



**Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas de formulados a base de sericina con adición de *Aloe vera* para protección del banano.**

Valentín Herrera Vásquez

Proyecto de investigación presentado para optar por el título de:  
**Bioingeniero**

Asesores:

Diana Marcela Escobar Sierra, PhD.

Giovanni Alberto Cuervo Osorio, MSc.

Universidad de Antioquia  
Facultad de Ingeniería  
Programa de Bioingeniería  
Medellín, Colombia

2023

Cita	Herrera Vásquez [1]
<b>Referencia</b>	[1] V. Herrera Vásquez, “Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas de formulados a base de sericina con adición de <i>Aloe vera</i> para la protección del banano”, Proyecto de investigación, Programa de Bioingeniería, Universidad de Antioquia, Medellín, 2023.
Estilo IEEE (2020)	



Grupo de investigación en Biomateriales BioMat.

Coordinador de prácticas: Javier Hernando García Ramos.

Asesora: Diana Marcela Escobar Sierra.

Coasesor: Giovanni Alberto Cuervo Osorio



**Cendoi**

**Repositorio Institucional:** <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - [www.udea.edu.co](http://www.udea.edu.co)

**Rector:** John Jairo Arboleda Céspedes

**Decano:** Julio Cesar Saldarriaga Molina

**Jefe departamento:** John Fredy Ochoa Gómez.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

## **Dedicatoria**

Quiero dedicar este logro a mi familia, especialmente a mi mamá, por su apoyo incondicional, amor y sacrificio para ayudarme a cumplir este sueño.

## **Agradecimientos**

Agradezco infinitamente a todos los integrantes del proyecto 2021-42930-Recubrimiento banano fibroína-sericina-aloe vera por su apoyo en el desarrollo de este trabajo y al grupo de investigación en Biomateriales BioMat por la oportunidad de hacer parte de este increíble proyecto.

Gracias a Yuli, Fran, Lili, Manu, Vale, Andre y Sara del laboratorio de biomateriales por sus consejos y palabras de aliento.

Quiero agradecer a mis asesores, los docentes Marcela Escobar y Giovanni Cuervo por compartir sus conocimientos y guiarme, igualmente agradezco a la docente Claudia Ossa por su disposición y entusiasmo para que este proyecto se hiciera realidad.

Muchas gracias al programa de Bioingeniería, a los laboratorios CIDEMAT, CIENMATE y SEM y a los monitores del instituto de biología de la Universidad de Antioquia por su apoyo y servicio

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	11
ABSTRACT	12
<b>CAPÍTULO 1</b>	<b>13</b>
INTRODUCCIÓN	13
1.1 Introducción y planteamiento del problema	13
1.2 Antecedentes	16
1.3 Objetivos	19
1.3.1 Objetivo general	19
1.3.2 Objetivos específicos	19
Referencias	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>	<b>20</b>
MARCO TEÓRICO	20
2.1 Generalidades sobre el banano	20
2.1.1 Maduración del banano	21
2.1.2 Factores que intervienen en la calidad del banano	22
2.1.3 Microorganismos presentes en el banano	23
2.2 Sericina de seda	23
2.2.1 Principales propiedades de la sericina	26
2.2.2 Extracción de la sericina	27
2.3 Aloe Vera	27
2.3.1 Propiedades antimicrobianas del Aloe Vera	28
2.4 Biopelículas	28
2.4.1 Materiales y técnicas de fabricación de biopelículas	28

2.4.2 Fabricación de películas a base de sericina	29
Referencias	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>CAPÍTULO 3</b>	29
<b>EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE SERICINA DE SEDA</b>	29
3.1 Introducción	29
3.2 Metodología	31
3.2.1 Extracción de sericina	31
3.2.2 Diálisis de sericina	32
3.2.3. Concentración de sericina	32
3.2.4 Caracterización de la sericina	34
3.3 Resultados y discusión	35
3.3.1 Extracción de sericina	35
3.3.2 Diálisis de sericina	35
3.3.3 Concentración de sericina	36
3.3.4 Caracterización de sericina	37
<b>CAPÍTULO 4</b>	40
<b>ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS FORMULADOS.</b>	40
4.1 Introducción	40
4.2 Metodología	42
4.2.1 Composición de los formulados	42
4.2.2 Preparación de los formulados	43
4.2.3 Caracterización química y morfológica de los recubrimientos	44
4.3 Resultados y discusión	44
4.3.1 Preparación de los formulados	44
4.3.2 Caracterización de los recubrimientos	45

Referencias

**¡Error! Marcador no definido.**

**CAPITULO 5** 59

**APLICACIÓN SOBRE EL FRUTO, VALIDACIÓN DE PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS  
Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.** 59

5.1 Introducción 59

5.2 Metodología 60

5.2.1 Aplicación sobre el fruto 60

5.2.2 Evaluación y seguimiento de los bananos en el tiempo 61

5.2.3 Evaluación antimicrobiana 64

5.3 Resultados y discusión. 65

5.3.1 Pérdida de peso 65

5.3.2 Color 66

5.3.3 Azúcar reductor 68

5.3.4 Acidez titulante 70

5.3.5 Aislamiento de microorganismos desde la cáscara del banano. 71

5.3.6 Evaluación de las propiedades antimicrobianas de los formulados. 73

5.3.7 Elección de los mejores formulados 75

Referencias

**¡Error! Marcador no definido.**

**CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.** 76

6.1 Conclusiones 76

6.2 Perspectivas 78

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de la planta de banano [4].	21
Figura 2. Tasa de respiración y evolución de etileno en bananos [6].	22
Figura 3. Fotografía de capullos de gusano de seda Bombyx mori (a) Corte transversal de capullos de gusano de seda Bombyx mori observado en SEM (b).	24
Figura 4. Corte transversal de un capullo de gusano de seda Bombyx mori observado en SEM.	24
Figura 5. Estructura de un polipéptido de sericina [39].	25
Figura 6. Fotografía de una planta de Aloe vera [43].	27
Figura 7. Estructura de sericina de seda [4].	30
Figura 8. Procedimiento de extracción de sericina de seda.	32
Figura 9. Montaje para diálisis de sericina en agua destilada.	32
Figura 10. Procedimiento para concentración de sericina.	34
Figura 11. Solución de sericina y madeja se fibroína obtenidas.	35
Figura 12. Solución de sericina al 1%p/v y 2%p/v.	37
Figura 13. Espectro infrarrojo de la sericina de seda extraída.	38
Figura 14. Espectro UV-vis de la sericina de seda extraída.	39
Figura 15. Formulados obtenidos.	45
Figura 16. Espectro infrarrojo d ellos Formulados obtenidos con sericina al 1%.	46
Figura 17. Espectro infrarrojo d ellos Formulados obtenidos con sericina al 2%.	47
Figura 18. Imágenes SEM cáscara de banano sin recubrir y con recubrimientos de sericina al 1%	49
Figura 19. Imágenes SEM cáscara de banano con recubrimientos de sericina al 2%.	50
Figura 20. Imágenes SEM cotes transversales de la cáscara de banano recubierta.	52
Figura 21. Espectro EDS de la cáscara de banano desnuda y su composición elemental.	53
Figura 22. Espectro EDS y composición elemental de los diferentes recubrimientos.	55
Figura 23. Mapeo EDS en el corte transversal del recubrimiento 1.	57
Figura 24. Mapeo EDS en el corte transversal del recubrimiento 6.	57
Figura 25. Material de partida para aplicación de los formulados.	61

Figura 26. Imagen en tres componentes (L, A y B) [4]. .....	62
Figura 27. Diagrama del algoritmo de procesamiento de imágenes aplicado.....	62
Figura 28. Pérdida de peso de los frutos recubiertos con los formulados de sericina al 1%p/v y el control.....	65
Figura 29. Pérdida de peso de los frutos recubiertos con los formulados de sericina al 2%p/v y el control.....	66
Figura 30. Resultados color para frutos con formulados de sericina al 1%p/v y el control.....	67
Figura 31. Resultados color para frutos con formulados de sericina al 2%p/v y el control.....	67
Figura 32. Curva de calibración método DNS. ....	68
Figura 33. Resultados prueba azúcar reductor por método DNS. ....	69
Figura 34. Resultados prueba de acidez titulante. ....	70
Figura 35. Agar papa dextrosa con colonias inoculadas desde cáscara de banano. ....	71
Figura 36. Colonias aisladas desde la cáscara de banano y su estructura microscópica.....	72
Figura 37. Resultados prueba de actividad antimicrobiana de los formulados. ....	74



## LISTA DE TABLAS

TABLA 1. COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LA SERICINA DE SEDA [16] .....	25
TABLA 2. AMINOÁCIDOS PRESENTES EN LA SERICINA DE SEDA [39].....	26
TABLA 3. CONCENTRACIÓN DE SERICINA 1%p/v .....	36
TABLA 4. CONCENTRACIÓN DE SERICINA 2%p/v .....	36
TABLA 5. MATRIZ EXPERIMENTAL DE COMPUESTOS EMPLEADOS.....	42
TABLA 6. COMPOSICIÓN DE LOS FORMULADOS.....	43
TABLA 7. DILUCIONES PARA CONCENTRACIONES A USAR EN LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....	63
TABLA 8. MEDIDAS RADIO DE CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS.....	74
TABLA 9. RESULTADOS PROPIEDADES EVALUADAS. ....	75

## SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

<b>FTIR</b>	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
<b>UV-vis</b>	Espectroscopia ultravioleta-visible
<b>SEM</b>	Microscopio electrónico de barrido
<b>EDS</b>	Espectroscopia de rayos X de energía dispersiva
<b>PDI</b>	Procesamiento digital de imágenes
<b>UdeA</b>	Universidad de Antioquia

## RESUMEN

El banano es un fruto ampliamente consumido en el mundo y Colombia es uno de sus mayores productores, las exportaciones de este representan una alta fuente de ingresos para el país; en las regiones de cultivo se presentan altas pérdidas por la maduración prematura, dificultando su exportación. Como solución a la problemática descrita, se evaluaron formulados de sericina de seda con *Aloe vera* como recubrimientos para la protección del banano, se variaron las concentraciones de los componentes para obtener la composición con propiedades adecuadas para la conservación del banano. Los formulados se caracterizaron con espectroscopía de uv-visible y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Se realizaron sobre las formuladas pruebas de morfología y actividad antimicrobiana; sobre bananos se aplicaron los formulados y se evaluó la calidad de la fruta usando pruebas sensoriales, color, cuantificación de la acidez titulante y azúcar reductor. Se encontró que utilizando sericina al 1% p/v, *Aloe vera* al 2% p/p y glicerol al 1% p/p respecto a la sericina, se mejora la conservación de la fruta en el tiempo, manteniendo sus propiedades sensoriales.

