de ColorMeter Free – Android. Esta es una aplicación que permite mediante la cámara cuantificar colores en la fotografía, utilizando la escala RGB, HSV código de colores utilizados en diseño de páginas web y otro software.

Se tomaron tres puntos de enfoque en la superficie del bioplástico bajo las mismas condiciones de iluminación, y luego los códigos RGB fueron convertidas a la escala $L^*a^*b^*$, donde las coordenadas tridimensionales estuvieron sujetas por el eje L^* (luminosidad) con valores desde 0 (negro) a 100 (blanco); el eje a^* , abarca los colores rojos (1 a +127) y verde (-128 a 1); y el eje b^* , los colores azules (-128 a 1) y amarillo (1 a +127). (Frich 2015). Se transformaron los valores según una plantilla excel utilizada con este fin.

Determinación del pH de los cortes de pescado. Para identificar un cambio de pH en el pescado, se calibró el potenciómetro y cada 24 horas se cortaron 10 g de pescado a partir de la muestra total, se diluyeron en un beaker con 100ml de agua destilada, luego se agitó la dilución hasta que las partículas del pescado estuvieran suspendidas y se midió directamente el pH de la solución obtenida con el potenciómetro (Riverio y Seravalli 2004).

Diseño experimental. Para identificar un cambio de los valores de color L^* , a^* , b^* . Se desarrollaron tres bioplásticos con (2, 6 y 10% v/v) de extracto de antocianinas, se evaluó color a través del tiempo (0, 1 y 2 días) en condiciones ambientales (28 °C y 50% HR) y se evaluó el pH del pescado.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con una separación de medias Tukey ($P < 0.05$). Este fue un análisis de diferencia significativa entre los resultados obtenidos con un nivel de confianza del 95%. Luego de la validación de cambio de color se estableció un rango de porcentaje de extracto de antocianinas para su aplicación en la segunda fase de caracterización del bioplástico.

Etapas II. Diseño experimental. Para evaluar las variables independientes, porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje de almidón de maíz con respecto a yuca, se utilizó una metodología experimental de superficie respuesta con un diseño compuesto central rotacional (DCCR) de segundo orden con una probabilidad de significancia del 10% (Cevallos 2015). Los parámetros del proceso fueron codificados (-1, 0, 1) y se calcularon de acuerdo a la ecuación 1.

$$x_i = (X_i \times Z) / (\Delta x_i) \quad [1]$$

Dónde:

x_i = Valor codificado de la variable x_i

X_i = El valor real de la variable

Z = Valor real de la variable en el punto central

Δx_i = Intervalo de la variable x_i

Para el modelo se establecieron dos niveles de variables axiales, codificados como $+\alpha$ y $-\alpha$. Los valores para α , dependen del número factorial ($F=2^k$) y del número de variables independientes ($K=2$) del diseño, definidos por la ecuación 2.

$$\pm\alpha = (F)^{1/4} = (2K)^{1/4} = (2 \times 2)^{1/4} = 1.4142 \quad [2]$$

El número de tratamientos del experimento se basó en un diseño factorial completo, ecuación 3.

$$n=2^k+2k+m \quad [3]$$

Donde:

Los tratamientos se describen en el cuadro 1

Cuadro 1. Descripción del diseño experimental.

Expresiones	Cantidad de tratamientos	Puntos
$2^K = 2^2$	4	Factoriales
$2K = 2 \times 2$	4	Axiales
m	4	Centrales
Total	12	Unidades experimentales

Fuente: Cevallos 2015, adaptado por el autor

La amplitud en el rango para las variables independientes se determinó con los resultados obtenidos de ensayos iniciales de la etapa uno para porcentaje de extracto de antocianinas y porcentaje de relación de almidón maíz/ yuca. Para el análisis de los resultados en este estudio se determinó el comportamiento en cuanto a combinación de variables independientes (X^k) y variables dependientes o respuestas (Y_i), descrito por el método (Cevallos 2015).

El punto máximo, central y mínimo de porcentaje de extracto de antocianinas se determinó gracias a pretratamientos a base de experimentación de etapa uno y la relación de almidones punto máximo, central y mínimo del estudio de Muñoz (2014).

Cada respuesta se ajustó a través de un análisis de regresión con las variables (X_K) para cada respuesta (Y). El término general utilizado para predecir el comportamiento de cada respuesta se describe en la ecuación 4.

$$Y_i = (\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \varepsilon) \quad [4]$$

Dónde:

Y_i = Función respuesta.

β_0 = Coeficiente relativo a la interpretación con la respuesta en el eje.

X_1 y X_2 = Valores de las variables independientes.

β_1 y β_2 = coeficientes lineales estimados por el mínimo cuadrado.

β_{11} y β_{22} = Coeficientes para variables cuadráticas.

β_{12} = Coeficiente de interacción entre variables independientes

$\mathcal{E}$ Error experimental.

En el cuadro 2 se presentan los niveles codificados (-1, 0,+1) y los valores axiales (- α y + α) de las variables independientes del experimento. Se describen los valores reales y codificados del diseño experimental completo con dos variables independientes y cinco niveles de variación. Las variables dependientes fueron: espesor, permeabilidad al vapor de agua (Pva), opacidad, solubilidad en agua, elongación y perforación.

Cuadro 2. Niveles codificados de las variables del experimento

Variables	Niveles				
	- α	-1	0	1	+ α
%Relación de almidón maíz/yuca	15	25	50	75	50
% ESL	2.0	3.2	6.0	8.3	10.0

(% ESL): Extracto de antocianinas

En el cuadro 3 se muestran los valores codificados del diseño experimental completo con dos variables independientes. Las variables dependientes que se evaluaron en cada tratamiento fueron: espesor, solubilidad en agua, permeabilidad al vapor de agua, opacidad, elasticidad y perforación.

Cuadro 3. Niveles codificados y valores reales de los 12 tratamientos que se probaron.

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles reales	
	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)
1	-1	-1	25	3.2
2	-1	1	25	8.3
3	1	-1	75	3.2
4	1	1	75	8.3
5	-1.41	0	15	6.0
6	1.41	0	85	6.0
7	0	-1.41	50	2.0
8	0	1.41	50	10.0
9 (C)	0	0	50	6.0
10 (C)	0	0	50	6.0
11 (C)	0	0	50	6.0
12 (C)	0	0	50	6.0

(c): Punto central del experimento

(% ESL): Extracto de antocianinas

Análisis estadístico. Para la interpretación de los datos y para que el modelo fuera denominado predictivo se verificó que el R^2 sea mayor a 0.6 y los modelos que presentaron un R^2 menor a 0.6 se consideraron tendenciosos (Chariguamán 2015). Se hizo ANOVA, empleando una probabilidad de 10% de nivel de significancia, además se consideró significativo cuando el valor de F calculado fuer mayor que el F tabular, mientras mayor sea el F calculado el modelo será más predictivo (Rodríguez y Lemma 2012).

Caracterización del bioplástico.

Espesor. El espesor de los filmes fue determinado utilizando un micrómetro manual (± 0.01 mm de error) marca Startter de manera aleatoria con 10 puntos (CAO *et al.* 2007).

Permeabilidad al vapor de agua. Se determinó gravimétricamente a 25 °C de acuerdo con el método E96-80 descrito por la norma ASTM (American Society for Testing and Materials) (ASTM 1989), utilizado por (Gontard *et al.* 1993) y (Vicentini 2003) y adaptado por el autor con algunas modificaciones.

Los bioplásticos se cortaron en forma circular con un diámetro de 3 cm introducidos en vasos volumétricos (adaptados), con agua destilada. Los vasos se colocaron a 25 °C en un desecador con sílica. El peso del vaso se determinó cada 24 h. durante nueve días a través de una balanza analítica, realizando tres repeticiones de cada tratamiento

El flujo de permeabilidad al vapor de agua (Fva) se calculó según la ecuación 5.

$$Fva = g / tA \quad [5]$$

Dónde:

g es la pérdida de peso, t el tiempo total en horas y A es el área de permeabilidad. La permeabilidad al vapor de agua (Pva) se calculó a partir de la ecuación 6.

$$Pva = (Fva) \times (X \Delta P) \quad [6]$$

Donde:

X: media del espesor del bioplástico y la diferencia de presión de vapor del medioambiente que contiene el desecador (0 kPa, 25 °C) y el agua pura (3.167 kPa a 25 °C).

Solubilidad en agua. Los bioplásticos fueron cortados en forma circular con un diámetro de 2 cm y también fueron pesados, luego se sumergieron en agua destilada con 50 mL de agua destilada se reposó durante 24 h después se retiraron las muestras y se secaron (105 ± 2 °C durante 24 h) en un horno marca Fisher 750f, para determinar el peso del material que no fue solubilizado, al final se realizaron tres repeticiones por muestra de tratamiento. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento. La solubilidad se expresa de acuerdo con la ecuación 7.

$$\text{Solubilidad (\%)} = (1 - (PI - PF / PI)) \times 100 \quad [7]$$

Dónde:

PI es el peso inicial del bioplástico y PF es el peso final del material seco. Esta metodología fue modificada debido a la debilidad de los bioplásticos por lo que no se utilizó agitador magnético recomendado por la metodología de solubilidad por (Gontard 1991).

Medida de opacidad. La opacidad aparente se determinó con la ayuda de un espectrofotómetro (Spectronic Genesys 5 336001) y usando como referencia el agua. Bajo estas condiciones, la banda de longitud de onda de barrido de luz visible fue de 500 nm para cada película y la opacidad de la película se calculó según la ecuación 8.

$$\text{Opacidad} = \frac{A_{500}}{T} \quad [8]$$

Donde:

A500 es la absorbancia a 500 nm y T es el espesor de la película (mm) (Cho y Rhee 2004; Shiku *et al.* 2004). El análisis se realizó con tres puntos por cada tratamiento.

Propiedades mecánicas. Las propiedades mecánicas de interés fueron perforación y elongación. Ambas pruebas se realizaron en un analizador de textura Brookfield CT3 4500. Se realizaron 10 puntos por tratamiento.

Perforación. Se midió la fuerza y distancia a la rotura que se determinaron en las pruebas de perforación de acuerdo con la metodología establecida por literatura (Gontard 1991; Vicentini 2003; Rocha 2009) con adaptaciones. Las muestras con un tamaño de 40 mm de longitud y 15 mm de ancho eran colocadas en una base cuadrada impresa en 3D de polietileno con un área de 72 cm cuadrados. Con un área central circular para colocar el bioplástico de 12.56cm² y atravesado por una sonda de 0.3 cm de diámetro, moviéndose a una velocidad de 0.1cm/s.

La deformación se calculó en base al desplazamiento de la sonda hasta la rotura y la distancia media de la película según la ecuación 9:

$$\text{Deformación (h)} = \frac{\sqrt{(b^2+a^2)}}{40}) * 100 \quad [9]$$

Elongación. Este test de elongación originó tres propiedades: tensión, deformación y módulo de elasticidad (Vicentini 2003). Estas dan a conocer la resistencia del bioplástico a la elongación y a la ruptura, cuando se somete a tensión y el módulo de elasticidad indica la rigidez del bioplástico (Oliveira *et al.* 1996).

El alargamiento a la rotura y módulo de elasticidad se determinó basado en el método 828-95^a (ASTM 1995). Las películas se cortaron en piezas de 15 mm de ancho y 40 mm de largo. La distancia inicial entre las mordazas fue de 30 mm y la velocidad de tracción de 0.9 mm/s.

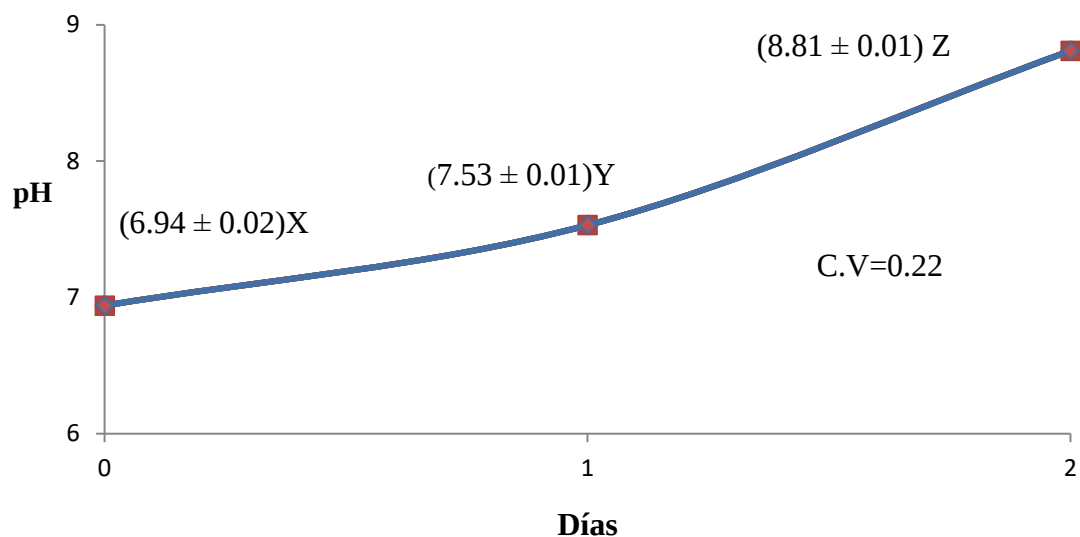
La tensión de rotura se calculó mediante la relación entre la fuerza y el área de la sección transversal inicial de la película, y la deformación a la rotura considerado como la deformación lineal [(l - l₀)/ l₀], se determinó por la curva de tensión-deformación. El módulo de elasticidad se calculó como la pendiente de la región lineal de la curva de tensión en función a la deformación (Chariguaman 2015).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapas I. Determinación del pH del pescado. En el pH según el análisis estadístico, sí hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) a través de los 0, 1 y 2 días (figura 3) de los cortes de pescado expuestos a condiciones de temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2) % HR. El pH inicial fue el esperado ya que los valores en pescado según los valores encontrados para el músculo de pescado eviscerado, varían entre 6.70 y 7.08 en tilapia (*Oreochromis spp.*) (Sales *et al.* 1988), luego de 24 horas se observó un aumento considerable de pH contrario al descenso que se tenía esperado, esto pudo haber sido provocado ya que el pescado no era recién cosechado, por lo que no hay descenso en los valores de pH al contrario del pH de un pescado recién sacrificado que puede disminuir su pH al formar ácido láctico resultado de la glucólisis postmortem (Curran 1986).