**Palabras clave** — Sericina de seda, *Aloe vera*, banano, maduración, recubrimiento.

## ABSTRACT

Banana is widely consumed in the world and Colombia is one of the major producers; banana exports represent a high source of income for the country; in the cultivation regions are high losses due to premature ripening, making exportation difficult. As a solution to the described problem, formulations of silk sericin with *Aloe vera* were evaluated as coatings for banana protection, the concentrations of the components were varied to obtain the composition with adequate properties for banana preservation. The formulations were characterized with uv-visible spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The formulations were tested for morphology and antimicrobial activity; the formulations were applied on bananas and fruit quality was evaluated using sensory tests, quantification of color, titrating acidity and reducing sugar. It was found that using sericin at 1% w/v and *Aloe vera* at 2% w/w and glycerol at 1% w/w with respect to sericin, improved the conservation of the fruit over time, maintaining its sensory properties.

**Keywords:** Silk sericin, *Aloe vera*, banana, ripening, coating.

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

### *1.1 Introducción y planteamiento del problema*

El fruto del banano es ampliamente cultivado y consumido en todo el mundo, según la base de datos estadísticos corporativos de la Organización para la Agricultura y la Alimentación, la producción mundial de banano supera los 15 millones de toneladas anuales [1]; ubicando a Colombia entre los mayores productores de esta fruta, con un producido del 3% del banano mundial [1]. Según el último Censo Nacional Agropecuario de Colombia, la producción de banano común corresponde al 14,2% de la producción frutal, mientras que el banano de tipo exportación representa el 22,1% [2]. La producción de banano tiene una participación del 5,3% en el producto interno bruto (PIB) agrícola del país y genera aproximadamente 293.648 empleos directos e indirectos [1]. Es importante destacar que Colombia en el 2018, fue el sexto exportador de banano en términos de valor y el quinto en términos de volumen [1].

En el 2019, en Colombia, los departamentos de Antioquia, Magdalena y La Guajira, registraron el 86% de la producción de banano [1], siendo Antioquia el mayor productor de banano tipo exportación [1] [2]. En el departamento de Antioquia, la subregión del Urabá concentra la mayor producción de banano, los municipios de Apartado, Turbo y Carepa se registran como los tres principales productores en el país [1], donde la mayor parte de los cultivos son destinados para la exportación a más de 40 países [1] [2], siendo los principales mercados Bélgica, Reino Unido, Italia, Estados Unidos, Alemania, Holanda y Eslovenia [1]; los países importadores de banano definen protocolos que los países exportadores deben cumplir para tener presencia en estos mercados; por ejemplo, la Unión Europea y Colombia, mantienen una alianza de comercialización de banano, en la cual se definen los requerimientos de manejo y calidad de la fruta necesarios para la exportación; uno de estos es el límite máximo residual de compuestos químicos utilizados en la producción como el cloratodonil, imaziril entre otros [1].

El cumplimiento de los requerimientos definidos por los países importadores de banano, representa para países productores como Colombia, retos respecto al control de todos los factores que intervienen en la calidad de la fruta, como las condiciones ambientales, el daño mecánico, deshidratación, infecciones y maduración prematura [3]. En Latinoamérica y el Caribe se tiene evidencia de la presencia de diferentes microorganismos que causan diferentes enfermedades que afectan la planta del banano [4]; se registran por lo menos 20 especies de *Mycosphaerella* causantes de la enfermedad mancha foliar Eumusae, el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* causa el Mal de Panamá raza tropical 4, la cual se describe como la enfermedad más destructiva de cultivos de banano en el mundo; otras enfermedades de importancia en la calidad de esta fruta son: Moko del banano, Marchitez bacteriana por la presencia de *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* Yirgou & Bradbury, virus del mosaico del banano, virus del estriado del banano, entre otras [5]; en el 2019 se emitió en Colombia una alerta fitosanitaria por la presencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* en los cultivos de La Guajira [1]. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, las pérdidas postcosecha de banano en Latinoamérica pueden ir del 10% al 80% [4], las unidades de esta fruta no aptas para la exportación, se destinan normalmente a la agroindustria o se comercializan en mercados locales [6].

En el Urabá antioqueño suelen proteger los cultivos de banano de tipo exportación utilizando recubrimientos de polímeros sintéticos no biodegradables [7], que generan una barrera entre la fruta y el ambiente, permitiendo en cierta medida protegerla de los factores climáticos y microbianos que afectan su calidad [8]. Estos recubrimientos normalmente consisten en bolsas transparentes o traslúcidas que se usan para cubrir los frutos durante la cosecha y donde son transportados hasta sus lugares de destino [8]; son fabricadas a base de materiales termoplásticos que permiten el intercambio de gases del fruto con el exterior y lo protegen de insectos y condiciones ambientales hostiles para su calidad [7] [8]; los materiales utilizados no son biodegradables, por lo tanto, después de que el fruto es consumido, son desechados [8]; a pesar de que ese tipo de materiales pueden ser reciclados, en muchas ocasiones tienen un impacto negativo en el medio ambiente; por ejemplo, en el año 2020 en el Urabá antioqueño, se presentó una crisis ambiental a causa de toneladas de bolsas de polietileno usadas en los cultivos de banano que fueron desechadas de forma indiscriminada sin someterse a procesos de reciclaje o recolección [7].

Como alternativa a los polímeros termoplásticos para la protección del banano y otras frutas, se han planteado recubrimientos biodegradables a base de polímeros naturales como el quitosano y la fibroína, estos han mostrado resultados favorables respecto a la protección de frutas, manteniéndolas en condiciones favorables hasta por tres días, poseen propiedades antimicrobianas ante microorganismos patógenos [9] [10]. La principal ventaja al utilizar polímeros naturales para la protección del banano es su biodegradabilidad, al desechar la cascara del fruto, la película se degrada, y no genera ningún tipo de desecho o material tóxico ni contaminante [11]. Este tipo de recubrimientos consisten en soluciones de polímeros naturales que son aplicados sobre el fruto con técnicas como inmersión o spray, generando una película porosa sobre el fruto a modo de interfaz entre su superficie y el medio ambiente, que lo protege de agentes que afectan su calidad [11].

Otro polímero natural que se ha evaluado como posible protector de frutas es la sericina de seda, una proteína presente en los capullos del gusano de seda *Bombyx mori*, de los cuales puede ser fácilmente extraída [12]. Este polímero presenta propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antitirosinasa, que son importantes para mantener la calidad de las frutas en el tiempo [12]. La sericina de seda se puede utilizar para fabricar formulados y aplicarlos sobre la superficie de la fruta, creando una capa porosa, protectora y biodegradable que permite el intercambio gaseoso y no presenta toxicidad [12]. Se ha sugerido que este biopolímero puede ser potencialmente utilizado para la protección de frutas, manteniendo su calidad, y que además, puede ser complementado con *Aloe vera* para potencializar sus propiedades antimicrobianas [13].

Es por todo lo anterior, que el presente proyecto de investigación tuvo como objeto de estudio, la evaluación del comportamiento fisicoquímico y antimicrobiano de formulados de sericina complementados con *Aloe vera* para ser aplicados como protectores del banano de tipo exportación de la región del Urabá antioqueño. El estudio inició con la extracción de la sericina de seda desde los capullos de gusano de seda *Bombyx mori*; la sericina extraída se caracterizó usando las técnicas de espectroscopía uv-visible y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). A partir de la sericina extraída y caracterizada, se fabricaron formulados con distintas concentraciones de este biopolímero y *Aloe vera*, estos formulados se caracterizaron usando técnicas como la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Para evaluar el efecto de los formulados, se realizó una evaluación de la capacidad

antimicrobiana de estos, usando el método de difusión de discos y procesamiento digital de imágenes; finalmente se aplicaron sobre bananos del Urabá antioqueño y se validaron propiedades importantes en la calidad de la fruta como el color, la acidez y la cantidad de azúcares.

### *1.2 Antecedentes*

Para mantener la calidad del banano y garantizar condiciones adecuadas para su comercialización y consumo, se han propuesto diferentes tipos de materiales y herramientas que buscan controlar diferentes factores que causan algún tipo de deterioro en la fruta. Los polímeros naturales aplicados en la protección del banano presentan una alternativa adecuada a la utilización de materiales contaminantes, y poseen las propiedades adecuadas para mantener la fruta en condiciones adecuadas para su comercialización y consumo.

Desde los años sesenta se introdujo en todo el mundo la práctica del embolse del banano, actualmente es un método ampliamente utilizado con la finalidad de mejorar la calidad en los cultivos destinados a la exportación [14]. Uno de los materiales termoplásticos más utilizados para fabricar este tipo de empaques es el polietileno, las bolsas de este material protegen al racimo de los cambios de temperatura en el tiempo de cosecha, permiten el control de diferentes plagas y protegen del efecto abrasivo de las hojas de la plata y de la presencia de productos químicos, el color más utilizado para estas bolsas es el azul ya que presenta las propiedades más adecuadas para la protección de la fruta [14]; otro polímero termoplástico utilizado para el embolse del banano es el polipropileno, este material se utiliza principalmente para controlar la pérdida de agua durante el tiempo de cosecha y de almacenamiento, la pérdida de humedad está relacionada con la pérdida de peso, una variable importante en la calidad del banano [8]. El principal problema de los materiales termoplásticos para la protección del banano es su impacto ambiental; según el último informe del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, la utilización de polímeros termoplásticos en la agricultura, representa un problema de contaminación del suelo que amenaza ampliamente la producción de alimentos y el acceso a estos [15].

El embalaje de bananos en empaques con atmosfera modificada es también una práctica común en la agroindustria en todo el mundo, normalmente se utilizan bolsas de materiales termoplásticos



como el polietileno donde se controlan las concentraciones de gases presentes en su interior, generalmente se controlan el oxígeno y el dióxido de carbono, gases importantes en el ciclo de respiración del banano [8]. Se han evaluado empaques con atmosfera controlado de cloruro de polivinilo (PVC), donde se han obtenido resultados favorables en la reducción de manchas en la cáscara del banano, esto se atribuye principalmente a la reducción de oxígeno en contacto con la fruta [16]. Membranas de silicona con concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono controladas, se han utilizado para la protección del banano, obteniendo resultados favorables en las propiedades sensoriales de la fruta y logrando mantener los bananos en estado inmaduro por 42 días [17]. Se reporta que la utilización de empaques plásticos con atmosfera modificada presenta un reto importante, ya que modifica el proceso de respiración de las frutas y el intercambio de gases de estas, lo que puede favorecer o no la calidad de la fruta y sus propiedades sensoriales [8]; además, este método de empaque aunque puede presentar resultados favorables respecto a la calidad del banano, no representa una alternativa a la utilización de materiales contaminantes [7], [15].

En las últimas décadas se han desarrollado materiales para la protección del banano denominados de embalaje activo, este tipo de empaques, además de crear una barrera ante el ambiente exterior, permiten alterar activamente la atmosfera de la fruta con la intención de mantener su calidad [18]. Se fabricaron empaques de polietileno con arcilla impregnada de permanganato de potasio como absorbente de etileno, fitohormona producida por el banano y que desencadena su maduración; se logró obtener la fruta en condiciones favorables por más tiempo respecto al control [19]. En otros estudios se evaluaron los efectos en la calidad del banano de bolsas de cloruro de polivinilo impregnadas con depuradores de dióxido de carbono y absorbentes de etileno, se obtuvieron bananos sin manchas en su cáscara y en condiciones adecuadas para su comercialización [16]. A pesar de que se reportan resultados favorables de los empaques de embalaje activo en la protección del banano, en la fabricación de estos se continua con el uso de materiales termoplásticos contaminantes [7], [15].

Recubrimientos a base de polímeros naturales, biodegradables y no tóxicos se han estudiado ampliamente en los últimos años para la protección del banano; su bajo impacto ambiental es una de las principales razones para introducir este tipo de películas en el cuidado de los alimentos;

además, permiten controlar la ganancia o pérdida de humedad de la fruta, su intercambio gaseoso y pueden utilizarse como vehículo de sustancias activas con propiedades para mantener la calidad del banano [8].

Entre los estudios realizados, se tiene el recubrimiento a base de quitosano y goma arábica con la intención de inhibir el efecto del hongo *Colletotrichum musae*, causante de la pudrición del banano por antracnosis, con este recubrimiento se logró retrasar la maduración del fruto, la pérdida de peso y se mantuvo su firmeza [20]. En el 2019 se fabricaron recubrimientos a base de almidón de arroz mezclado con ésteres de sacarosa para la conservación del banano, logrando mantener la firmeza y propiedades sensoriales de la fruta por más tiempo respecto a los bananos sin recubrimiento [21]. En el año 2020 se reporta que recubrimientos a base de fibroína de seda utilizados para mantener la calidad del banano, mostraron resultados favorables, mantenido el color y la firmeza de la fruta en condiciones adecuadas para su comercialización [22].

La sericina de seda es otro polímero natural que ha sido estudiado en los últimos años como material protector de frutas; sus propiedades antimicrobianas, antitirocinasa y de protección ante rayos ultravioleta le aportan las características adecuadas para mantener la calidad de las frutas [23]. Recubrimientos de sericina de seda sobre fresas y bananos se estudiaron como material protector, se logró evidenciar el potencial de este polímero para mantener la calidad de las frutas en el tiempo [24]. En el año 2022, se estudiaron recubrimientos de sericina de seda sobre frutos de lichi, los resultados mostraron el potencial de este polímero como material eficaz para la protección de alimentos, ya que se lograron mantener las propiedades nutricionales y sensoriales de la fruta [12]. La sericina de seda muestra un alto potencial como material protector de frutas y es una alternativa eficaz al uso de materiales contaminantes en alimentos.

El gel *Aloe vera* presenta propiedades antimicrobianas y antioxidantes, esta sustancia es ampliamente utilizada en la industria médica y alimenticia [13]. Diferentes estudios muestran que el *Aloe vera* posee las propiedades adecuadas para ser utilizado en recubrimientos protectores de frutas y alimentos [25]. Se evaluó el gel de *Aloe vera* como recubrimiento para la protección de duraznos, se obtuvieron resultados favorables en la pérdida de peso, color y propiedades sensoriales, sugiriendo el potencial de este gel en la protección de frutas y como alternativa a

conservantes químicos en el manejo postcosecha [26]. En el 2017, se realizó un estudio donde se fabricaron recubrimientos a partir del gel de *Aloe vera*, que fueron aplicados sobre papaya y guayaba, los resultados mostraron que el recubrimiento actúa como barrera al agua y a gases, posee propiedades antimicrobianas y logró retrasar la maduración de las frutas [27]. El *Aloe vera* puede ser utilizado como agente que potencialice las propiedades antimicrobianas y antioxidantes de recubrimientos protectores de banano.

### *1.3 Objetivos*

#### *1.3.1 Objetivo general*

Evaluar el comportamiento fisicoquímico y antimicrobiano de formulados a base de sericina con adiciones de *Aloe vera* para ser usados como recubrimientos protectores para el fruto del banano.

#### *1.3.2 Objetivos específicos*

- Extraer y caracterizar sericina de seda a partir de los capullos de gusano de seda *Bombyx mori*.
- Elaborar diferentes formulados variando las concentraciones de sericina y *Aloe vera* para evaluarlos como posibles recubrimientos de banano.
- Caracterizar los formulados obtenidos física y químicamente.
- Evaluar las propiedades antimicrobianas de los formulados validando las propiedades organolépticas del fruto.

## CAPÍTULO 2

### MARCO TEÓRICO

#### *2.1 Generalidades sobre el banano*

El banano es una planta con fruta comestible que pertenece al grupo de las herbáceas, orden Zingiberales, familia Musacea y género *Musa*, el nombre científico de gran parte de los bananos cultivados es *Musa x Paradisiaca*, también se encuentran la *Musa acuminata* Colla, *Musa balbisiana* Colla y *Musa acuminata* diploide [28]; las plantaciones de banano constituyen uno de los cultivos frutales más antiguos en el mundo y actualmente es el cuarto cultivo alimenticio más extenso [29]; se conocen más de 1000 variedades de banano que son consumidos en preparaciones o crudos, destacando la variedad Cavendish, actualmente el 47% de los cultivos en el mundo corresponde a esta variedad [29]. Esta planta es nativa del sudeste asiático y actualmente es sembrada en más de 130 países de las regiones tropicales y subtropicales [30]. La planta del banano se encuentra en el grupo de las hierbas perenne, se considera una hierba debido a que sus partes aéreas mueren cuando termina la estación de cultivo y es perenne porque de su base se desarrolla un brote llamado hijo que posteriormente reemplaza a la planta madre [31].

Las partes de la planta del banano incluyen: El sistema radicular que absorbe y conduce agua y nutrientes desde el suelo hacia la planta; las raíces de la planta del banano se forman en la parte central del cormo, este corresponde al tallo verdadero de la planta y se encuentra bajo tierra; el seudotallo está formado por las vainas foliares superpuestas y puede sostener racimos de 50 Kg o más; las hojas emergen desde el seudotallo y son el órgano fotosintético de la planta; las hojas bandera se enrollan en cilindros y son aquellas que acaban de brotar; la inflorescencia contiene las flores que se convertirán en frutos, esta se desarrolla desde el tallo verdadero, el cual crece a través del seudotallo y emerge en la parte superior de la planta cuando ha brotado la última hoja bandera; las flores femeninas aparecen primero, el ovario se desarrolla en un fruto sin semillas y sin polinización; al surgir una hoja modificada llamada bráctea, exhibe las flores femeninas y desarrollan manos de frutos, el número de manos que componen el racimo dependen de condiciones como el genotipo y el medio ambiente; el pedúnculo soporta la inflorescencia y la mantiene fija al cormo; el racimo es el conjunto de frutos que aparecen

en el raquis, el cual es el tallo de la inflorescencia que va desde el fruto hasta la yema masculina o bellota [31]. En la figura 1 se observa la morfología de la planta de banano y sus diferentes partes [32].



Figura 1. Morfología de la planta de banano [4].

### 2.1.1 Maduración del banano

De forma general, la vida de una fruta se divide en tres estadios o fases, la primera es la fase de cuajado, seguida por el desarrollo de la fruta y finalmente la maduración de ésta [29]. La maduración de una fruta es un proceso controlado genéticamente que permite que la fruta pase de fases inmaduras a una fruta comestible atractiva; este proceso es irreversible y se caracteriza por cambios bioquímicos, fisiológicos y organolépticos, como cambios en la producción de carbohidratos, aumentando el contenido de azúcar, cambios en el color, sabor, textura, aroma, compuestos fenólicos y ácidos orgánicos; la maduración de las frutas está relacionada de gran forma con el etileno, esta molécula es una fitohormona que desencadena el inicio de la maduración, basándose en los mecanismos de regulación de la respiración y maduración.