Las variaciones del pH fueron significativas ($P = 0.0001$) en los tratamientos a través el tiempo (figura 3) el pescado tuvo un incremento de pH de (6.94 a 7.53) 24 horas después de su almacenamiento a temperatura ambiente y un mayor aumento a 8.81 luego de 48 horas se considera que es el resultado de la formación de compuestos volátiles como el amoníaco y ciertas aminos. Lahiry *et al.* (1963) afirman que cuanto más avanza el deterioro bacteriano, se acumulan productos de naturaleza básica como TMA, DMA por eso los valores de pH en el músculo de pescado aumentan de forma lenta al inicio y rápidamente al final del deterioro, pero esto va a depender de la variedad del pescado. A su vez el aumento del pH puede ser afectado por la especie del pescado, tipo de carga microbiana, métodos de captura, manipulación y almacenamiento.

Las aminos volátiles Trimetilamina (TMA), amonio (NH_3) y Dimetilamina (DMA) forman parte del compuesto básico total nitrogenado (TVB-N), estas son sustancias químicas características de olores a pescado. El contenido de (TVB-N) es reconocido como un indicador de deterioro, y las aminos volátiles están directamente correlacionadas con la calidad sensorial del pescado (Heisinger *et al.* 2011). Con el tiempo el TVB-N aumenta como resultado del metabolismo bacteriano, en los pescados de agua dulces se encuentran *Pseudomonas spp* y *Shewanella putrefaciens* (Huss *et al.* 1997).



X-Y-Z Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

D.E. = Desviación estándar. C.V. = Coeficiente de variación

Figura 3. pH de corte de tilapia (*Oreochromis niloticus*) durante su almacenamiento a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR.

Análisis del parámetro de color L^* . En el cuadro 4 se observa el cambio del parámetro Luminosidad de los tres bioplásticos a través del tiempo.

Cuadro 4. Parámetro de color L^* de bioplásticos a base de almidón de maíz/yuca incorporados con extracto de antocianinas, elaborados por el método de casting durante su almacenamiento a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR, utilizados como embalaje de pescado.

Tratamientos	Día 0	Día 1	Día 2	C.V.
	Media ± D.E.	Media ± D.E.	Media ± D.E.	
2% ESL	54.17 ± 0.35 X	48.15 ± 2.45 X	42.91 ± 0.73 Y	3.08
6% ESL	54.02 ± 0.54 X	37.09 ± 0.68 Y	30.39 ± 0.63 Z	1.53
10% ESL	51.01 ± 0.06 X	46.27 ± 0.26 Y	26.64 ± 0.22 Z	0.48

(ESL) Extracto de antocianina.

X-Y-Z Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

D.E. = Desviación estándar C.V. = Coeficiente de variación.

Las variaciones del parámetro L^* fueron significativas ($P = 0.0001$) en los tratamientos a través el tiempo evaluado Es posible observar que todos los bioplásticos adicionados con diferente porcentaje de extracto de antocianinas y almacenados a temperatura ambiente a lo largo del tiempo de almacenamiento del pez registran una cambio significativo ($P \leq 0.05$) en el parámetro de color L^* (Luminosidad) que cambió conforme al pH del pescado,

indicando una relación entre alteraciones de coloración de los bioplásticos así como el cambio de pH en el producto almacenado de este estudio.

Arenas (2012) reportó cambio en el parámetro L* (luminosidad) que descendió sus valores desde el día 0 al día 2 en un 19% (62.18 a 50.04) a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR volviéndose más oscuro conforme aumenta el tiempo de almacenamiento. Por lo que el tiempo pudo influenciar la pérdida de luminosidad, esto fue atribuido a que los bioplásticos son higroscópicos y la humedad absorbida interfiere en sus propiedades del bioplástico. También los bioplásticos son altamente sensibles a la humedad convirtiendo al producto terminado en un material de baja resistencia a las variaciones de humedad (Müller *et al.* 2009)

Análisis del parámetro de color a*. En el cuadro 5, se puede observar el cambio a través del tiempo del parámetro a* en los tres bioplásticos.

Cuadro 5. Parámetro de color a* de bioplásticos a base de almidón de maíz/yuca incorporados con extracto de antocianinas, elaborados por el método de casting durante su almacenamiento a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR, utilizados como embalaje de pescado.

Tratamientos	Día 0	Día 1	Día 2	C.V.
	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.	
2 %ESL	12.36 $\pm$ 0.28 X	11.30 $\pm$ 2.45 X	-1.96 $\pm$ 1.29Y	1.19
6 % ESL	10.90 $\pm$ 0.30 X	7.33 $\pm$ 0.68 Y	-7.44 $\pm$ 0.17 Z	0.36
10 % ESL	13.30 $\pm$ 0.26 X	8.64 $\pm$ 0.28 Y	-2.70 $\pm$ 0.19 Z	1.01

(ESL) Extracto de antocianina

X-Y-Z Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

D.E. = Desviación estándar. C.V. = Coeficiente de variación.

Se encontró diferencia ($P = 0.0002$) en el parámetro a* (verde – violeta rojo) en los tratamientos a través del tiempo (cuadro 5). Todos los valores a* disminuyeron a lo largo del tiempo evidenciando la pérdida de componentes violeta rojo del film. Arenas (2012) reportó una disminución del valor a* en el tiempo como resultado de una formación de coloración verde. Este cambio fue atribuido a que el pez cuando se deteriora libera el compuesto nitrógeno básico volátil total (TVB-N) después de haber pasado su fase de frescura inicial (Pacquit *et al.* 2006).

Este compuesto presenta un pH básico detectado por las antocianinas contenidas en el bioplástico, obteniendo como respuesta cambio de color de las mismas con pérdida significativa de su componente violeta rojo. Esto se puede deber a un cambio en la estructura de las antocianinas. En este estudio los bioplásticos fueron elaborados a un pH

de 5.7-5.8 en el cual la antocianina puede estar próxima a poseer la estructura anhidro base quinoidal de pH 6-7 otorgando coloración violeta, luego de una desprotonización de sus molécula consecuencia de un aumento en el pH del medio puede adquirir una estructura anhidro base iónica (pH 7.8) otorgando coloración azul, finalmente puede adquirir una coloración azul verde a un pH>8 del medio , en el cual la estructura se denomina anhidro base “di anión “ (Mazza y Broullard 1987).

Análisis del parámetro de color b*. El valor b* en este estudio tiende a disminuir a través del tiempo en los tres bioplásticos (cuadro 6).

Cuadro 6. Base de almidón de maíz/yuca incorporados con extracto de antocianinas, elaborados por el método de casting durante su almacenamiento a temperatura monitoreada (24 ± 2) °C y (52 ± 2)% HR utilizados como embalaje de pescado.

Tratamientos	Día 0	Día 1	Día 2	C.V.
	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.	Media $\pm$ D.E.	
2% ESL	5.07 $\pm$ 0.28 X	-5.41 $\pm$ 0.34Y	-8.41 $\pm$ 2.41Y	2.47
6% ESL	-6.02 $\pm$ 0.49 Y	-4.16 $\pm$ 0.38 X	-10.15 $\pm$ 0.42Z	0.81
10% ESL	-5.11 $\pm$ 0.28 X	-9.46 $\pm$ 0.89 Y	-5.97 $\pm$ 0.39X	1.10

(ESL) Extracto de antocianina

X-Y-Z Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

D.E. = Desviación estándar. C.V. = Coeficiente de variación.

Se encontró diferencia ($P=0.0003$) en el parámetro b* en los tratamientos a través del tiempo (cuadro 6). Con relación al parámetro b*(eje azul-amarillo) presentan una diferencia significativa con relación al tiempo. Es posible observar una disminución en el parámetro b* en todos los tratamientos a lo largo del tiempo de almacenamiento lo que otorga una tonalidad de color azul.

Arenas (2012) reportó en sus estudios de bioplástico elaborado con antocianina comercial una tendencia a decrecer el valor b*, en el tiempo lo que da como resultado valores con tendencia azul esto ocurre debido a que el nitrógeno básico volátil total (TVB-N) del deterioro del pez alcaliniza el medio y provoca una desprotonización de la base quinoidal que resulta en la formación de base anhidro base “iónica” de color azul a su vez en paralelo ocurre la hidratación de la base quinoidal como producto de la pérdida de humedad de la muestra de pescado, generando cambios en la estructura de la antocianina a anhidro base “di anión “ que puede otorgar coloración verde azul pálido.(Mazza y Broullard 1987).

Etapla II. Espesor. Es la distancia perpendicular entre dos superficies, el material que formará la matriz es importante para la elaboración de películas plásticas ya que las variaciones en la espesura de un material implican problemas en el desempeño mecánico y propiedad de barrera que comprometen el desempeño del bioplástico (Oliveira *et al.* 1996).

La variable lineal y cuadrática del porcentaje relación almidón de maíz/yuca fue significativa a una $P < 0.10$ (Cuadro 8). Demostrando un efecto de disminución en el espesor a medida que aumenta el porcentaje de relación almidón maíz a partir de (40%) y disminuye % de almidón de yuca a partir del (60%). La variable lineal y cuadrática del porcentaje antocianinas no fue significativa a una $P < 0.10$, demostrando que el % de extracto de antocianinas no tiene efecto en el espesor.

En el cuadro 7 se observaron los doce tratamientos determinados a través del Diseño Compuesto Central Rotacional para espesor.

Cuadro 7. Efecto de la combinación de almidón de maíz, almidón de yuca y extracto de antocianinas en espesor.

Tratamientos	Relación almidón maíz/yuca	ESL	Relación almidón maíz/yuca	ESL	Espesor
	(%)	(%)	(%)	(%)	(mm± D.E) [‡]
1	-1	-1	25	3.2	0.227±0.03 ^A
2	-1	1	25	8.3	0.238±0.03 ^A
3	1	-1	75	3.2	0.199±0.03 ^{AB}
4	1	1	75	8.3	0.232±0.05 ^A
5	-1.41	0	15	6.0	0.202±0.03 ^{AB}
6	1.41	0	85	6.0	0.152±0.01 ^B
7	0	-1.41	50	2.0	0.230±0.03 ^A
8	0	1.41	50	10.0	0.238±0.02 ^A
9 (C)	0	0	50	6.0	0.221±0.02 ^A
10 (C)	0	0	50	6.0	0.214±0.02 ^A
11 (C)	0	0	50	6.0	0.243±0.04 ^A
12 (C)	0	0	50	6.0	0.236±0.05 ^A
Coefficiente de variación (%)					15.46

(% ESL): Extracto de antocianinas

La interacción entre ambas variables no fue significativa a una $P < 0.10$ (cuadro 8) lo que indica que la variación en el valor de una de las dos variables no afecta en los valores de la otra según Molina y Rodrigo (2010). El coeficiente de determinación R^2 , esta 0.79, demostrando que 79% de los datos se ajustaron al modelo y 21% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste no fue significativa con un $P < 0.10$ y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento predictivo.

Cuadro 8. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado al espesor de un bioplástico.

Factor	Espesor	P	
Intercepto	2.29E-01	5.46E-05	*
X₁	-1.31E-02	6.91E-02	*
X₁²	-2.11E-02	2.78E-02	*
X₂	6.91E-03	2.39E-01	n.s
X₂²	7.37E-03	2.56E-01	n.s
X₁ x X₂	5.50E-03	4.70E-01	n.s
Falta de ajuste		3.13E-01	n.s
R²	0.79		
F. Calculado	8.02		
F. Tabular	3.01		

X₁: Relación de almidones maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a P <0.1

De acuerdo a las variables independientes significativas se determinó el siguiente modelo, obtenido con la ecuación 10.

$$\text{Espesor (mm)} = 0.2285 + 0.014 X_1 - 0.021 X_1^2 \quad [10]$$

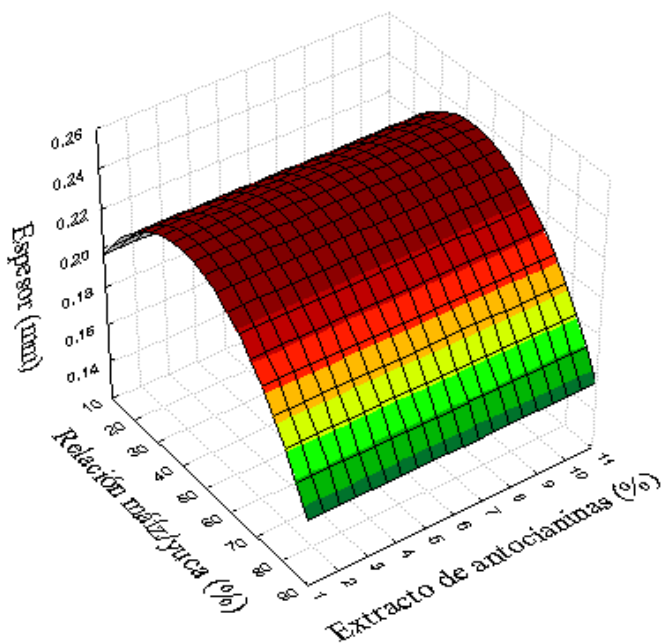


Figura 4. Efecto de extracto de antocianinas y de relación almidón maíz/yuca en espesor (mm).

La figura 4, muestra una relación inversamente proporcional, ya que a medida que aumenta el porcentaje de relación almidón maíz yuca a partir de (40%) disminuye el espesor alcanzando valores entre 0.15 a 0.16 mm independientemente del porcentaje de extracto de antocianina. Se requiere que un bioplástico sea de menor espesura en este estudio. El almidón de maíz de algunas variedades (*Zea mays*, *amylacea*, *indentada*, *indurata*, *everta*, *tunicata*) se caracterizan por tener un 25% de amilosa y 75% de amilopectina (Box y Drapper 1959) mientras que el almidón de yuca tiene un promedio de 17% de amilosa y 83% de amilopectina (Ospina y Ceballos 2002).