Las frutas se pueden dividir en dos grupos: climatéricas y no climatéricas [29]. Las frutas climatéricas se caracterizan por tener un proceso de maduración que presenta picos respiratorios con altos niveles de producción de etileno, mientras que las frutas no climatéricas tienen una tasa de respiración constante o decreciente hasta el deterioro y no presentan incrementos en la producción de etileno [29], [33].

En la figura 2 se muestran las curvas de tasa respiratoria y de evolución de etileno respecto al color de la cáscara de bananos como índice de maduración [34].

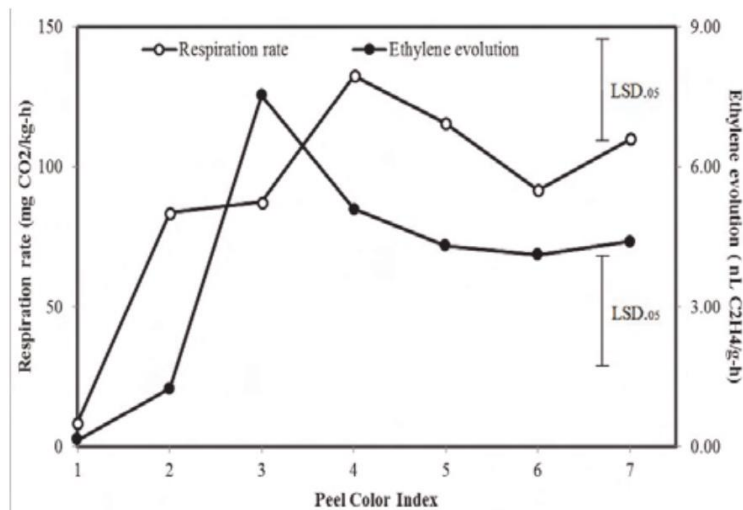


Figura 2. Tasa de respiración y evolución de etileno en bananos [6].

Como se observa en la figura 2, en el proceso de maduración del banano, se presentan picos en la tasa de respiración y en la producción de etileno [34]. El banano es una fruta climatérica o dependiente de etileno [29].

### 2.1.2 Factores que intervienen en la calidad del banano

Durante el tiempo de cosecha, los frutos del banano pueden sufrir afectaciones en su calidad. Condiciones ambientales como cambios bruscos de temperatura, por debajo de los 19°C, pueden producir mal formación del racimo, este fenómeno se denomina apiñamiento y causa cicatrices en los frutos [3]. Otro factor que afecta la calidad del banano durante la cosecha es la presencia de plagas; los insectos: *Cosmopolites sordidus*, *Metamasius hemipterus*, *Metamasius hebetatus* pueden estar presentes en los cultivos, tienen hábitos nocturnos, se alimentan del pseudotallo y debilitan la planta disminuyendo su rendimiento hasta en un 60% [4].

La enfermedad de sigatoka negra causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, puede estar presente durante todo el desarrollo de la planta, causando manchas en las hojas y el fruto [35].

Enfermedades como el mal de Panamá, Moko del banano y Marchitez bacteriana también causan daños severos a la planta del banano [5]. Los daños postcosecha en el banano pueden atribuirse a distintos factores como el daño mecánico, pudrición, maduración prematura, deshidratación e infección por bacterias y hongos [3].

### 2.1.3 Microorganismos presentes en el banano

La presencia de microorganismos en el banano representa una posible causa de deterioro de la fruta. *Colletotrichum musae*, es un microorganismo que se encuentra en una amplia variedad de frutas, se reporta que su presencia en el fruto del banano causa antracnosis, afección caracterizada por manchas en la cáscara y deterioro general de la fruta [36]. Diferentes hongos del género *Fusarium* se reportan como causa de enfermedades y afectaciones en las plantas de banano; el hongo *F. oxysporum* f. sp. *Cubense* es denominado la plaga con más presencia y afectación en los cultivos de banano en el mundo [37]. Hongos del género *Penicillium* se encuentran presentes en diferentes frutas y alimentos [38]; *Penicillium funiculosum* Thom. causa la pudrición del banano, este hongo se encuentra distribuido ampliamente por todo el mundo y afecta de forma significativa la calidad de esta fruta [38].

## 2.2 Sericina de seda

Los capullos de gusano de seda *Bombyx mori* están compuestos principalmente por dos proteínas, fibroína y sericina; al hilar la seda, la sericina recubre los filamentos de fibroína, uniéndolos en fibras que forman un capullo donde se da el progreso del gusano de larva a adulto [23]. En la figura 3 (a) se observan los capullos de gusano *Bombyx mori*, en la figura 3 (b) se muestra un corte transversal de un capullo de gusano de seda observado en el microscopio electrónico de barrido (SEM), donde se puede apreciar su morfología.

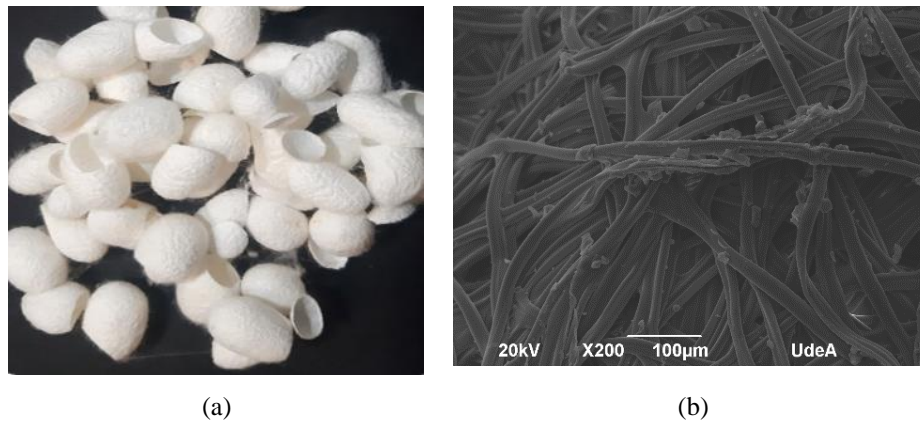


Figura 3. Fotografía de capullos de gusano de seda *Bombyx mori* (a) Corte transversal de capullos de gusano de seda *Bombyx mori* observado en SEM (b).

Fuente: Autoría propia.

En la mayoría de las variedades de gusano de seda, la fibroína representa del 65% al 85% de la capa del capullo, mientras que la sericina representa del 15% al 35% [23]. En la figura 4 se puede observar una imagen de SEM de un corte transversal de capullo de gusano de seda *Bombyx mori* donde se pueden apreciar las fibras de fibroína recubiertas por sericina.

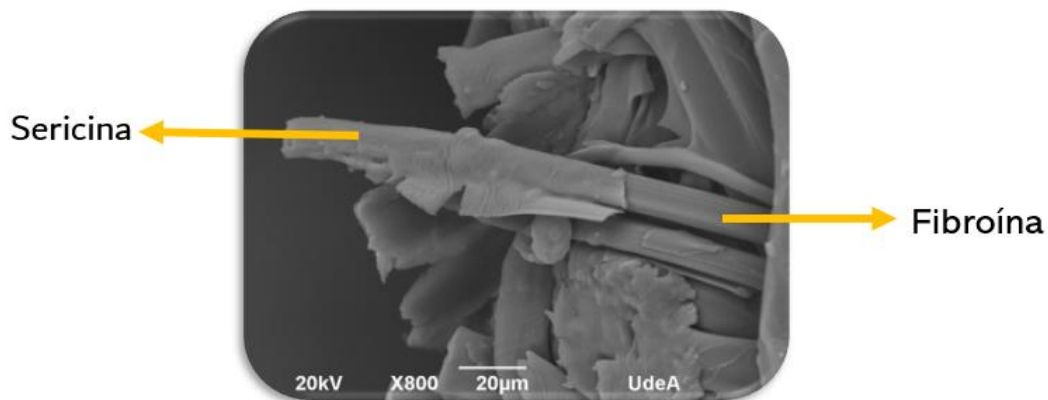


Figura 4. Corte transversal de un capullo de gusano de seda *Bombyx mori* observado en SEM.

Fuente: Autoría propia.



La sericina es una proteína globular, su peso molecular puede alcanzar los 200 kDa, en la figura 5 se muestra la estructura de un polipéptido de esta proteína.

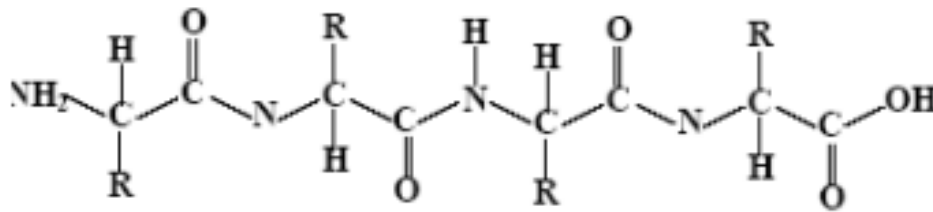


Figura 5. Estructura de un polipéptido de sericina [39].

En la tabla 1 se encuentran los principales elementos químicos que componen la sericina de seda.

TABLA 1. COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LA SERICINA DE SEDA [16]

Elemento	Composición elemental (%)
C	48,3
N	4,5
H	11,9

Como se observa en la figura 5 y en la tabla 1, los principales elementos que componen la sericina de seda son: carbono, nitrógeno e hidrogeno [39]. La sericina de seda está formada en su mayoría por aminoácidos polares, los aminoácidos no polares constituyen el 22% de la proteína [39]. En la tabla 2 se muestran los aminoácidos presentes en la sericina y su porcentaje.

TABLA 2. AMINOÁCIDOS PRESENTES EN LA SERICINA DE SEDA [39].

Aminoácido	Porcentaje en la sericina (%)
Ácido aspártico	15,64
Treonina	8,16
Serina	33,63
Ácido glutámico	4,61
Glicina	15,03
Alanina	4,10
Cisteína	0,44
Valina	2,88
Metionina	3,39
Isoleucina	0,56
Leucina	1,00
Tirosina	3,45
Fenilalanina	0,28
Lisina	2,35
Histidina	1,06
Arginina	2,87
Prolina	0,54

Como se puede observar en la tabla 2, los principales aminoácidos que componen la sericina de seda son: serina, ácido aspártico y glicina [39].

### *2.2.1 Principales propiedades de la sericina*

Las principales propiedades y funciones biológicas de la sericina son: buena reactividad, biodegradabilidad y biocompatibilidad, presenta propiedades antimicrobianas y antioxidantes, sirve como barrera a los rayos uv [12]. Otros estudios muestran que la sericina inhibe la actividad de la tirosinasa y la polifenol oxidasa, además de que posee propiedades antimicrobianas y permite la eliminación de especies reactivas de oxígeno [23].

### 2.2.2 Extracción de la sericina

El proceso de extracción de la sericina de seda se denomina desgomado, en este se busca separar la sericina de las fibras de fibroína; en la industria textil, se utilizan jabones y álcalis efectivos para el desgomado, sin embargo, estas soluciones pueden promover la hidrólisis en la estructura de la sericina, perdiendo propiedades importantes de esta [40]. Existen métodos de desgomado alternativos que permiten recuperar la sericina sin perjudicar su estructura, estos métodos traen importantes beneficios económicos y sociales; uno de los métodos alternativos para la extracción de la sericina de seda es el uso de solución de carbonato de sodio; se reporta que este compuesto permite la eliminación por completo de la sericina de las fibras de fibroína sin causar daño a la estructura de las proteínas [41]; la eliminación del carbonato de sodio de la solución de sericina se realiza a través de un proceso de diálisis [42].

### 2.3 Aloe Vera

El *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller, family Xanthorrhoeaceae), es una hierba verde distribuida ampliamente en áreas cálidas y secas del todo el mundo [13]. En la figura 5 se muestra una fotografía de la planta de *Aloe vera*, donde se puede observar su morfología[25].



Figura 6. Fotografía de una planta de Aloe vera [43].

La composición del gel de *Aloe vera* comprende más de 75 compuestos: vitaminas A, C, E y B12, enzimas como la amilasa, catalasa y peroxidasa, minerales que incluyen Zinc, Cobre, Selenio y Calcio, monosacáridos entre los que se encuentra manosa-6-fosfato, polisacáridos como los glucomanos, hormonas (auxinas y giberelinas) y otros componentes como ácido salicílico, lignina y saponinas [44], [45].

### *2.3.1 Propiedades antimicrobianas del Aloe Vera*

Diferentes estudios han evaluado las propiedades antimicrobianas del *Aloe vera*; los estudios muestran que el extracto acuoso de *Aloe vera* reduce el crecimiento y la formación de biopelículas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*; también se ha logrado demostrar la capacidad inhibitoria de este gel ante agentes patógenos orales como *Actinobacillus actinomycetemcomitans.*, *Clostridium bacilli* y *Streptococcus mutans*; otras bacterias gramnegativas que son inhibidas por el gel de *Aloe vera* incluyen *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli* y el hongo *Candida albicans* [13].

## *2.4 Biopelículas*

Las biopelículas se definen como capas finas de material de origen natural que se depositan sobre un alimento con la intención de conservarlo y mantenerlo en condiciones óptimas para su consumo [46]. Las principales funciones de las biopelículas en alimentos incluyen: reducir procesos metabólicos, facilitar la distribución, inhibir el crecimiento microbiano, crear una barrera para controlar la respiración, retardar la maduración y deterioro, conservar la calidad del alimento [47].

### *2.4.1 Materiales y técnicas de fabricación de biopelículas*

Las biopelículas se pueden fabricar siendo primero preformadas y posteriormente aplicadas sobre el alimento o aplicada de forma líquida por inmersión o pulverización lo que permite que la biopelícula se forme sobre el alimento [48]. Actualmente, las biopelículas en alimentos se consideran una alternativa al empaque tradicional con impacto ambiental negativo; este tipo de recubrimientos provienen de biopolímeros naturales y biodegradables, y se pueden hacer activas al usarlas como vehículo de aditivos naturales con propiedades antimicrobianas y antioxidantes [49].

Una de las técnicas de fabricación de recubrimientos a base de polímeros naturales se denomina solvent casting, esta técnica consiste en la agitación de un polímero disuelto para luego verter la solución en un molde y evaporar el solvente, la menor viscosidad del polímero disuelto y la agitación ayudan al entrecruzamiento físico del polímero; la elección del solvente se determina de acuerdo a la solubilidad del polímero [50]. Para recubrimientos en frutas se ha utilizado esta técnica aplicando la solución del polímero directamente sobre la fruta y evaporando el solvente a temperatura ambiente [10].

#### *2.4.2 Fabricación de películas a base de sericina*

La técnica de solvent casting ha sido utilizada para la formación de recubrimientos o películas a base de sericina de seda, usando glicerol como plastificante para mejorar las propiedades mecánicas de las películas [51]. La solución del polímero y el plastificante se entrecruzan físicamente manteniéndolos en agitación constante durante una hora para luego verter en un molde y evaporar el solvente en hornos o a temperatura ambiente [51], [52]. Esta técnica permite fabricar películas de sericina de seda plastificadas con glicerol estables y con propiedades mecánicas que dependen en gran medida de la cantidad de glicerol agregada [51].

## **CAPÍTULO 3**

### **EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE SERICINA DE SEDA**

#### *3.1 Introducción*

La sericina es una proteína adhesiva sintetizada por el gusano de seda *Bombyx mori*, la cual une las fibras de fibroína para formar el capullo; la sericina contiene una gran variedad de aminoácidos que le otorgan en gran medida propiedades hidrofílicas y sensibilidad a cambios químicos [53]. Es una proteína globular, que se caracteriza por estar compuesta de una o pocas moléculas proteicas combinadas formando una estructura esférica [12]. La proteína exhibe principalmente estructura amorfa y en menor medida estructura en láminas  $\beta$ ; la estructura amorfa cambia fácilmente a

cristalina como consecuencia de constante absorción de humedad y estiramiento mecánico [54]. En la figura 7 se observa un modelo computacional de la estructura de la sericina en láminas  $\beta$  [55].

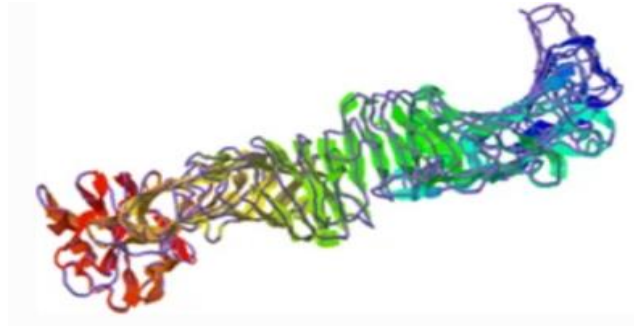


Figura 7. Estructura de sericina de seda [4].

La sericina de seda posee una estructura en capas, las cuales se clasifican en tres dependiendo de su solubilidad; la sericina tipo A es la capa más externa, es insoluble en agua caliente, contiene alrededor de 17,2% de nitrógeno y es rica en aminoácidos como serina, treonina, glicina y ácido aspártico; la sericina tipo B se encuentra en la mitad de la estructura, es soluble en agua caliente, está constituida aproximadamente de 16,8% de nitrógeno, y la sericina tipo C es la capa más interna y más cercana a la fibroína, es insoluble en agua caliente, se puede solubilizar con aditivos ácidos o alcalinos a altas temperaturas [54], [55].

La extracción de sericina desde los capullos de gusano de seda *Bombyx mori* se denomina desgomado; dado que la sericina de seda no es completamente soluble en agua, se usa una solución de carbonato de sodio a 80°C que permite separar por completo las fibras de fibroína de la sericina conservando su estructura y propiedades, la sal utilizada en este proceso se puede eliminar sometiendo la solución de sericina a diálisis en agua destilada [41], [42]. En la literatura se reporta que la sericina de seda a concentraciones por debajo de 2 % p/v presenta propiedades antioxidantes útiles para su uso en la industria alimenticia [56]. Para evaluar recubrimientos utilizados en protección de lichi, se utilizó sericina al 1,5 %p/v, se obtuvieron resultados favorables respecto a propiedades antioxidantes, antimicrobianas y de protección a los rayos UV, lo que mostró el potencial de la proteína para la preservación de alimentos permitiendo mantener los nutrientes y calidad de estos por más tiempo [12]. Otros estudios muestran que la sericina de seda al 1%p/v y 2%p/v posee las propiedades mecánicas adecuadas para la fabricación de películas y recubrimientos [51].

Para determinar la naturaleza, estructura y pureza de la sericina extraída, se pueden aplicar técnicas de caracterización como la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), esta técnica permite obtener información sobre la estructura secundaria de las proteínas, ya que existe una correlación entre las frecuencias de las amidas I y II y la estructura predominante en una proteína [57]; por su parte, la espectroscopía ultravioleta- visible (UV-vis), es otra técnica de caracterización de proteínas, en esta no se obtiene información sobre la estructura de las proteínas, se aplica para analizar propiedades del estado conformacional de las moléculas e interacción entre átomos, determinar el espectro de frecuencia UV que una proteína absorbe y determina el tipo de aminoácidos que la constituyen [58].

En este capítulo se presenta el proceso extracción de la sericina desde los capullos de gusano de seda *Bombyx mori* a partir de la técnica de desgomado con carbonato de sodio; se eligieron concentraciones de trabajo de 1%p/v y 2%; además, se presentan las técnicas FTIR y UV-vis aplicadas para caracterizar la sericina de seda extraída y determinar propiedades, estructura y conformación de esta.