La amilosa luego de la gelatinización y al enfriarse tiene un mayor grado de retrogradación que es un fenómeno recurrente en la reaproximación de las moléculas aceleradas por la reducción de temperatura durante el enfriamiento del gel con formación de puentes de hidrogeno intermolecular o con consecuente formación de zonas cristalinas y expulsión de agua existente entre las moléculas (sinéresis) (Riveiro y Seravalli 2004).

La retrogradación resulta en la reducción de volumen, aumentando la firmeza del gel por sinéresis. En función de la estructura linear, las moléculas de amilasa tienen retrogradación más alta, mientras que en la amilopectina este fenómeno solo aparece en la periferia de la molécula (Müller *et al.* 2009). Por esta razón mientras mayor sea la cantidad de almidón de maíz habrá mayor cantidad de amilosa, menos retención de agua mayor sinéresis y bioplásticos con menos espesor. Navia *et al.* (2014) reportaron valores de espesor hasta de 3 mm en bioplástico de almidón de dos variedades de yuca (CM 4574-7 y CM 523-7) con fique en polvo y glicerol.

Este estudio está en base a la función de utilidad de Muñoz (2014) que posee un 46.24% de glicerol. En su estudio el espesor máximo a esa concentración de glicerol fue de 0.24 mm mientras que para este estudio fue de 0.23 mm, con 10% de extracto de antocianinas y 46.24% de glicerol.

Con respecto al porcentaje de extracto de antocianinas no tiene ningún efecto significativo en el espesor, esto coincide con estudios reportados por Farías (2012), quién reportó un espesor de (0.15mm) con 46% de glicerol, independientemente del aumento o disminución de pulpa de acerola y concluyo que la espesura de un bioplástico depende mucho de la cantidad de glicerol.

Permeabilidad al vapor de agua (PVA). Una de las principales funciones de los empaques en los alimentos es evitar o disminuir la transferencia de humedad entre él y su atmósfera circundante a través de la disminución de la permeabilidad de vapor de agua (Gontard *et al.* 1993)

En el cuadro 9 se presentan los resultados del análisis de permeabilidad al vapor de agua, donde se obtuvo valores desde 1.03 hasta 1.75 g.mm/h.m².kPa.

Cuadro 9. Efecto de la combinación de porcentaje almidón de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la permeabilidad al vapor de agua g.mm/h.m².kPa

Tratamientos	Relación almidón maíz/yuca	ESL	Relación almidón maíz/yuca	ESL	Permeabilidad al vapor de agua
	(%)	(%)	(%)	(%)	(g.mm/h.m ² .kPa ± DE)
1	-1	-1	25	3.2	1.29±0.11 ^A
2	-1	1	25	8.3	1.29±0.13 ^A
3	1	-1	75	3.2	1.22±0.25 ^A
4	1	1	75	8.3	1.40±0.20 ^A
5	-1.41	0	15	6.0	1.21±0.17 ^A
6	1.41	0	85	6.0	1.03±0.92 ^A
7	0	-1.41	50	2.0	1.22±0.22 ^A
8	0	1.41	50	10.0	1.15±0.04 ^A
9 (C)	0	0	50	6.0	1.55±0.10 ^A
10 (C)	0	0	50	6.0	1.75±0.29 ^A
11 (C)	0	0	50	6.0	1.61±0.08 ^A
12 (C)	0	0	50	6.0	1.55±0.18 ^A
Coefficiente de variación (%)					23.84

(% ESL): Extracto de antocianinas

Las variables cuadráticas de porcentaje relación almidón yuca/maíz y porcentaje extracto de antocianinas fue significativa $P < 0.10$ (Cuadro 10) sobre la permeabilidad al vapor de agua del bioplástico que indica una disminución en la permeabilidad por efecto de la adición de porcentaje relación almidón yuca/maíz y extracto de antocianina. La interacción entre ambas variables fue no significativa a una $P < 0.10$, lo cual indica que la variación en el valor de una de las dos variables independientes no afecta en los valores de la otra.

El coeficiente de determinación R^2 , esta sobre 0.82, demostrando que 82% de los datos se ajustaron al modelo y 18% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste fue no significativa con un $P < 0.10$ y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento predictivo.

Cuadro 10. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la permeabilidad al vapor de agua de un bioplástico.

Factor	PVA	P	
Intercepto	1.62E+00	5.48E-05	*
X1	-2.68E-02	4.80E-01	n.s
X1²	-2.11E-01	1.10E-02	*
X2	1.01E-02	7.81E-01	n.s
X2²	-1.78E-01	1.74E-02	*
X1×X2	4.50E-02	4.10E-01	n.s
Falta de ajuste		2.45E-01	n.s
R2	0.82		
F. Calculado	12.32.		
F. Tabular	2.92		

X₁: Relación maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a P< 0.1

La permeabilidad al vapor de agua disminuyó a medida que aumentó el porcentaje relación almidón de maíz/yuca y disminuyó el porcentaje extracto de antocianinas (figura 5).

El gráfico de superficie respuesta de la figura 5 para solubilidad, se hizo basado en la ecuación 11.

$$PVA = 1.62 - 0.21X_1^2 - 0.18X_2^2 \quad [11]$$

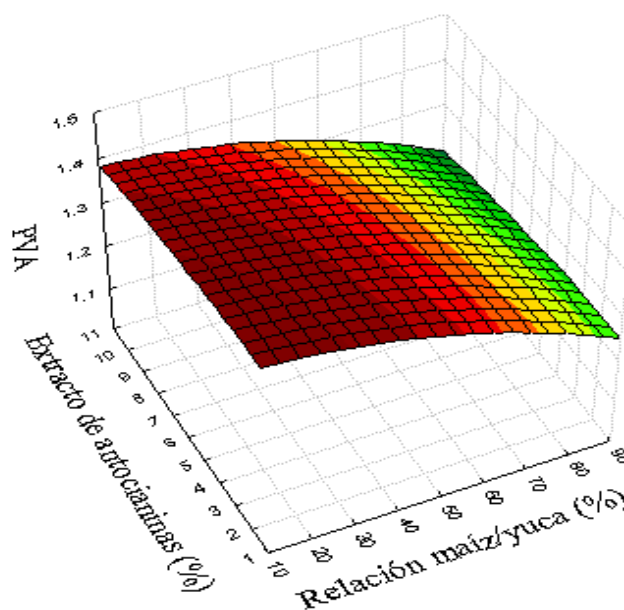


Figura 5. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la permeabilidad al vapor de agua (g.mm/h.m².kPa).

La figura 5, muestra una relación inversamente proporcional, ya que a medida que aumenta el porcentaje relación almidón maíz/yuca disminuye la permeabilidad al vapor de agua alcanzando valores entre 1.18 a 1.20 (g.mm/h.m².kPa) con (90%) de relación de almidón de maíz/yuca y (1-12%) de porcentaje extracto de antocianinas aproximadamente.

La permeabilidad al vapor de agua es afectada por varios factores como el material o la fuente de almidón por su grado de cristalinidad. En este estudio se pudo ver el efecto favorable del almidón de maíz ya que posee mayor cantidad de amilosa lo cual mejoró al disminuir la permeabilidad al vapor de agua. Esto puede ser explicado también por la disminución de espesor a mayor porcentaje de almidón de maíz.

Según Bertuzzi *et al.* (2007) el uso de un plastificante favorece a la permeabilidad del vapor de agua debido a su naturaleza hidrofilia, lo que favorecerá a las interacciones inter moleculares de los materiales y permite mayor migración de las moléculas de vapor de agua.

Sobral (2000) en bioplásticos elaborados con gelatina y glicerol obtuvo que a mayor espesor la permeabilidad al vapor de agua puede aumentar. Por lo que el espesor es muy importante en la permeabilidad al vapor de agua de un bioplástico, en este estudio los doce tratamientos tenían la misma cantidad de glicerol 46.24%, así que el espesor pudo depender de la cantidad de amilosa o mayores porcentajes de almidón de maíz.

Tajla y Jouppila (2007) en films biodegradables a base de almidón de papa que posee 21% de amilosa (Betancour 2001) sin adición de glicerol logrando valores de (1.06 g.mm/h.m².kPa). Otros estudios como el de Muñoz (2014), reportaron valores de (1.41g.mm/h.m².kPa) con 40% de glicerol y 85% de relación almidón de maíz/yuca. En este estudio se obtuvo menores resultados de permeabilidad al vapor de agua de 1.03 g.mm/h.m².kPa con 6% extracto de antocianinas y 85% de relación de almidón de maíz/yuca. Los extractos acuosos pueden actuar como plastificantes (Timberlake y Bridle 1975) por lo que a menor porcentaje de extracto de antocianinas menor podría ser la permeabilidad a vapor de agua.

Solubilidad en agua. Es la medida de la capacidad que tiene una determinada sustancia de disolverse en otra, expresada como el porcentaje de disolución de la primera sustancia en la segunda (Ferreira 1986)

En el cuadro 11 muestra los resultados del porcentaje de material soluble en agua, con una variación desde 34.39 hasta 55.78% de material soluble. Según los resultados los tratamientos dos (75% maíz/yuca, 3.2% ESL) y siete (50% maíz, 2% ESL) tuvieron la media más alta.

Cuadro 11. Efecto de la combinación de porcentaje relación almidón de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la solubilidad en agua.

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles Reales		
	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	Solubilidad %(± D.E) [‡]
1	-1	-1	25	3.2	48.33±0.58 ^A
2	-1	1	25	8.3	40.11±1.53 ^A
3	1	-1	75	3.2	52.51±2.58 ^A
4	1	1	75	8.3	34.39±2.75 ^A
5	-1.41	0	15	6.0	46.70±0.64 ^A
6	1.41	0	85	6.0	51.49±9.17 ^A
7	0	-1.41	50	2.0	55.78±8.1 ^A
8	0	1.41	50	10.0	39.88±0.06 ^A
9 (C)	0	0	50	6.0	43.88±8.7 ^A
10 (C)	0	0	50	6.0	45.67±1.17 ^A
11 (C)	0	0	50	6.0	47.18±0.49 ^A
12 (C)	0	0	50	6.0	43.00±16.5 ^A
Coefficiente de variación (%)					16.50
(% ESL): Extracto de antocianinas					

La variable lineal de porcentaje extracto de antocianinas fue significativa ($P < 0.10$) sobre la solubilidad en agua del bioplástico (Cuadro 12). Indicando una disminución en la solubilidad en agua por efecto de la adición de % extracto de antocianina. La interacción entre ambas variables fue significativa a una $P < 0.10$, lo cual indica que la variación en el valor de una de las dos variables independientes afecta los valores de la otra.

El coeficiente de determinación R^2 , esta sobre 0.84, demostrando que 84% de los datos se ajustaron al modelo y 16% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste fue no significativa con un $P < 0.10$ y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento predictivo (Cuadro 12).

Cuadro 12. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la solubilidad en agua de un bioplástico.

Factor	Solubilidad	P	
Intercepto	4.50E+01	1.99E-05	*
X₁	6.61E-01	3.92E-01	n.s
X₁²	9.12E-01	3.06E-01	n.s
X₂	-6.10E+00	2.71E-03	*
X₂²	2.87E-01	7.24E-01	n.s
X₁×X₂	-2.48E+00	7.75E-02	*
Falta de ajuste		1.07E-01	n.s
R²	0.84		
F. Calculado	23.007		
F. Tabular	3.01		

X₁: Relación almidón maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a P < 0.1

La Figura 6. Indica una disminución en la solubilidad en agua cuando hay un aumento de porcentaje de extracto de antocianinas.

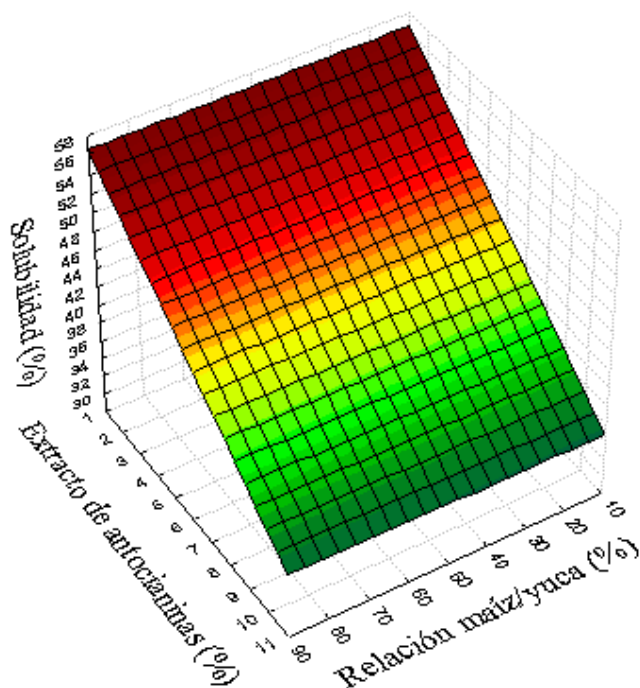


Figura 6. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la solubilidad en agua (%).

$$\text{Solubilidad en agua (\%)} = 44.95 - 6.10X_2 - 2.48 X_1 \times X_2 \quad [12].$$

En este estudio nos interesa una menor solubilidad en agua para que el indicador no tenga contacto con el producto empacado. El plastificante es muy importante en la solubilidad en agua algunos bioplásticos elaborados con almidón de arroz y glicerol reportados por Laohakunjit y Noomhorm (2004) y otro de almidón de inhame por Mali *et al.* (2004), reportaron que cuanto mayor concentración de glicerol se añada mayor es la solubilidad de los filmes debido a su característica hidrofílica, que puede causar mayor solubilidad en agua.