## 3.2 Metodología

### 3.2.1 Extracción de sericina

Se partió de 7 gramos de los capullos de gusano de seda *Bombyx mori*, adquiridos por medio de la corporación para el Desarrollo de la Sericultura del Cauca (CORSEDA). Se siguió paso a paso el protocolo de extracción de sericina y fibroína establecido en el grupo de investigación en biomateriales BioMat de la Universidad de Antioquia. Como primer paso, se eligieron capullos en buen estado, se pesaron y se cortaron en trozos pequeños de aproximadamente 0,5 cm<sup>2</sup>. Se preparó una solución de carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) utilizando una relación 2/5 con respecto al peso de los capullos. Se calentó la solución de carbonato de sodio hasta 80°C, se agregaron los capullos cortados a la solución de carbonato de sodio caliente y se mantuvo en agitación constante por 4

horas, en la figura 8 se muestra un diagrama del procedimiento seguido para la extracción de sericina.



Figura 8. Procedimiento de extracción de sericina de seda.

### 3.2.2 Diálisis de sericina

Se dispuso la solución de sericina con carbonato de sodio en membranas porosas de celulosa, se sumergió la membrana de celulosa en agua destilada y se midió la conductividad del agua como indicador de la concentración de iones. Este proceso se realizó repetidamente hasta obtener una conductividad igual a la del agua destilada, en la figura 9 se observa una fotografía del montaje de diálisis llevado a cabo.



Figura 9. Montaje para diálisis de sericina en agua destilada.

### 3.2.3. Concentración de sericina

Para evaluar la concentración final de la solución de sericina se pesaron 3 vidrios de reloj secos y se agregó 1 mL de solución de sericina dializada, los vidrios de reloj con sericina se secaron en



horno por 3 horas a 80°C, pasado este tiempo, se pesaron los vidrios de reloj con la sericina seca y se restaron los pesos del vidrio reloj con sericina y del vidrio de reloj y se promediaron los tres pesos de sericina obtenidos. Partiendo del promedio obtenido se halló la concentración de la solución de sericina en porcentaje peso/ volumen (%p/v) usando la ecuación 1:

$$C(\%p/v) = \frac{P}{1mL} * 100\% \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

C= Concentración de la solución de sericina.

P= Peso de la sericina.

Para obtenerlas concentraciones de trabajo de 1% y 2%, se utilizó la ecuación 2:

$$C1 * V1 = C2 * V2 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

C1: Concentración inicial de la solución de sericina.

V1: Volumen inicial de la solución de sericina.

C2: Concentración final de la solución de sericina (1%p/v – 2%p/v).

V2: Volumen final de la solución de sericina.

A partir de la concentración y volumen iniciales de la solución de sericina, conociendo la concentración final o de trabajo, se calculó el volumen final usando la ecuación 2. Se calentó la solución de sericina dializada a 80°C hasta obtener el volumen final requerido como se muestra en la figura 10.

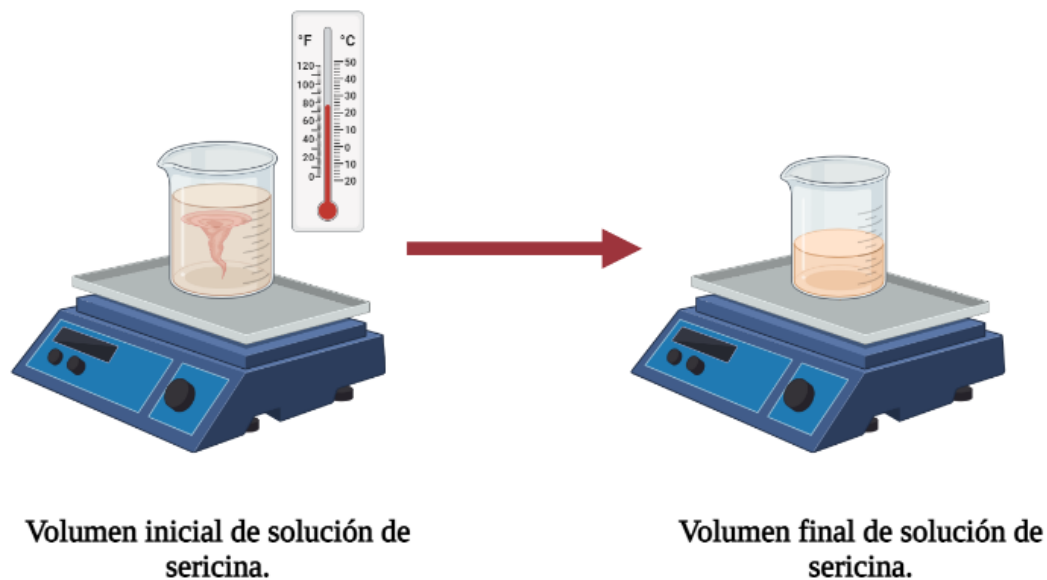


Figura 10. Procedimiento para concentración de sericina.

#### 3.2.4 Caracterización de la sericina

La sericina de seda extraída se caracterizó utilizando las técnicas de espectroscopía UV-visible y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

**Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR):** Con esta técnica se determinaron los diferentes grupos funcionales y enlaces de la sericina, para este análisis se utilizó un equipo PerkinElmer Spectrum IR, se realizó un análisis de espectro infrarrojo en el rango entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  y  $400\text{ cm}^{-1}$ . Para esta prueba, la solución de sericina de seda extraída y dializada se sometió a liofilización por 48 horas para eliminar el agua y poder observar el espectro infrarrojo correspondiente a la sericina sin interferencias por la presencia de agua.

**Espectroscopía UV-visible:** Se realizó un barrido a la solución de sericina en el espectro en el rango UV-vis entre 250nm y 400nm. Para la línea de referencia o base se utilizó agua destilada. La prueba se realizó en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1800.

### 3.3 Resultados y discusión

#### 3.3.1 Extracción de sericina

Empleando el protocolo de extracción de sericina de seda que me muestra en la figura 8 se obtuvieron la solución y la madeja que se observan en la figura 11.

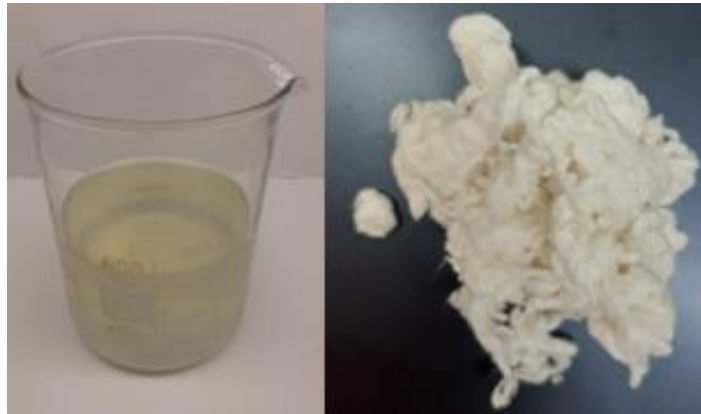


Figura 11. Solución de sericina y madeja se fibroína obtenidas.

La solución que se muestra en la figura 11 presentó mayor turbidez que el agua, a pesar de que la solución es translúcida tiene cierta coloración ámbar tenue y no es viscosa; en la solución se observaron pequeñas fibras que se eliminaron por separación física colando la solución, se obtuvo un volumen de 200 mL. La madeja que se observa en la figura 11 se pudo retirar exitosamente de la solución. Según lo reportado por Lalit Jajpura *et al*, la solución y madeja obtenidas corresponden a la sericina y fibroína respectivamente, ya que en este estudio se describe que al finalizar el proceso de extracción, la sericina se encuentra solubilizada en el líquido de desgomado y las fibras de fibroína se agrupan formando una madeja compacta [59].

#### 3.3.2 Diálisis de sericina

La solución de sericina dializada presentó una coloración más clara comparando con la solución de sericina con carbonato de sodio de la figura 11, esto se debe a que en el proceso de diálisis ingresa agua a la solución través de la membrana para igualar concentraciones.

### 3.3.3 Concentración de sericina

Los resultados obtenidos en el proceso de concentración de la solución de sericina de acuerdo con la metodología descrita se observan en las tablas 3 y 4.

TABLA 3. CONCENTRACIÓN DE SERICINA 1%p/v

<b>Peso promedio de sericina en 1 mL de solución (g)</b>	<b>Concentración inicial (%p/v)</b>	<b>Volumen inicial (mL)</b>	<b>Concentración final (%p/v)</b>	<b>Volumen final (mL)</b>
0.00436	0.436	190	1 %p/v	82,966

TABLA 4. CONCENTRACIÓN DE SERICINA 2%p/v

<b>Peso promedio de sericina en 1 mL de solución (g)</b>	<b>Concentración inicial (%p/v)</b>	<b>Volumen inicial (mL)</b>	<b>Concentración final (%p/v)</b>	<b>Volumen final (mL)</b>
0.00436	0.436	320	2 %p/v	69,867

En la figura 12 se presentan las soluciones obtenidas al finalizar el proceso de concentración de la sericina llevado a cabo de acuerdo con la metodología planteada en la figura 10.

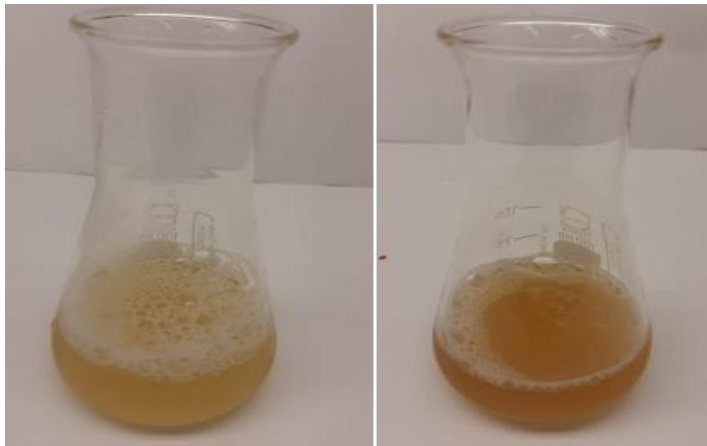


Figura 12. Solución de sericina al 1%p/v y 2%p/v.