En la Figura 6. Muestra una relación inversamente proporcional, ya que a medida que aumenta el porcentaje de extracto de antocianina disminuye la solubilidad alcanzando valores mínimos entre (34 y 35%) aproximadamente con porcentaje de extracto de antocianina de (9-10%) y glicerol al 46.24%(p/v). Farías (2012) reportó una relación inversamente proporcional en la solubilidad de recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca con adición de pulpa de acerola, obteniendo valores mínimos de 18 % a mayor concentración de acerola. La solubilidad mínima de este estudio 34% es más favorable que otros estudios como el de Muñoz (2014) que presentó una solubilidad mínima de 46% en bioplástico de almidón de maíz/yuca y glicerol al 46%. (p/v) también fueron menores que los encontrados por Yamashita *et al.* (2005) en filmes biodegradables a base de almidón de mandioca y conservantes como propionato de calcio, permanganato de potasio, cuyos valores de solubilidad en agua variaron entre 78 a 86%.

Shen *et al.* (2010) en bioplástico a base de batata y glicerol obtuvo valores de la solubilidad en agua de (23.4 a 28.8%) con un aumento de sorbato de potasio. En este estudio durante la elaboración de los tratamientos, se observó como el pH de los bioplástico fue afectado dando como resultado que a mayor porcentaje de extracto de antocianinas menor sería el pH del bioplástico por lo que menor podría ser su porcentaje de solubilidad en agua, efecto similar fue reportado por Bourtoom *et al.* (2006), encontraron una menor solubilidad a pH bajos, en películas de almidón y proteínas.

Propiedades ópticas

Medición de la opacidad. La opacidad es un factor importante en un plástico se requiere mayor opacidad para proteger al producto sensible a la luz (Oliveira *et al.* 1996) El grado de transparencia del bioplástico dependerá de la estructura del polímero utilizado, si es más amorfo es más transparente, si es más cristalino será más opaco y también influye su espesura (Crippa 2006). En este estudio se requiere mayor opacidad para una mejor visualización del color del extracto y que pueda proteger a la matriz cárnica de la luz solar.

En el cuadro 13 se detallan los resultados del análisis de opacidad donde se encontraron valores desde 4.1 hasta 6.1 nm. Según los datos el tratamiento cinco presento valor máximo de opacidad 6.1 nm con una combinación (15% relación almidón maíz/yuca y 6% extracto antocianinas).

Cuadro 13. Efecto de la combinación de porcentaje relación almidón de maíz/yuca y porcentaje extracto de antocianinas en la opacidad.

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles Reales		Opacidad ($\pm$ D.E) [‡]	Representación gráfica
	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	Relación Almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)		
1	-1	-1	25	3.2	4.4 $\pm$ 0.53 ^{CDE}	
2	-1	1	25	8.3	5.5 $\pm$ 0.52 ^{ABC}	
3	1	-1	75	3.2	4.2 $\pm$ 0.45 ^{DE}	
4	1	1	75	8.3	4.5 $\pm$ 0.47 ^{BCDE}	
5	-1.41	0	15	6.0	6.1 $\pm$ 0.18 ^{AB}	
6	1.41	0	85	6.0	5.8 $\pm$ 0.37 ^{ABC}	
7	0	1.41	50	2.0	3.7 $\pm$ 0.15 ^E	
8	0	1.41	50	10.0	5.0 $\pm$ 0.03 ^{ABCDE}	
9 (C)	0	0	50	6.0	4.7 $\pm$ 0.13 ^{BCDE}	
10 (C)	0	0	50	6.0	4.1 $\pm$ 0.30 ^{DE}	
11 (C)	0	0	50	6,0	4.8 $\pm$ 0.71 ^{ABCDE}	
12 (C)	0	0	50	6,0	5.2 $\pm$ 0.72 ^{ABCD}	
Coefficiente de variación (%)					8.7	

(% ESL): Extracto de antocianinas

El Cuadro 14, presenta la variable cuadrática del porcentaje relación maíz/yuca y variable lineal porcentaje extracto de antocianina fueron significativas a una $P < 0.10$, demostrando, que a medida que aumenta el porcentaje de extracto de antocianinas y disminuye el porcentaje relación de maíz/yuca aumenta la opacidad. El coeficiente de determinación R^2 , esta sobre 0.78, demostrando que 78% de los datos se ajustaron al modelo y 22% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste fue no significativa con un $P < 0.10$ y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento predictivo.

Cuadro 14. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la opacidad de un bioplástico

Factor	Opacidad	P	
Intercepto	4.69E+00	2.40E-04	*
X₁	-2.05E-01	2.88E-01	n.s
X₁²	4.81E-01	7.35E-02	*
X₂	4.05E-01	8.39E-02	*
X₂²	-2.79E-01	2.14E-01	n.s
X₁×X₂	-2.03E-01	4.34E-01	n.s
Falta de ajuste		4.95E-01	n.s
R²	0.78		
F. Calculado	39.68		
F. Tabular	3.40		

X₁: Relación maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a P<0.1

La figura 7, indica un aumento de opacidad cuando hay un aumento de porcentaje de extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca.

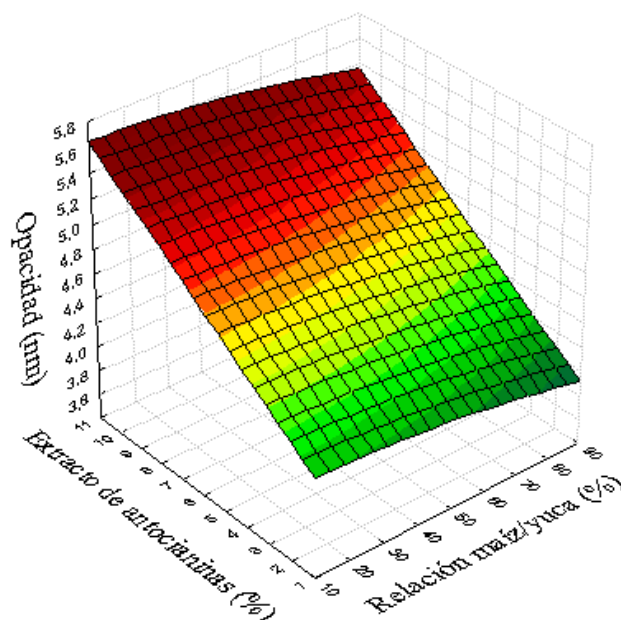


Figura 7. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la opacidad.

$$\text{Opacidad(nm)} = 4.69 + 0.48X_1^2 + 0.41X_2 \quad [13]$$

El grafico de superficie de respuesta figura 7, muestra una relación directamente proporcional entre la opacidad y la variable porcentaje de extracto de antocianinas ya que entre 9-10% de extracto de antocianinas la opacidad alcanza valores máximos entre 5.6-5.8%.

El almidón de yuca tiene mayor cantidad de amilopectina (83,4%) que el maíz de (77.7%) (Betancour 2001) por lo que tiende a formar agregados cristalinos, acompañados por un incremento gradual en la rigidez y opacidad. En este estudio pudo haber influido el porcentaje de extracto de antocianinas a la opacidad ya que en el tratamiento cinco obtuvo una opacidad máxima en algunos tratamientos ya que a menor porcentaje de relación de almidón de maíz/yuca 15% hay opacidad máxima de 6.1nm

Este estudio presentó mayor opacidad que el reportado por Muñoz (2014) en el que se obtuvo opacidad máxima de (5.18- 5.31nm) con porcentaje de almidón de yuca del 75% y glicerol de 40%. Farías (2012), reportó que al incremento de pulpa de acerola en bioplástico de almidón de yuca el valor de transmitancia de la luz fue menor por lo que la opacidad fue mayor. En este estudio pudo haber influido el porcentaje de extracto de antocianinas en la opacidad ya que en el tratamiento 5 se obtuvo una opacidad máxima de 6.1nm con 6% de extracto de antocianinas.

Fuerza de perforación (N). Este análisis determina la fuerza necesaria (N) que tiene que tener una sonda para perforar perpendicularmente el bioplástico, esta fuerza fue en función al desplazamiento que alcanza al deformarse hasta el punto donde ocurre la fuerza de ruptura (Vicentini 2003).

En el cuadro 15 se detallan los resultados del análisis de fuerza en la perforación (N) donde se encontraron valores desde 0.93 hasta 3.32 N.

Cuadro 15. Efecto de la combinación de porcentaje almidón de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la fuerza de perforación (N).

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles Reales		Fuerza de perforación N($\pm$ DE) [¥]
	Relación almidón maíz/yuca(%)	ESL (%)	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	
1	-1	-1	25	3.2	1.96 $\pm$ 0.4 ^{CDE}
2	-1	1	25	8.3	0.93 $\pm$ 0.46 ^F
3	1	-1	75	3.2	3.02 $\pm$ 0.88 ^{AB}
4	1	1	75	8.3	2.77 $\pm$ 0.86 ^{ABC}
5	-1.41	0	15	6.0	1.78 $\pm$ 0.32 ^{DEF}
6	1.41	0	85	6.0	1.41 $\pm$ 0.23 ^{EF}
7	0	-1.41	50	2.0	3.32 $\pm$ 0.34 ^A
8	0	1.41	50	10.0	0.93 $\pm$ 0.26 ^F
9 (C)	0	0	50	6.0	2.12 $\pm$ 0.33 ^{BCDE}
10 (C)	0	0	50	6.0	2.11 $\pm$ 0.37 ^{BCDE}
11 (C)	0	0	50	6.0	1.93 $\pm$ 0.57 ^{CBE}
12 (C)	0	0	50	6.0	2.71 $\pm$ 0.71 ^{ABC}
Coefficiente de variación (%)					25.49

(% ESL): Extracto de antocianinas

La variable lineal del porcentaje relación almidón de maíz/yuca y porcentaje extracto de antocianinas son significativas a una $P < 0.10$ (cuadro 16) demostraron un efecto de aumento en la fuerza de perforación a medida que aumenta el porcentaje relación almidón maíz/yuca y disminuye el porcentaje extracto de antocianina. La interacción entre ambas variables no fue significativa a una $P < 0.10$, lo cual indica que la variación en el valor de una de las dos variables no afecta en los valores de la otra (Molina y Rodrigo 2010).

Cuadro 16. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la fuerza de perforación de un bioplástico.

Factor	Fuerza de Perforación N	P	
Intercepto	2.22E+00	9.71E-04	*
X ₁	2.97E-01	8.98E-02	*
X ₁ ²	-2.34E-01	1.80E-01	n.s
X ₂	-5.82E-01	1.67E-02	*
X ₂ ²	3.13E-02	8.31E-01	n.s
X ₁ ×X ₂	1.95E-01	3.34E-01	n.s
Falta de ajuste		8.12E-02	*
R ²	0.61		
F. Calculado	7.91		
F. Tabular	3.11		

X₁: Relación almidón maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a P<0.1

El gráfico de superficie respuesta de la figura 8 para fuerza perforación, se hizo basado en la ecuación 14.

$$\text{Fuerza de perforación (N)} = 2.218 + 0,297X_1 - 0.582X_2 \quad [14]$$

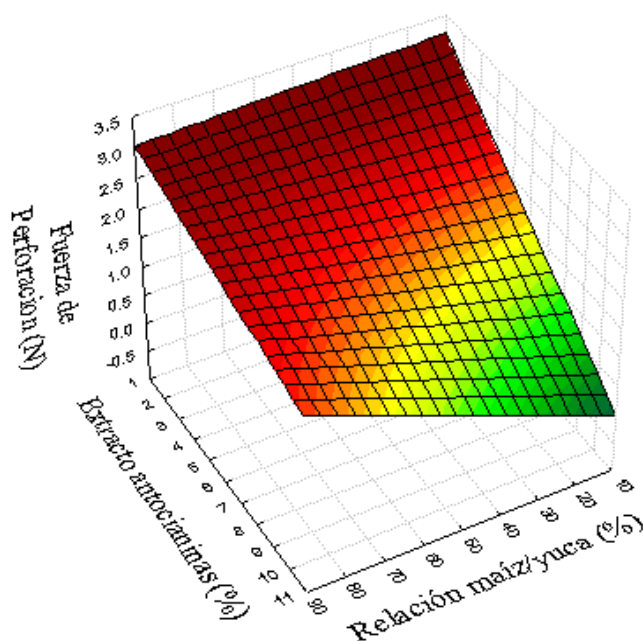


Figura 8. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la fuerza de perforación.

El coeficiente de determinación R^2 , es 0.61, demostrando que 61% de los datos se ajustaron al modelo y 39% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste fue significativa con un $P < 0.10$ y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento tendencioso (cuadro 16).

El gráfico de superficie respuesta de la figura 8 muestra una relación indirectamente proporcional, ya que a medida que disminuye el porcentaje de extracto de antocianina aumenta la fuerza de perforación alcanzando valores máximos entre (3.5 N) aproximadamente con porcentaje extracto de antocianina de (1-2%) y relación almidón de maíz/yuca del (90-80%).

A su vez, la fuerza de perforación será mayor cuando aumente el porcentaje relación almidón maíz/yuca. Comportamiento similar observado en el estudio de Farías (2012), en la elaboración de bioplásticos de almidón de yuca con pulpa de acerola, el aumento de pulpa de acerola tuvo como resultado una disminución en la fuerza de ruptura, alcanzado valores mínimos de (3.7 N) y máximos de (13.3N). Es decir, hay una reducción del 27%, en este estudio la reducción en fuerza de ruptura fue de un 25%.

En otro estudio realizado por Vicentini (2003) en elaboración de bioplásticos de almidón de yuca obtuvo una fuerza máxima de 4N y se observó una reducción en la fuerza de perforación con aumento de glicerol, en este estudio se utiliza una concentración de 46.24% de glicerol y nivel más alto de fuerza de perforación, es parecido al estudio de Muñoz (2014) que con el porcentaje relación de almidón maíz/yuca (90-100) alcanzó valores máximos de (3.5-4N). La fuerza de perforación depende de la cantidad de amilosa gelatinizada presente en el maíz que posee un 25% de amilosa a diferencia de la yuca con 17% amilosa. (Ospina y Ceballos 2002).

Con la amilosa la retrogradación resulta en la reducción de volumen, aumentando de firmeza del gel y sinéresis, lo que aumenta la fuerza de perforación. A su vez porcentaje extracto de antocianina puede considerarse un plastificante al estar glucosado en las posiciones 3, 5 y 7 por azúcares como fructuosa, glucosa, ramnosa y una disminución de éste afecta en la disminución de la fuerza de perforación. (Timberlake y Bridle 1975).

Monterrey (1998), observo que al aumentar la concentración de glicerina de 1,3 para 2% causo una reducción linear en la fuerza de perforación obteniendo valores de (8,02 a 6,03 N). Por lo que este estudio en comparación con otros es deficiente y se puede observar el efecto negativo del extracto de antocianinas al reducir la variable dependiente fuerza de perforación.

La deformación por perforación. La deformación es un parámetro que mide la capacidad de ceder de la película sin romperse, se relaciona con la fuerza y elasticidad (Alves 2013). En este estudio aumento la deformación por perforación a medida que incremento el porcentaje relación de almidón maíz/yuca y el porcentaje extracto de antocianinas.

En el cuadro 17, se detallan los resultados del análisis de deformación por perforación donde se encontraron valores desde 50.54 hasta 55.75%. El tratamiento con mayor

deformación por perforación fue el 4, éste tratamiento posee 75% relación almidón maíz/yuca, 46.24% de glicerol y 8.3% extracto de antocianinas.

Cuadro 17. Efecto de la combinación de porcentaje relación de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la deformación por perforación

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles Reales		Deformación por perforación %(±DE) [‡]
	Relación almidón maíz/yuca(%)	ESL (%)	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	
1	-1	-1	25	3.2	50.88±0.22 ^B
2	-1	1	25	8.3	51.00±1.83 ^B
3	1	-1	75	3.2	51.39±0.25 ^B
4	1	1	75	8.3	55.75±2.51 ^A
5	-1.41	0	15	6.0	50.94±0.22 ^B
6	1.41	0	85	6.0	50.87±0.15 ^B
7	0	-1.41	50	2.0	51.49±0.19 ^B
8	0	1.41	50	10.0	50.54±0.17 ^B
9 (C)	0	0	50	6.0	50.96±0.19 ^B
10 (C)	0	0	50	6.0	50.82±0.22 ^B
11 (C)	0	0	50	6.0	50.67±0.19 ^B
12 (C)	0	0	50	6.0	51.08±0.17 ^B
Coefficiente de variación (%)					1.79

(% ESL): Extracto de antocianinas

La variable lineal y cuadrática del porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/ yuca fue significativa a una $P < 0.10$ (cuadro 18) demostrando que el porcentaje extracto de antocianinas tiene efecto significativo que incrementa la deformación por perforación. La interacción entre ambas variables fue significativa a una $P < 0.10$, lo cual indica que la variación en el valor de una de las dos variables afecta en los valores de la otra. Se demuestra un efecto de aumento en la deformación por perforación con el incremento del porcentaje relación maíz/yuca y porcentaje extracto de antocianinas. El coeficiente de determinación R^2 , es 0.48, demostrando que 48% de los datos se ajustaron al modelo y 52% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste fue significativa con un $P < 0.10$ y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento tendencioso.

Cuadro 18. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la deformación por perforación.

Factor	Deformación por perforación	P	
Intercepto	5.09E+01	1.16E-08	*
X₁	6.45E-01	1.95E-03	*
X₁²	3.35E-01	1.73E-02	*
X₂	3.92E-01	8.22E-03	*
X₂²	3.90E-01	1.14E-02	*
X₁×X₂	1.06E+00	1.25E-03	*
Falta de ajuste		2.57E-02	*
R²	0.48		
F. Calculado	87.41		
F. Tabular	5.25		

X₁: Relación almidón maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a P<0.1

El gráfico de superficie respuesta de la figura 9 muestra una relación directamente proporcional, ya que a medida que aumenta el porcentaje de extracto de antocianina y el porcentaje relación almidón de maíz/yuca aumentó la deformación por perforación alcanzando valores máximos de (55 – 58%).

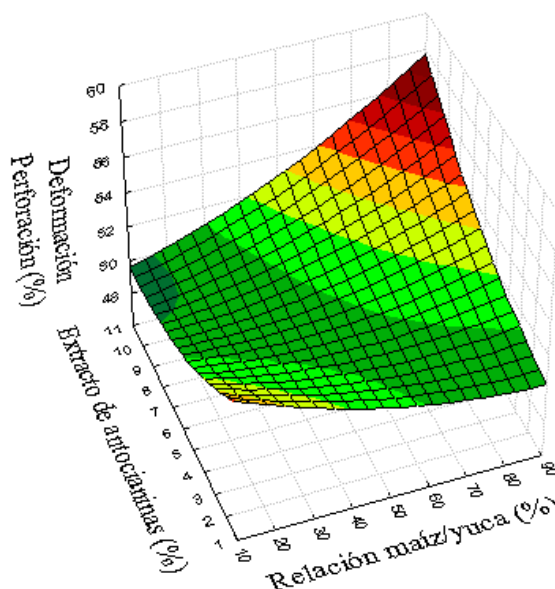


Figura 9. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la deformación por perforación.

El gráfico de superficie respuesta de la figura 9 para deformación por perforación, se hizo basado en la ecuación 15.

$$\begin{aligned} &\text{Deformación por perforación (\%)} \\ &= 50.883 + 0.645X_1 + 0.335X_1^2 + 0.392X_2 + 0.390X_2^2 + 1.060X_1 \times X_2 \quad [15] \end{aligned}$$

Farías (2012) en la elaboración de bioplástico de almidón de yuca con pulpa de acerola reportó que la deformación por perforación varió desde 4% hasta 5%. La variable pulpa fue significativa ($P < 0,05$), indicando poco aumento de la deformación por perforación con el aumento de porcentaje pulpa de acerola, esto debido a que el almidón de yuca le dio mayor resistencia y menor deformación.

Rojas *et al.* (2007) en filmes elaborados con puré de manzana, alginato y glicerol obtuvieron valores altos 51,06% para deformación por perforación a pesar de no tener almidón en su formulación.

Este estudio tiene la misma cantidad de glicerol para todos los tratamientos, se obtuvo que a mayor cantidad de extracto de antocianinas y mayor porcentaje de relación almidón maíz/yuca hubo mayor deformación en la perforación. La amilosa presente en mayor cantidad en el almidón de maíz pudo haber influenciado a que los bioplásticos tuvieran mayor deformación en perforación.

En el estudio reportado por Ditchfield *et al.* (2010), en elaboración de un bioplástico de almidón de yuca con extracto acuoso de uva, concluyeron que el extracto acuoso de uva pudo actuar como plastificante. Por lo que en este estudio el extracto de antocianina pudo haber actuado como plastificante.

El mecanismo de acción de los plastificantes envuelve la disminución de las fuerzas de Vander Waals que actúan entre las cadenas poliméricas disminuyendo la atracción intermolecular, aumentando la flexibilidad del bioplástico (Forini 2008).

Tensión. La tensión es la relación entre la fuerza y el área de la sección transversal inicial de la muestra. Expresado en MPa, N/m² o kgf/cm². Es un parámetro alternativo para caracterizar la resistencia (Sarantopoulos *et al.* 2002).

En el cuadro 19 se muestra que la tensión aumenta a medida que aumento la concentración de almidón maíz/yuca y el porcentaje extracto de antocianina. El tratamiento con mayor tensión fue el siete, que posee 50% relación almidón maíz/yuca, 46.24% de glicerol y 2% extracto de antocianinas.

En este estudio al tener la misma cantidad de plastificante 46.24% la tensión puede depender del extracto de antocianinas y de la cantidad de amilosa gelatinizada presente en el maíz el cual posee un 25% de amilosa a diferencia de la yuca con 17% amilosa (Ospina y Cevallos 2002). Con la amilosa la retrogradación resulta en la reducción de volumen, aumentando la firmeza del gel y sinéresis que aumentan la tensión. A diferencia del estudio reportado por Muñoz (2014) en el que a 46.24% de glicerol y 90% de relación almidón

maíz/ yuca reportó valores máximos en la tensión de 3 MPa y este estudio solo reportó valores máximos de 0.55 concluyendo que pudo haber sido influenciado por porcentaje de extracto de antocianina el cual redujo la tensión considerablemente.

Cuadro 19. Efecto de la combinación de porcentaje almidón de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la tensión por elasticidad.

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles Reales		Tensión MPa ($\pm$ D.E) [‡]
	Relación almidón maíz/yuca(%)	ESL (%)	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	
1	-1	-1	25	3.2	0.217 $\pm$ 0.07 ^C
2	-1	1	25	8.3	0.257 $\pm$ 0.11 ^{BC}
3	1	-1	75	3.2	0.442 $\pm$ 0.08 ^A
4	1	1	75	8.3	0.356 $\pm$ 0.08 ^{ABC}
5	-1.41	0	15	6.0	0.413 $\pm$ 0.06 ^{AB}
6	1.41	0	85	6.0	0.489 $\pm$ 0.06 ^A
7	0	-1.41	50	2.0	0.473 $\pm$ 0.9 ^A
8	0	1.41	50	10.0	0.256 $\pm$ 0.1 ^{BC}
9 (C)	0	0	50	6.0	0.406 $\pm$ 0.08 ^{AB}
10 (C)	0	0	50	6.0	0.335 $\pm$ 0.16 ^{ABC}
11 (C)	0	0	50	6.0	0.358 $\pm$ 0.08 ^{ABC}
12 (C)	0	0	50	6.0	0.381 $\pm$ 0.01 ^{ABC}
Coefficiente de variación (%)					24.58

(% ESL): Extracto de antocianinas

En el cuadro 20, las variables lineales del porcentaje relación almidón de maíz/yuca y porcentaje extracto de antocianinas son significativas a una $P < 0.10$ (Cuadro 20), se obtiene un aumento en la tensión a medida que aumenta porcentaje relación almidón maíz/yuca y disminuye el porcentaje extracto de antocianinas.

Cuadro 20. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la tensión

Factor	Tensión MPa	P	
Intercepto	3.70E-01	1.53E-04	*
X₁	5.39E-02	1.53E-02	*
X₁²	1.81E-02	2.31E-01	n.s
X₂	-4.41E-02	2.64E-02	*
X₂²	-2.52E-02	1.28E-01	n.s
X₁×X₂	-3.15E-02	1.31E-01	n.s
Falta de ajuste		4.01E-02	*
R²	0.60		
F. Calculado	13.41		
F. Tabular	3.11		

X₁: Relación almidón maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a P<0.1

El coeficiente de determinación R², esta sobre 0.60 (Cuadro 20) demostrando que 60% de los datos se ajustaron al modelo y 40% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste fue significativa con un P < 0.10 y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento tendencioso.

En la figura 10 se observa que a medida que disminuye el porcentaje de extracto de antocianina se obtienen valores altos de tensión alcanzado valores de (0.50 a 0.55 MPa) aproximadamente. Además, qué porcentaje relación almidón maíz/yuca incrementa el valor de tensión.

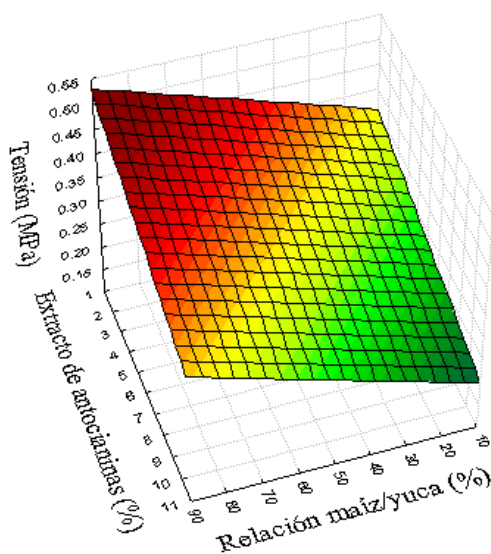


Figura 10. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la tensión.

El gráfico de superficie respuesta de la figura 10 para tensión, se hizo basado en la ecuación 16.

$$\text{Tensión (MPa)} = 0.370 + 0.054X_1 - 0.04X_2 \quad [16]$$

Este bioplástico mostró deficiencia a comparación de otros estudios, Ditchfield *et al* 2010, en la elaboración de un bioplástico de almidón de yuca con extracto acuoso de uva, reportaron que la tensión aumento a un máximo de 4MPa con menores concentraciones de extracto acuoso de uva y tuvo valores mínimos de 1.5 MPa a mayor cantidad de extracto acuoso de uva. Es decir que hubo una disminución de 37.5% de tensión.

En el presente estudio se obtuvo valores mínimos de (0.21MPa) y máximos de (0.55 MPa) por lo que el extracto de antocianinas disminuyó la tensión en un 38%. Farías (2012) reportó en la elaboración de un bioplástico con un valor mínimo de 30% pulpa de acerola una tensión máxima de 3.97 MPa. Sothornvit e Rodsamran (2000) en films elaborados con puré de mango obtuvieron una tensión de 1.2 MPa de tensión, Rojas *et al* (2007) encontraron una tensión de 2.90 MPa en bioplástico con puré de manzana, alginato y glicerol.

Wang *et al* (2003) observaron que en bioplástico de puré de zanahoria y carboximetilcelulose (CMC) con almidón de maíz, gelatina y glicerol, los resultados que varían de 5.06 a 11,73 MPa y se observa que la concentración de almidón de maíz mejora la tensión de los bioplásticos mientras que un aumento de glicerol reduce la tensión.

Deformación en la tensión. La deformación en la tensión es una relación entre la elongación de la muestra a la ruptura y su longitud inicial (Sarantopoulos *et al.* 2002). Esta aumentó a medida que aumento el porcentaje de relación de almidón maíz/yuca y el porcentaje extracto de antocianinas.

En el cuadro 21, se muestra que la deformación por tensión aumenta a medida que aumento la concentración relación de almidón maíz/yuca y disminuye el porcentaje extracto de antocianina. El tratamiento con mayor deformación por tensión fue el 6, éste tratamiento posee 85% relación almidón maíz/yuca, 46.24% de glicerol y 6% extracto de antocianinas.