Como se puede observar en las tablas 3 y 4, la concentración inicial de la solución de sericina fue de 0,436 %p/v, se obtuvieron volúmenes iniciales de 190 mL a 320 mL; el volumen final para la sericina al 2% p/v fue menor respecto al obtenido para sericina al 1% p/v. Como se observa en la figura 12, la solución de sericina en las concentraciones de trabajo presentó un cambio de coloración respecto a la solución inicial que se muestra en la figura 11, siendo más intenso para la sericina al 2% p/v, esto se debe a la eliminación de agua y al contenido más alto de sericina a esta concentración.

#### 3.3.4 Caracterización de sericina

***Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR):*** En la figura 13 se presenta el espectro infrarrojo obtenido para la sericina extraída, en el espectro se pueden observar las longitudes de onda donde se presentan los picos característicos de la proteína.

Todos los picos encontrados concuerdan con los reportados ampliamente en la literatura, el pico observado a  $3270\text{ cm}^{-1}$  se debe a la vibración -OH del grupo fenólico de la sericina en concordancia con lo reportado por Harisha y colaboradores [60].

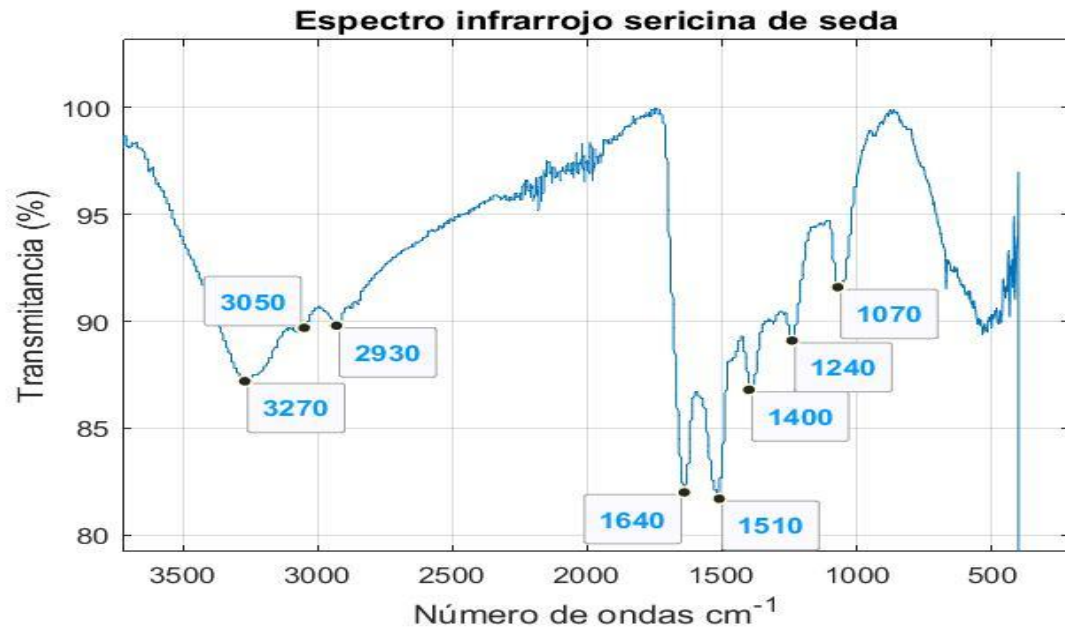


Figura 13. Espectro infrarrojo de la sericina de seda extraída.

Los picos presentes a  $3050\text{ cm}^{-1}$  y  $3270\text{ cm}^{-1}$  son indicativo del estiramiento N-H presente en la sericina [61], al igual que el pico observado a  $2930\text{ cm}^{-1}$  que indica el estiramiento del enlace C-H típico de la proteína como lo reportan García y colaboradores [61].

Los picos observados a  $1640\text{ cm}^{-1}$  y  $1510\text{ cm}^{-1}$  muestran la estructura cristalina en láminas  $\beta$  antiparalelas de la amida I y la presencia de la amida II respectivamente, lo cual se atribuye a la presencia de los enlaces C=O y N-H en la estructura proteica de la sericina [57], [60]. El pico observado a  $1240\text{ cm}^{-1}$  es característico de la bobina aleatoria de la amida III atribuida a la vibración del enlace C-N de la sericina [60].

Las bandas presentes a  $1400\text{ cm}^{-1}$  y  $1070\text{ cm}^{-1}$  permiten diferenciar la sericina de la fibroína y se pueden atribuir a las vibraciones de los enlaces  $\delta\text{OH}$ ,  $\nu\text{C}_{\infty}\text{-N}$  y  $\nu\text{C}_{\infty}\text{C}_{\beta}$  y  $\nu\text{CO}_2$  como lo reportado por Monti [62]. La presencia del ácido aspártico en la molécula de la sericina contribuye al pico observado en  $1400\text{ cm}^{-1}$  y  $1640\text{ cm}^{-1}$  (Amida I) [62]. El espectro infrarrojo de la sericina extraída permitió comprobar la presencia de los enlaces característicos de la proteína y de su conformación cristalina y aleatoria típicas [60].

### *Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-vis):*

En la figura 14 se presenta el espectro UV-vis en absorbancia obtenido para la solución de sericina extraída.

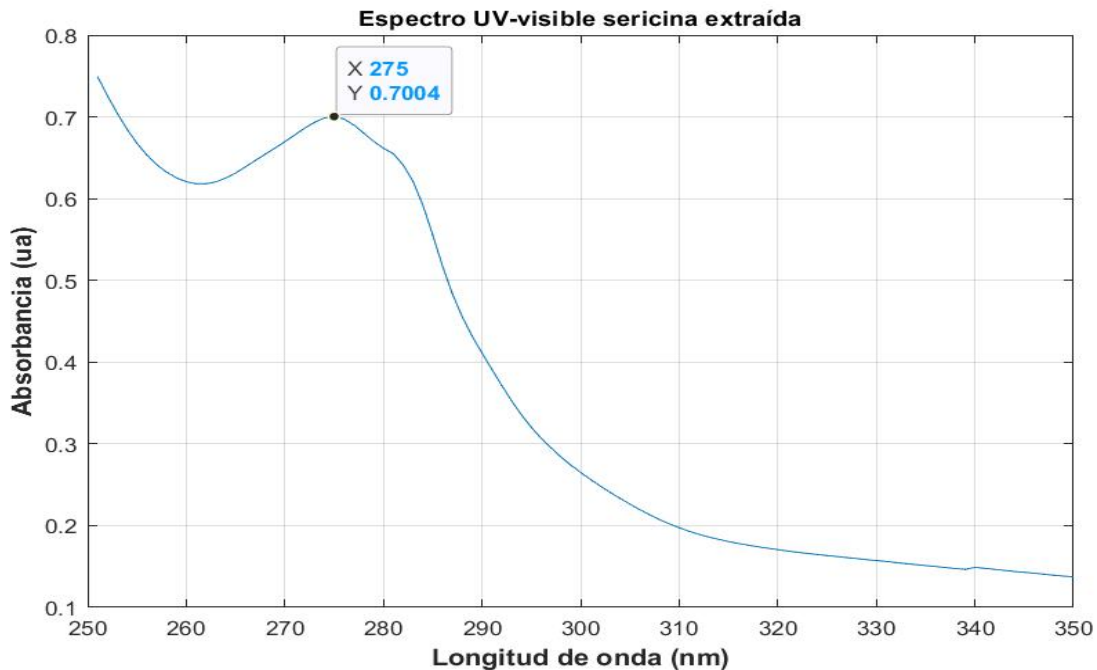


Figura 14. Espectro UV-vis de la sericina de seda extraída.

Como se puede observar en el espectro de la figura 14, se obtuvo un pico de absorbancia a una longitud de una de 275 nm. Según datos encontrados en la literatura, el espectro de absorción para la sericina muestra un pico de absorbancia en longitudes de onda cercanas a los 275 nm, lo que permite verificar la presencia de los aminoácidos característicos de esta proteína como tirosina, fenilamina y triptófano, tal y como lo reportan Yang y sus colaboradores [63].

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de las técnicas de caracterización (UV-vis y FTIR), se puede afirmar que se pudo extraer de forma exitosa la sericina desde los capullos de gusano de seda *Bombyx mori*, los espectros muestran la estructura y la composición química reportada en la literatura para esta proteína, además se pudieron verificar características que distinguen a la sericina de la fibroína como los picos encontrados en el espectro infrarrojo a  $1400\text{ cm}^{-1}$  y  $1070\text{ cm}^{-1}$ , mostrando que se pudieron separar las proteínas de forma satisfactoria.

## CAPÍTULO 4

### ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS FORMULADOS.

#### *4.1 Introducción*

Los recubrimientos para la protección de frutas y alimentos se introdujeron en la agroindustria con el fin de conservar su calidad en toda la cadena de distribución y mantener las propiedades sensoriales y nutricionales [8]. Específicamente para el banano se emplean recubrimientos a base de polímeros termoplásticos como el polietileno, protegiendo la fruta de condiciones que generan algún tipo de deterioro o maduración prematura como cambios de temperatura, plagas y microorganismos [14]. Debido al impacto negativo que tiene el uso de materiales termoplásticos en la agroindustria, se han introducido recubrimientos biodegradables a base de polímeros naturales que cumplen la función de conservar las propiedades de la fruta [7] [15].

Los materiales usados para la fabricación de recubrimientos en frutas incluyen proteínas, lípidos y polisacáridos extraídos desde fuentes naturales, se pueden usar como vehículo de agentes antimicrobianos y antioxidantes que aportan propiedades más adecuadas al recubrimiento para mantener la calidad de la fruta; el quitosano, la goma arábiga, la fibroína, el almidón y la sericina son algunos polímeros naturales que han sido estudiados para ser aplicados en recubrimientos para la protección del banano [8].