El coeficiente de determinación R^2 (cuadro 22) está sobre 0.36, demostrando que 36% de los datos se ajustaron al modelo y 64% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste fue significativa con un $P < 0.10$ y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento tendencioso.

Cuadro 21. Efecto de la combinación de porcentaje relación de almidón de maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en la deformación en la tensión.

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles Reales		
	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	Deformación % ($\pm$ D.E) [‡]
1	-1	-1	25	3.2	7.17 $\pm$ 2.23 ^{ABC}
2	-1	1	25	8.3	6.14 $\pm$ 3.07 ^{BC}
3	1	-1	75	3.2	4.01 $\pm$ 1.01 ^C
4	1	1	75	8.3	7.33 $\pm$ 2.21 ^{ABC}
5	-1.41	0	15	6.0	8.75 $\pm$ 0.74 ^{AB}
6	1.41	0	85	6.0	10.72 $\pm$ 3.01 ^A
7	0	-1.41	50	2.0	8.74 $\pm$ 1.57 ^{AB}
8	0	1.41	50	10.0	7.61 $\pm$ 2.87 ^{ABC}
9 (C)	0	0	50	6.0	7.16 $\pm$ 1.67 ^{ABC}
10 (C)	0	0	50	6.0	5.61 $\pm$ 3.34 ^{BC}
11 (C)	0	0	50	6.0	6.10 $\pm$ 1.15 ^{BC}
12 (C)	0	0	50	6.0	5.93 $\pm$ 0.45 ^{BC}
Coefficiente de Variación (%)					28.55

(% ESL): Extracto de antocianinas

La variable cuadrática del porcentaje relación almidón de maíz/yuca y la variable interacción entre las variables independientes fue significativa a una $P < 0.10$ (Cuadro 22) demostrando que se obtiene un aumento en la deformación en la tensión a medida que aumenta el porcentaje de relación de almidón maíz/yuca y porcentaje extracto de antocianina.

Cuadro 6. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en la deformación en la tensión

Factor	Deformación	P	
Intercepto	6.20E+00	3.43E-04	*
X₁	1.00E-01	7.00E-01	n.s
X₁²	1.07E+00	2.72E-02	*
X₂	8.63E-02	7.39E-01	n.s
X₂²	2.89E-01	3.54E-01	n.s
X₁×X₂	1.09E+00	4.71E-02	*
Falta de ajuste		2.57E-02	*
R²	0.36		
F. Calculado	19.26		
F. Tabular	3.11		

X₁: Relación almidón maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a P<0.1

En la figura 11, se observa que a medida que aumenta el porcentaje de extracto de antocianina se obtienen valores altos de porcentaje de deformación en la tensión, alcanzando valores de (8%) aproximadamente. Además, se observa que el aumento del porcentaje relación maíz/yuca incrementa el valor del porcentaje de deformación en la tensión. El gráfico de superficie respuesta de la figura 11, para deformación en la tensión, se hizo basado en la ecuación 17.

$$\text{Deformación en la tensión (\%)} = 6.200 + 1.070 X_1^2 + 1.090 X_1 \times X_2 \quad [17]$$

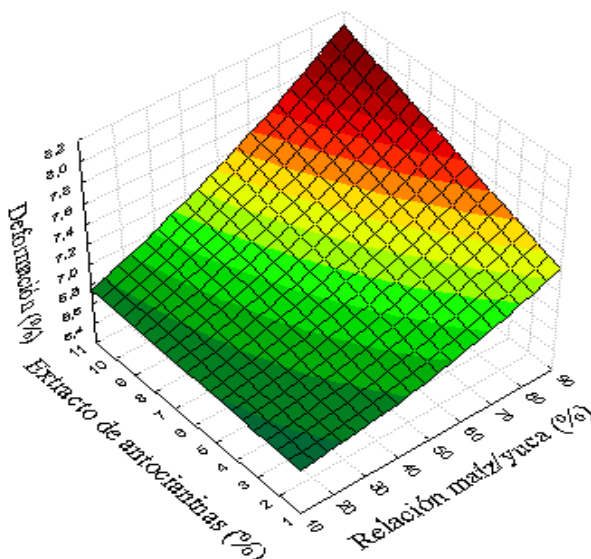


Figura 11. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en la deformación en la tensión.

Chariguaman (2015) en su estudio obtuvo mayor deformación en la tensión al aumentar almidón de maíz y atribuyó ese resultado al contenido de amilosa 25% en almidón de maíz (Box y Drapper 1959) que puede afectar al porcentaje de deformación por tensión ya que puede formar bioplásticos más firmes debido a la orientación paralela de las cadenas macromoleculares que le permite formar enlaces de hidrógeno entre grupos hidroxilos de polímeros adyacentes

Farías (2012) reportó una deformación por tensión entre 23.11 a 44.64% en bioplástico con pulpa de acerola y almidón de yuca. En donde a un aumento de concentración de pulpa y glicerol aumentan la deformación por tensión de los bioplástico, esto fue atribuido a la capacidad del glicerol de reducir las interacciones entre las cadenas poliméricas, disminuyendo la resistencia de los filmes y aumentando la flexibilidad. A su vez el aumento de glicerol aumenta el volumen libre entre las cadenas poliméricas, facilitando o aumentando la deformación en tensión de los bioplástico.

Estudios atribuyen un aumento en la deformación en la tensión al aumento de glicerol o plastificante como los reportados por Muñoz (2014) en un bioplástico con almidón de maíz y yuca donde el mejor tratamiento alcanzo una deformidad del 78% y poseía 60% de glicerol.

En este estudio se utilizó 46.24% de glicerol para todos los tratamientos por lo que se puede deber a que el extracto de antocianinas pudo actuar como plastificante (Timberlake y Bridle 1975) en su libro anthocyanins as a natural food color concluye que el porcentaje extracto de antocianina al estar glucosadas por diferentes azúcares en posiciones 3, 5 y 7 por glucosa, arabinosa, galactosa y ramnosa que son azúcares más comunes ligadas a las antocianinas pueden actuar también como plastificantes.

Wang *et al.* (2003), observaron en bioplástico de puré de zanahoria, carboximetilcelulosa, almidón de maíz y glicerol, que la deformación por tensión fue más elevada a concentraciones de glicerol altas y un aumento en almidón de maíz, también elevo la deformación en la tensión. Similar a lo que identificó Vicentini (2003) en bioplásticos con almidón de yuca, un aumento en la deformación de 3.28% a 7.34% con aumento del glicerol.

Sothornvit *et al.* (2000) en bioplásticos con puré de mango obtuvieron una deformación máxima de 18.5% como resultado del aumento de puré de mango. Por lo que este estudio resulto muy deficiente en cuando a deformación en la tensión con respecto a otros estudios. Pero se concluye que el extracto de antocianinas pudo aumentar la deformación.

Módulo de elasticidad. Es considerado uno de los indicadores de rigidez de las películas biodegradables y cuando más alto el módulo más rígido el material (Oliveira *et. al* 1996). Mano y Mendes (1999) definen el módulo de elasticidad como la razón entre la tensión y la deformación dentro del límite elástico, en el que la deformación es totalmente proporcional a la tensión. El módulo de elasticidad, aumento a medida que incremento el porcentaje relación de almidón maíz/yuca y el porcentaje de extracto de antocianinas.

Este estudio tiene la misma cantidad de glicerol 46.24% para los 12 tratamientos, pero las antocianinas pudieron actuar como plastificantes en la elaboración de bioplástico. Lima *et al.* (2007) concluyeron que al incrementar de sorbitol en 30%, se redujo las interacciones entre las moléculas del almidón y glicerol en la matriz, aumentando el volumen libre entre las cadenas, provocando una disminución del módulo de elasticidad.

En el cuadro 23, se muestra el módulo de elasticidad que aumenta a medida que aumento la concentración relación de almidón maíz/yuca y disminuye el porcentaje extracto de antocianina. El tratamiento con mayor módulo de elasticidad fue el 3, éste tratamiento posee 75% relación almidón maíz/yuca, 46.24% de glicerol y 3.2% extracto de antocianinas.

La variable lineal y cuadrática de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación de almidón maíz/yuca fue significativa a una $P < 0.10$ (Cuadro 24). Demostrando que a medida que disminuye el porcentaje extracto de antocianinas se incrementa el valor de la variable dependiente. La interacción entre ambas variables fue significativa a una $P < 0.10$, lo cual indica que la variación en el valor de una de las dos variables afecta en los valores de la otra.

Cuadro 23. Efecto de la combinación de porcentaje relación almidón maíz/yuca, y porcentaje extracto de antocianinas en el módulo de elasticidad.

Tratamientos	Niveles codificados		Niveles Reales		Módulo de Elasticidad MPa ($\pm$ D.E) [¥]
	Relación almidón maíz/yuca(%)	ESL (%)	Relación almidón maíz/yuca (%)	ESL (%)	
1	-1	-1	25	3.2	0.03 $\pm$ 0.004 ^E
2	-1	1	25	8.3	0.04 $\pm$ 0.006 ^{CDE}
3	1	-1	75	3.2	0.11 $\pm$ 0.02 ^A
4	1	1	75	8.3	0.05 $\pm$ 0.006 ^{BCDE}
5	-1.41	0	15	6.0	0.05 $\pm$ 0.005 ^{BCDE}
6	1.41	0	85	6.0	0.05 $\pm$ 0.003 ^{BCDE}
7	0	-1.41	50	2.0	0.06 $\pm$ 0.009 ^{BCD}
8	0	1.41	50	10.0	0.04 $\pm$ 0.013 ^{DE}
9 (C)	0	0	50	6.0	0.06 $\pm$ 0.003 ^{BC}
10 (C)	0	0	50	6.0	0.06 $\pm$ 0.011 ^{BC}
11 (C)	0	0	50	6.0	0.06 $\pm$ 0.01 ^{BC}
12 (C)	0	0	50	6.0	0.07 $\pm$ 0.007 ^B
Coefficiente de variación (%)					19.20

(% ESL): Extracto de antocianinas

El R^2 , esta sobre 0.70 (Cuadro 24), demostrando que 70% de los datos se ajustaron al modelo y 30% no fueron explicados mediante este análisis. La falta de ajuste fue significativa con un $P < 0.10$ y el F calculado fue mayor al F tabular, por lo tanto, el modelo presentó un comportamiento tendencioso

Cuadro 24. Coeficientes de regresión y probabilidades (P) de un modelo de regresión polinomial aplicado en el módulo de elasticidad.

Factor	Módulo de elasticidad	P
Intercepto	6.13E-02	3.43E-04 *
X₁	1.09E-02	7.00E-01 *
X₁²	-4.00E-03	2.72E-02 *
X₂	-1.02E-02	7.39E-01 *
X₂²	-4.75E-03	3.54E-01 *
X₁×X₂	-1.93E-02	4.71E-02 *
Falta de ajuste		2.57E-02 *
R²	0.70	
F. Calculado	41.70	
F. Tabular	5.25	

X₁: Relación almidón maíz/yuca, X₂: Extracto de antocianinas.

n.s = no significativo, *= significativo a $P < 0.1$

En la figura 12, se observa un valor máximo de módulo de elasticidad entre (0.12-0.14) aproximadamente con el incremento de porcentaje relación almidón maíz/yuca y disminución en el porcentaje extracto de antocianinas.

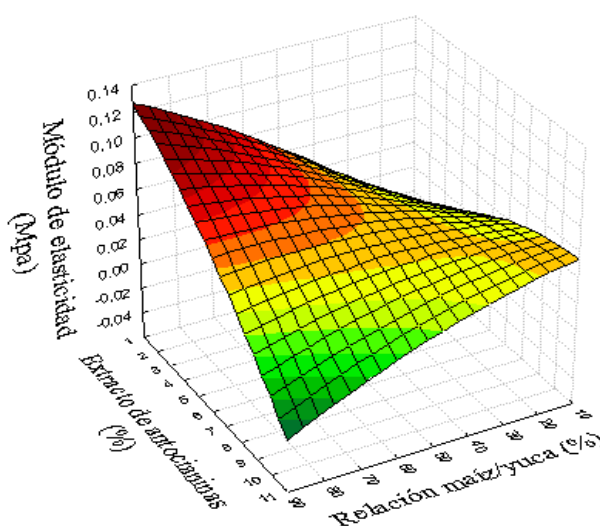


Figura 12. Efecto de porcentaje extracto de antocianinas y porcentaje relación almidón maíz/yuca en el módulo de elasticidad.

El gráfico de superficie respuesta de la figura 12 para módulo de elasticidad, se hizo basado en la ecuación 18.

Módulo de elasticidad (%)= $0.061+0.011X_1 - 0,004X_1^2 - 0.010X_2 - 0.005X_2^2 - 0,019X_1 \times X_2$ [18]

En el gráfico de superficie de respuesta figura 12, muestra una relación indirectamente proporcional para la variable porcentaje extracto de antocianina ya que a medida que aumenta, desciende el módulo de elasticidad, mientras que para el porcentaje relación almidón de yuca/maíz fue directamente proporcional, cuando aumenta el módulo de elasticidad alcanzando valores máximos de (0.14MPa).

Konczack y Zhang (2004), observaron un efecto anti plastificante en el módulo de elasticidad que a bajos contenidos (10-20%) de glicerol el módulo de elasticidad fue alto y cuando el contenido de glicerol aumentaba a más del 30% el módulo de elasticidad decrecía significativamente en bioplásticos de proteína de soja.

En el estudio reportado por Ditchfield *et al.* (2010) a mayor extracto acuoso de uva, el módulo de elasticidad aumentó a un máximo de 115% con menores concentraciones de extracto acuoso de uva y obtuvo valores mínimos de 65% a mayor cantidad de extracto acuoso de uva. Es decir que hubo una disminución de 56.5% del módulo de elasticidad. En el presente estudio se obtuvo valores mínimos de (0.03%) y máximos de (0.1%) observándose que un aumento en porcentaje extracto de antocianinas disminuyó el módulo de elasticidad en un 30%. Mientras que a mayor porcentaje relación de almidón maíz/yuca mayor fue el módulo de elasticidad. La amilosa puede formar bioplásticos más firmes debido a la orientación paralela de las cadenas macromoleculares que le permite formar enlaces de hidrógeno entre grupo hidroxilos de polímeros adyacentes (Chariguaman 2015). Generando bioplástico con mayor deformación en la tensión y mayor tensión los cuales forman el módulo de elasticidad.

Función de utilidad. En la figura 13, se muestran los valores óptimos de las variables independientes sobre las diferentes respuestas bajo las restricciones de una baja espesura, opacidad alta, módulo de elasticidad alto, tensión alta, deformación en la tensión alto, fuerza de perforación alta y deformación por perforación alto se determinó un 6%(v/v) de extracto de antocianina en una proporción de 50:50 de almidón de maíz/yuca y 46.24% (p/v) de glicerol.

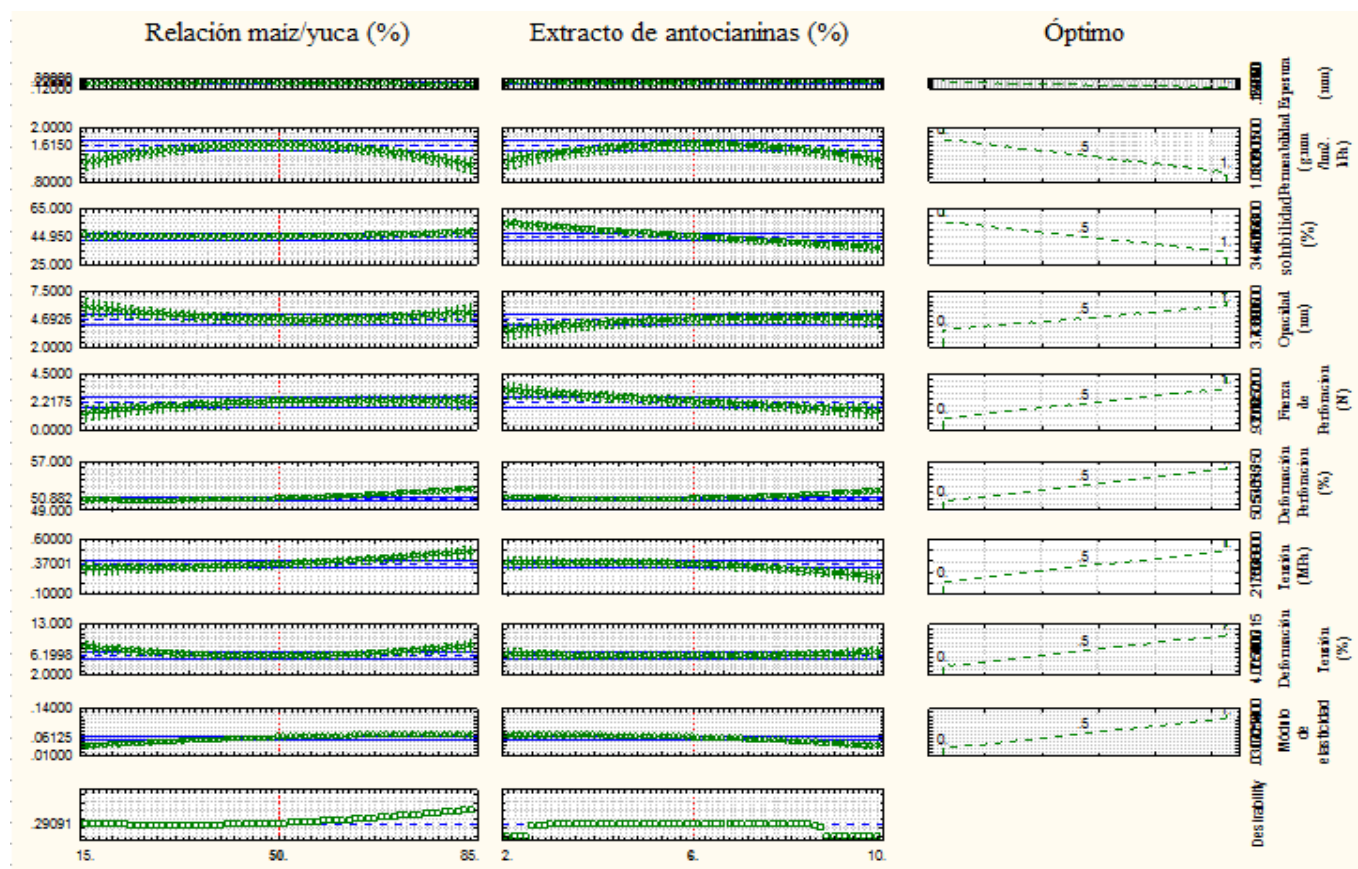


Figura 13. Valores óptimos de las variables independientes sobre las propiedades mecánicas, opacidad y de barrera de un bioplástico de almidón de maíz, yuca con extracto de antocianina de repollo morado.

4. CONCLUSIONES

- Los bioplásticos de almidones con antocianinas de repollo morado presentaron una tendencia a disminuir color (L^* , a^* , b^*) en el transcurso del tiempo durante almacenamiento de cortes de tilapia (*Oreochromis niloticus*) a temperatura monitoreada de $(24 \pm 2) ^\circ\text{C}$ y $(52 \pm 2) \% \text{ HR}$ durante dos días.
- Se elaboró cuatro modelos matemáticos predictivos (espesor, opacidad, solubilidad, permeabilidad al agua) y cinco de carácter tendencioso (Fuerza en la perforación, deformación por perforación, tensión, deformación en la tensión y módulo de elasticidad).
- Se determinó que la combinación de 50:50% relación almidón de maíz, yuca y 6%(v/v) extracto de antocianinas y 46,24% glicerol (p/v) optimizarán todas las variables físicas y de barrera del bioplástico.

5. RECOMENDACIONES

- Probar el óptimo en otras matrices cárnicas o con cantidad de grasa alta para conocer si tiene potencial en reconocimiento de pH ácido y probar el óptimo a diferentes condiciones de luz, temperatura y evaluar su efecto en el cambio de color del bioplástico.
- Purificar el extracto por medio de una columna carbono activado y cuantificar por el método de cromatografía líquida.
- Hacer pruebas reológicas de la optimización y evaluar su vida útil. y validar el cambio de color utilizando un tratamiento control para el óptimo.
- Cuantificar cantidad de vitamina A que puede contener el bioplástico óptimo para futuro uso como recubrimiento comestible.
- Inocular un cultivo de pseudomonas en pescado a diferentes temperaturas para cuantificar la producción de nitrógeno básico volátil total (NBVT) y probar el óptimo para determinar cambio de pH según la producción de aminas volátiles.

6. LITERATURA CITADA

Alves T. 2013. Caracterización física y química de bioplásticos elaborados por extrusión termoplástica reforzados con cascara de maracuyá. Tesis PhD. Tecnología de alimentos. Brasil, Universidad de Rio de Janeiro.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) 1995. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting (D 828-95a) In: Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM) 1989. Standard test methods for water vapor transmission of materials (E96-80) In: Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: ASTM, p. 730–739.

Arenas M. 2012. Filme biodegradable a base de fécula de mandioca como potencial indicador de mudanza de pH [Tesis]. Escuela Politécnica de Sao Paulo- Brasil. 50-150 p.

Avella M, De Vlieger J, Errico M, Fischer. 2005. Biodegradable starch/clay nanocomposite film for food packaging applications, Food chemistry. Vol. 93: 467-474.

Bertuzzi, M.A, E.F. Castro, M. Armada, and J.C. Gottifredi. 2007. Water vapor permeability of edible starch based films. Journal of Food Engineering, V. 80, 972–978 p.

Betancour D. 2001 Caracterización Molecular, Nutricia y Funcional de Almidones de *Phaseolus lunatus* y *Mucuna pruriens*. México. [Tesis]. (Doctorado en Ciencias, Alimentos), Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. 50p.

Bourtoom, T, Chinnan M, Jantawat P, Sanguandeeikul R. 2006. Effect of select parameters on the properties of edible film from water-soluble fish proteins in surimi washwater. Lebensmittel Wissenschaft & Technologie. 39: 405–418.

Box G y Draper N. 1959. A basis for the Selection of a Response Surface Design. Journal of the American Statistical Association. [accessed 2016 June 05] 54(287): 622-654. [eng. http://www.mathstat.ualberta.ca/~wiens/stat578/papers/Box%20&%20Draper.pdf](http://www.mathstat.ualberta.ca/~wiens/stat578/papers/Box%20&%20Draper.pdf).

Cao N, Fu Y, He J. 2007. Food Hydrocolloids, Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. Elsevier. 21:53- 62.

Cevallos N. 2015. Efecto de la adición de semillas de chía (*Salvia hispanica L.*) en las características físicas, químicas y sensoriales del yogur natural [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. 42 p.

Chariguamán J. 2015. Caracterización de bioplástico de almidón elaborado por el método de casting reforzado con albedo de maracuyá (*Passiflora edulis* spp.) [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano- San Antonio de Oriente. 60 p.

Chan S, Yao M, Wong Y, Wong T, Mok C, Sin D. 2006. Evaluation of chemical indicators for monitoring freshness of food and determination of volatile amines in fish by headspace solidphase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Food Res Technol.* [accessed 2016 june 15]. 224: 67-74. eng. doi: 10.1007/s00217-006-0290-4.

Chen B, Evans J. 2005. Thermoplastic starch-clay nanocomposites and their characteristics. *Carbohydrate Polymers.* Elsevier. [accessed 2016 june 19]. 61: 455-463. eng. doi: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.472.9259&rep=rep1&type=pdf>

Cho S and RheeC. 2004. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. *Lebensmittel-Wissenschaft Und- Technologie.* 37(8): 833–839.

Chun H, Kim B, Shin H. 2013 Evaluation of a Freshness Indicator for Quality of Fish Products during Storage *Food Sci. Biotechnol*[accessed 2016 July 15]<http://sci-hub.cc/10.1007/s10068-014-0235-9>

Crippa, A. 2006. Estudo do desempenho de films multicamadas em embalagens termoformadas. [Tesis]. Pós-Graduacao em Engenharia e Ciencia dos Materiais, Curitiba, Brasil, Universidad Federal do Paraná. 136-140.

Curran C. 1986. Cold shock reactions in iced tropical fish. *Journal of Food Technology*, vol. 21, 289–299.

Dainelli D. 2008. Active and intelligent food packaging. Legal aspects and safety concerns. *Trends in Food Science and Technology.* 19(103):112.

Ditchfield C, Veiga P, Tadini C. 2010. Development and evaluation of a novel indicator biodegradable film based on cassava starch Elsevier. [accessed 2016 July 29] 25(3): 207-225. eng. doi: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.33255/abstract>

Farias M. 2012. Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*malpighia emarginata* d.c.) [tesis]. Universidade Estadual de Campinas. Pág.5

Ferreira, A. 1986. Novo Dicionario de Lingua Portuguesa, 2da Ed. Sao Paulo (Brasil): Editora nova Frontera [accessed 2016 Jan 23]. <http://www.dicionario-aberto.net/dict.pdf>

Food and Agriculture Organization (FAO). 2009. Métodos mejorados para la manipulación del pescado fresco [internet]. H. H. Huss. Dinamarca. [accessed 2016 June 09]. <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s08.htm#TopOfPage>

Forini S. 2008. Estudo da dispersão e incorporação de argilas de esmectite em plastisol [Tesis]. Escola Politécnica de São Paulo- Brasil. 114 p.

Franco C, Daiuto E, Demiate I, Carvalho L, Leonel M, Vilpoux S. 2001. Propriedades S.B.S fazer amido, em. propriedades. minas. fazer amido. Série. culturas de, campinas latino-americanos ricos em amido tuberosa. Função Cargill. SciELO. 1: 141-184.

Frich A. 2015. Les espaces couleurs [internet]. [accessed 2015 August 02]. <http://www.guide-gestion-des-couleurs.com/les-espaces-couleurs.html>

Gontard N. 1991. Films the enrobages comestibles: etude amelioration des proprietes filmogenes du gluten [Tesis]. Universite Des Sciecons Et Techniques Du Languedoc, Montpellier. 174 p.

Gontard N, Guilbert S, Cuq J. 1993. Water and glicerol as plasticizers effect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. Journal of Food Science. 58(1): 206-211.

Heising JK, Dekker M, Bartels PV, Boekel MAJS.(2011) A nondestructive ammonium detection method as indicator for freshness for packed fish: Application on cod. J. Food Eng. 110: 254-261

Huss H.H., Dalgaard P, Gram L. 1997. Microbiology of fish products in J.B.Luten; T. borresen, J. Oehlenschlager (eds) proceedings of seafood from producer to consumer, integrated approach to quality: 25th WEFTA international seafood conference, Amsterdam , The Netherlands. Elsevier. 38: 413-430.

Kerry J.P. y Grady M. N 2006 Past current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle based products. A review. Meat Sciencie, v 74, p 113-130.

Konczack I, Zhang W. 2004. Anthocyanins-more than nature's colours. Journal Biomedical and Biotechnology. 5: 239-240.

Lahiry, N.L: Moorjani, M.N; Baliga , B.R .1963 Factores inencing the kkeeping quality of fresh o water fish in ice food techology. v17:123-125

Laohakunjit N, Noomhorm. 2004. Effect of Plasticizers on Mechanical and Barrier properties of Rice Starch film. Starch/Stärke, s.[accessed 2016 July 28 (67)I. 56:348-356 eng. onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/star.200300249/abstract

Lima, A. M. F., Andreani, L., Soldi, V. 2007. Influencia da adicao de plastificante e do proceso de reticulacao na morfologia, Absorcao de agua e propiedades mecánicas de filmes de alginato de sódio. Quimica Nova, 30(4):832-837

Lopez-Rubio. A; Almenar E, Hernandez P. 2004 Overview of active polymer based packaging technologies for food applications. Food Review International v (8). 367-387.

Mali S, Karam L, Ramos L, Grossman M. 2004. Relationship among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. *Journal of agricultural and Food Chemistry*. (52): 7720-7725.

Mano, E., Mendes, L. 1999. Avaliação das propriedades dos polímeros. In: introdução A polímeros. Editora Edgard Blucher Ltda. São Paulo, Brasil. p 58-64 .

Mazza G, Brouillard R. 1987. *Food Chemistry*. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. Elsevier. [accessed 2016 July 12] 25(3): 207-225. eng. doi: [10.1016/0308-8146\(87\)90147-6](https://doi.org/10.1016/0308-8146(87)90147-6).

Moldovan B, David L, Chişbora C, Cîmpoi C. 2012. Degradation kinetics of anthocyanins from european cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) fruit extracts. Effects of temperature, pH and storage solvent. *Molecules*. [accessed 2016 July 18]. 17(10): 55-66. eng. doi:[10.3390/molecules171011655](https://doi.org/10.3390/molecules171011655).

Molina G, Rodrigo M. 2010. Estadísticos de asociación entre variables [Internet]. Valencia – España. [accessed 2016 Sept 05]. Available from: http://ocw.uv.es/ciencias-de-la-salud/pruebas-1/1-3/t_08-1.pdf.

Monterrey-quintero E. S. Caracterização físico-química de proteínas miofibrilares e elaboração de biofilmes. 1998. Dissertação (Mestrado) [Tesis]. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga.. 83p

Müller, C., Yamashita, F. y Laurindo, J., 2009 Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films, *Food Hydrocolloids*: 23(5), 1328-1333

Muñoz J. 2014. Evaluación, caracterización y optimización de un bioplástico a partir de la combinación de almidón de maíz, yuca y glicerol en sus propiedades físicas y de barrera [Tesis]. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano- San Antonio de Oriente. 30 p.

Navia D, Ayala. A, Villada A; 2014. Adsorción de Vapor de Agua de Bioplásticos Elaborados con Harina de dos Variedades de Yuca (*Manihotesculenta Crantz*). [accessed 2016 July 22] 67(10) 3-4. http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642014000600004

Oliveira L, Alves R, Sarantopoulis, Padula M, García E, Coltro L. 1996. Ensaios para avaliação de embalagens plásticas e flexíveis. Centro de Tecnologia de Embalagem- Campinas. 216 p.

Ospina B, Ceballos H 2002. La Yuca en el Tercer Milenio: Sistemas Modernos de Producción, 2da Ed. Cali (Colombia): Editora CIAT [accessed 2016 Jan 29]. ciat-library.ciat.cgiar.org:8080/jspui/bitstream/.../La_Yuca_en_el_Tercer_Milenio.pdf Pr

- Pacquit A, Frisby J, Diamond D, Lau K, Farrella A, Quilty B. 2006. Food chemistry. Development of smart packaging for the monitoring of fish spoilage. Elsevier. 102(2): 466-470.
- Riverio E, Seravalli A. 2004. Química de alimentos Instituto Mauá de tecnologia ed. Edgard Blucher. Ltda. 1ª. edición. 58-63.
- Rocha, G. O. 2009. Obtencao e caracterizao de films biodegradáveis a partir de misturas de amido de amndioca e extrato protéico de soja. [Tesis], Programa de pos-graduación en Ciencias e Tecnoligia de Alimentos, Rio de Janeiro, Brasil, Uiversidad Federal Rural do Rio de Janeiro, 45 p
- Rodríguez M y Lemma A. 2012. Diseño experimental y optimización de procesos. Campinas (Brasil): Editora Cárita. p 357-370 .
- Rojas M., Avena R, Olsen C, Friedma M, Henika P, Martin O, Pan Z, Mchugh T. 2007. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. Journal of Food Engineering (81). p634-641..
- Sales R, Oliveira J, Costa F. 1988. Avalidación del estado de frescura del pescado capturado en agua dulce y sometido a refrigeración. (Brasil) Editorial UFMG., 19(2):109-115.
- Sarantópoulos, C. Oliveira, L. M.; Padula, M 2002. Factores que afectar a cor das carnes Colata-ea Ial. Campinas (Brasil) Editorial PROED. 20(1): 12 p.
- Shen X. L.; Wu J. M.; Chen Y.; Zhao G. 2010. Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan Food Hydrocolloids [accessed 2016 Jan 29] v24, 285.eng.. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X09002070>.
- Shiku Y, Hamaguchi S, Benjakul W, Visessangua, Tanaka M. 2004. Effect of surimi quality on properties of edible films based on alaska pollack. Food Chemistry. 86(4). 493–499 p.
- Smolander M, Sikam M. 1997. Package for Decayable Foodstuffs PCT, International Patent Application 98/21120 Research, Espoo, Finland. 240(3).98-103p.
- Sobral, P. J. A.; 2000 Characterization of Some Funtional Properties of Edible films Based on Muscle proteins of Nile Tilapia. Food Hydrocolloid. 17(4):419-427..
- Sothornvit, R.; Krochta, J. M., 2000; J. Plasticizer effects on Oxygen permeability of lactose films, J .Agric. Food Chem. C- 48, 6298-6302.
- Soto J, Candelas M. 2007. Isoterma de porción a diferentes temperaturas para el higo variedad misión. Universidad Juárez- Durango, México. 594-598.

Talja R, y Jouppila K. 2007. Effect of various polyols and polyol content on physical and mechanical properties of potato starch-based edible films. *Carbohydrate polymers*. 71: 269-295.

Timberlake C, Bridle P. 1975. The anthocynins in harbone. J.B (ED) *The flavonoids*. London. chapman y hall ltd. 215-66 p.

Vicentini N. 2003. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita [Tesis]. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- Botucatu, SP. 198 p.

Wang, X.; Yang, K.; Wang, Y.; J. 2003 Apple Polymer. *Food Res Technol*. [accessed 2016 June 29]. *Sci.v* .43, 385 doi: 10.1008/s00217-006-0290-4

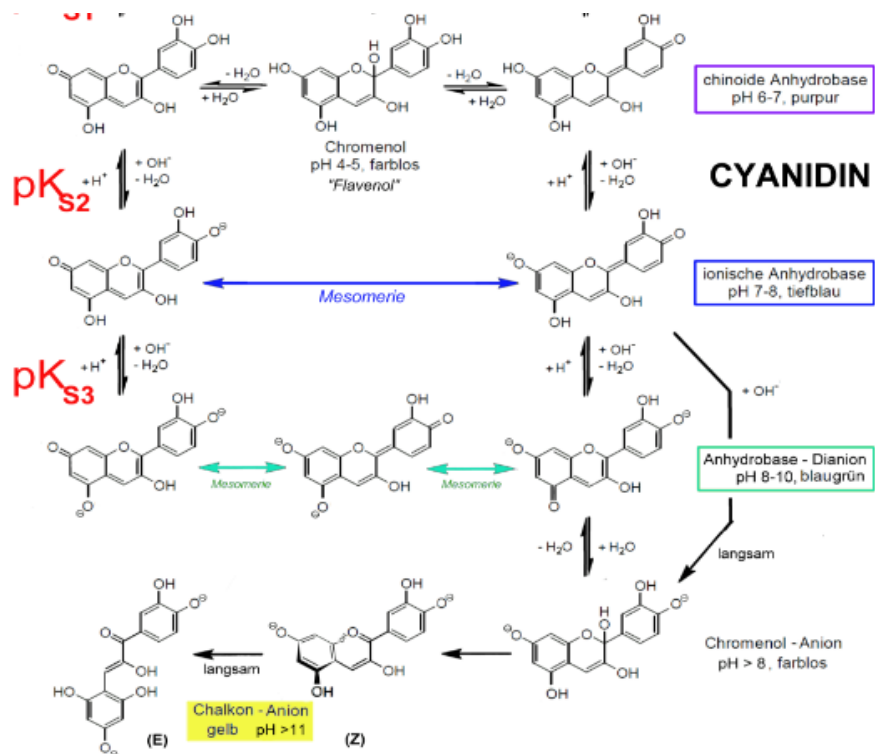
Wiczowski W, 2012. Profile, Isolation, Identification antioxidant activity. *Food Res Technol*. [accessed 2016 Septemberr28]. 224: 67-74. [dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.02.011](https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.02.011)tator.

Yamashita F. Nakagawa G, Veiga S, Mali M, Grossmann. 2005. Filmes biodegradáveis para aplicação em frutas e hortaliças minimamente processadas. *Brazil. J. Food Technol*. 8(4): 335-343

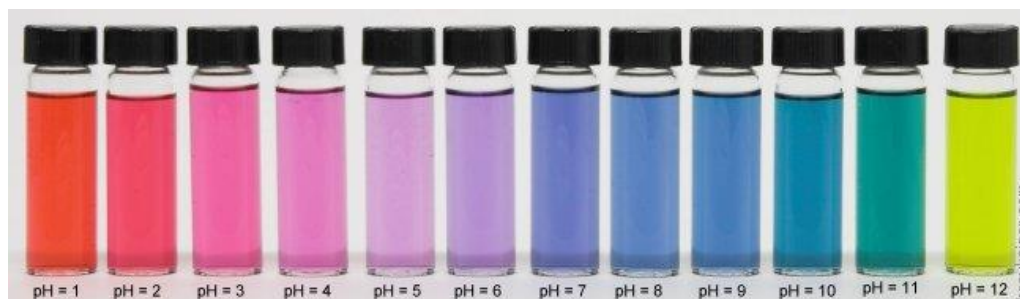
Zapata L. 2014. Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria [Tesis]. Universitat Politècnica de Valencia- Valencia. 204 p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Cambios posibles de la estructura de cianidina a diferente pH. (Rossi, 2002).



Anexo 2. Red cabbage pH series.



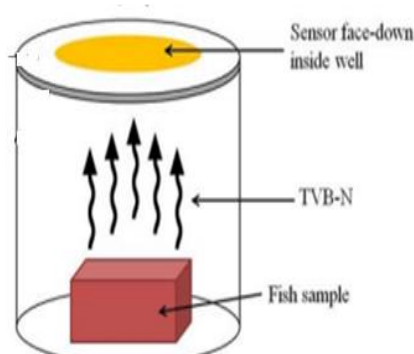
Anexo 3. Cambios de color en bioplástico de almidón de maíz, yuca con antocianinas de repollo morado a temperatura monitoreada de $(24 \pm 2) ^\circ\text{C}$ y $(52 \pm 2) \%$ HR, durante el almacenamiento de cortes de tilapia.

Tratamientos	Día 0	Día 1	Día 2
2% ESL			
6% ESL			
10%ESL			

Anexo 4. Color en el día 2 de los bioplásticos de almión de maíz, yuca con antocianinas de repollo morado a temperatura monitoreada de $(24 \pm 2) ^\circ\text{C}$ y $(52 \pm 2) \%$ HR, durante el almacenamiento de cortes de tilapia.

TRATAMIENTO (2% ESL)	TRATAMIENTO (6% ESL)	TRATAMIENTO (10% ESL)
		

Anexo 5.Representación gráfica de la metodología para indicadores de frescura de (Chun *et al.* 2013)



Anexo 6.Perfil de antocianinas en repollo morado (Wiczakowsk 2012)

Peak	Compounds	Abbreviation	λ_{vis} (nm)	λ_{acyl} (nm)	$E_{acyl}/$ E_{vis} (%) ^a	[M] ⁺ (m/z)	MS/MS (m/z)	mg Cy/g dm ^b
1	Cyanidin-3-diglucoside-5-glucoside	Cy3diG5G	513	x	x	773	611/449/287	0.58
2	Cyanidin-3-glucoside-5-glucoside	Cy3G5G	512	x	x	611	449/287	0.06
3	Cyanidin-3-(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(sin)diG5G	527	330	56	979	817/449/287	0.12
4	Cyanidin-3-(sinapoyl)-triglucoside-5-glucoside	Cy3(sin)triG5G	525	321	53	1141	979/449/287	0.03
5	Cyanidin-3-(caffeoyl)(p-coumaroyl)-diglucosides-5-glucoside	Cy3(caf)(p-cum)diG5G	521	314	95	1081	919/449/287	0.06
6	Cyanidin-3-(feruloyl)-triglucosides-5-glucoside	Cy3(fer)triG5G	522	320	60	1111	949/449/287	0.04
7	Cyanidin-3-(sinapoyl)-triglucoside-5-glucoside	Cy3(sin)triG5G	525	321	54	1141	979/449/287	0.04
8	Cyanidin-3-(feruloyl)(feruloyl)-triglucoside-5-glucoside	Cy(fer)(fer)triG5G	536	321	93	1287	1125/449/287	0.03
9	Cyanidin-3-(feruloyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(fer)diG5G	522	328	60	949	787/449/287	0.06
10	Cyanidin-3-(feruloyl)(sinapoyl)-triglucoside-5-glucoside	Cy(fer)(sin)triG5G	536	324	95	1317	1155/449/287	0.08
11	Cyanidin-3-(caffeoyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(caf)diG5G	522	315	68	935	773/449/287	0.02
12	Cyanidin-3-(p-coumaroyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(p-cum)diG5G	521	312	69	919	757/449/287	0.19
13	Cyanidin-3-(caffeoyl)(p-coumaroyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(caf)(p-cum)diG5G	521	314	97	1081	919/449/287	0.01
14	Cyanidin-3-(feruloyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(fer)diG5G	523	329	58	949	787/449/287	0.14
15	Cyanidin-3-(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(sin)diG5G	526	328	59	979	817/449/287	0.18
16	Cyanidin-3-(feruloyl)-glucoside-5-glucoside	Cy3(fer)G5G	522	328	62	787	449/287	0.03
17	Cyanidin-3-(sinapoyl)-glucoside-5-glucoside	Cy3(sin)G5G	527	330	70	817	449/287	0.04
18	Cyanidin-3-(feruloyl)(feruloyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(fer)(fer)diG5G	535	328	101	1125	963/449/287	0.17
19	Cyanidin-3-(feruloyl)(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(fer)(sin)diG5G	535	330	109	1155	993/449/287	0.18
20	Cyanidin-3-(sinapoyl)(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	Cy3(sin)(sin)diG5G	535	332	119	1185	1023/449/287	0.26
Total								2.32

^a The ratio of the absorptivities at the corresponding maxima.

^b All values were expressed as milligrams of cyanidin (Cy) per gram dry matter of red cabbage.