Específicamente, la sericina de seda ha sido empleada para la protección de frutas, mostrando potencial uso en la industria alimenticia, basados en su biodegradabilidad y facilidad de extracción, además de las propiedades antioxidantes, antimicrobianas, la acción antitirosinasa y la protección a los rayos uv que posee. Estas razones son importantes para introducir este biomaterial en la conservación de alimentos y además, se puede usar como vehículo de sustancias con propiedades antimicrobianas [12].



Buscando conservar la calidad de los frutos se han complementado los recubrimientos poliméricos con aditivos que aporten propiedades antimicrobianas de amplio espectro y antioxidantes además de propiedades nutricionales como es el *Aloe vera* [27]. Actualmente, esta es una de las sustancias con propiedades antimicrobianas más usada en la industria alimenticia y farmacéutica, y por ello se ha usado en recubrimientos para la conservación de frutas como el durazno, mostrando el potencial de este material como alternativa a conservantes químicos contaminantes o tóxicos [13], [25].

En la fabricación de recubrimientos a base de polímeros naturales, una de las técnicas más empleadas se denomina solvent casting, que consiste en la disolución de un polímero en un solvente y luego verter la solución en un molde y evaporar el solvente, la menor viscosidad del polímero disuelto y la agitación ayudan al entrecruzamiento físico del polímero; la elección del solvente se determina de acuerdo a la solubilidad del polímero [50]. Para recubrimientos de frutas se ha utilizado esta técnica aplicando la solución del polímero directamente sobre la fruta y evaporando el solvente a temperatura ambiente [10].

En la fabricación de recubrimientos de sericina por solvent casting suele usarse glicerol como plastificante para mejorar las propiedades mecánicas de las películas [51], de tal manera que la solución del polímero y el plastificante se entrecruzan físicamente mientras se mantienen en agitación [51], [52], lo que permite obtener películas estables y con propiedades mecánicas que dependen en gran medida de la cantidad de glicerol agregada [51].

En este capítulo se presenta el proceso de fabricación y caracterización de los recubrimientos con base en los formulados establecidos empleando la combinación de la sericina de seda, el *Aloe vera* y el glicerol como biomateriales con amplio potencial para ser utilizados en la protección del banano, empleando la técnica de solvent casting y su respectiva caracterización.

## 4.2 Metodología

### 4.2.1 Composición de los formulados

En la composición de los formulados se utilizó sericina de seda como material principal, *Aloe vera* como aditivo que potencialice las propiedades antimicrobianas y antioxidantes, y glicerol como aditivo que otorgue plasticidad a los recubrimientos.

En la preparación de los formulados se variaron las concentraciones de sericina de seda, *Aloe vera* y glicerol con el fin de obtener la cantidad apropiada de cada material que permita obtener el formulado con las propiedades químicas y morfológicas adecuadas para la protección del banano,

Se evaluaron formulados de sericina al 1%p/v y 2%p/v como blancos con el fin de observar claramente la acción de los aditivos en las propiedades del recubrimiento, se planteó la matriz experimental que se muestra en la tabla 5.

TABLA 5. MATRIZ EXPERIMENTAL DE COMPUESTOS EMPLEADOS.

Formulado	Porcentaje de Sericina % (p/v)	Porcentaje de glicerol % (p/p)	Porcentaje de Aloe Vera % (p/p)
1	1		
2	1	1	
3	1	1	1
4	1	1	2
5	2	1	
6	2	1	
7	2	1	1
8	2	1	2

La sericina de seda se extrajo a partir del protocolo de extracción de fibroína y sericina establecido en el grupo de investigación en biomateriales BioMat y se llevó a las concentraciones de trabajo (1 %p/v y 2% p/v) como se explica en el capítulo 1. Se extrajo gel de *Aloe vera* desde hojas de la planta, se maceró en un crisol y se coló para eliminar trozos. Se utilizó el glicerol marca MERCK a una concentración de 87 %p/v como plastificante de los recubrimientos.

#### 4.2.2 Preparación de los formulados

Inicialmente se prepararon las soluciones de cada formulación a partir 15 mL de solución de sericina de seda en las concentraciones de trabajo, las cantidades de los aditivos (*Aloe vera* y glicerol) se calcularon respecto al peso de la sericina de seda usando la ecuación 3.

$$Pa = Pss * x \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

Pa: Peso del aditivo

Pss: Peso de la sericina contenida en solución

x: Porcentaje del aditivo

Una vez adicionados los componentes en las cantidades adecuadas, las soluciones se agitaron durante una hora a temperatura ambiente para generar entrecruzamiento físico.

En la Tabla 6 se presenta los valores de los porcentajes y volúmenes empleados en la composición de los formulados, valores calculados en base a la cantidad en peso de sericina existente en la solución, no al volumen

TABLA 6. COMPOSICIÓN DE LOS FORMULADOS.

Formulado	Sericina de seda	Glicerol	<i>Aloe vera</i>
1	1%p/v (15mL)		
2	1%p/v (15mL)	1%p/v (1,305 uL)	
3	1%p/v (15mL)	1%p/v (1,305 uL)	1%p/v (1,305 uL)
4	1%p/v (15mL)	1%p/v (1,305 uL)	2%p/v (2,61 uL)
5	2%p/v (15mL)		
6	2%p/v (15mL)	1%p/v (1,305 uL)	
7	2%p/v (15mL)	1%p/v (1,305 uL)	1%p/v (1,305 uL)
8	2%p/v (15mL)	1%p/v (1,305 uL)	2%p/v (2,61 uL)

Para evaluar los recubrimientos, se cortaron trozos de cáscara de banano de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>, se tomaron 3 trozos para cada formulado. Luego, utilizando la técnica de solvent casting, se aplicó sobre la superficie del fragmento de cáscara 1 mL de la formulación y se dejó secar a temperatura ambiente por 1 día.

#### *4.2.3 Caracterización química y morfológica de los recubrimientos*

Con el fin de obtener información sobre los enlaces y grupos funcionales presentes en los formulados, se realizó un análisis de Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR) en un rango de barrido de 4000 cm<sup>-1</sup> a 400 cm<sup>-1</sup>, a las soluciones preparadas; para esta prueba se utilizó un equipo Perkin Elmer Spectrum Two, las soluciones empleadas fueron liofilizadas para evitar interferencias en el espectro por la presencia de agua.

Los recubrimientos aplicados sobre la cáscara de banano se secaron completamente en horno a 50°C por 12 horas y posteriormente se les realizó Microscopía Electrónica de Barrido (SEM por sus siglas en inglés) con el fin de observar la morfología de la superficie, además, se realizó un corte transversal a la cáscara recubierta con la intención de verificar la adhesión del recubrimiento a la cáscara; para esta evaluación se utilizó un equipo ZIESS EVO10; para observar la superficie de los recubrimientos se usaron aumentos de 100x y 500x, para observar los cortes transversales de la cáscara recubierta se utilizó un aumento de 1000x. adicionalmente, se empleó espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (EDS) acoplada al microscopio electrónico de barrido para caracterizar químicamente los recubrimientos sobre la cáscara de banano.

### *4.3 Resultados y discusión*

#### *4.3.1 Preparación de los formulados*

Las soluciones obtenidas para cada formulado preparadas de acuerdo con la metodología descrita se presentan en la figura 15.

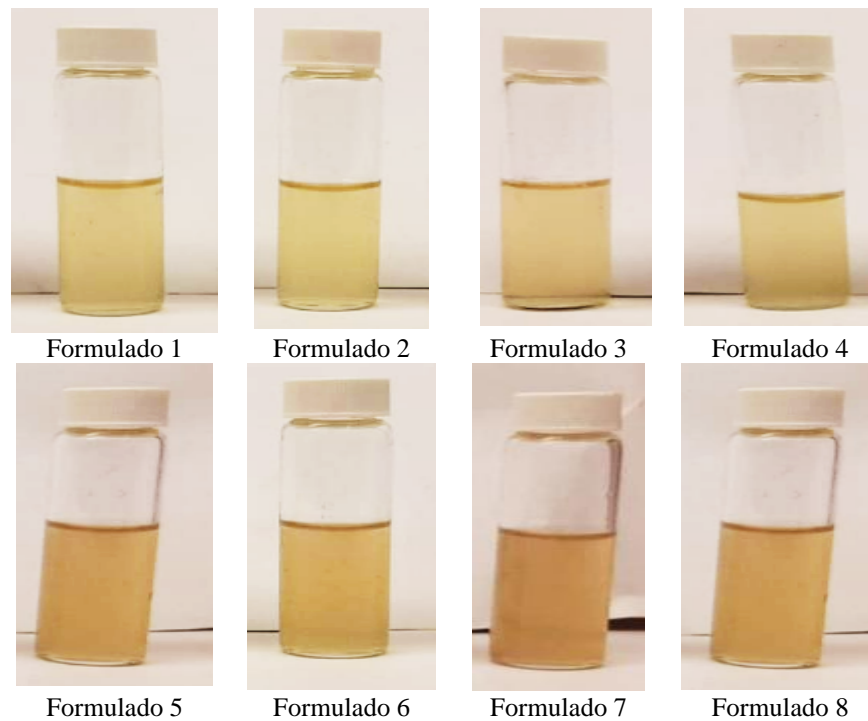


Figura 15. Formulados obtenidos.

Como se puede observar en la figura 15, los formulados con sericina al 1% (Formulados 1, 2, 3 y 4) presentaron una coloración más clara respecto a los formulados con sericina al 2% (Formulados 5, 6, 7 y 8), este resultado no difiere del obtenido en el capítulo 3 para las soluciones de sericina puras, lo que muestra que la adición de *Aloe vera* y de glicerol no modificó de gran manera el color de las soluciones preparadas, tampoco se observaron cambios en la viscosidad de las soluciones, manteniéndose igual que las soluciones de sericina puras. Como se muestra en la tabla 6, la cantidad de aditivos es muy poca respecto a la sericina, por esta razón los formulados con sericina a la misma concentración mantienen coloración muy similar, mostrando variación en la coloración respecto a la concentración del material principal, de la misma manera que se obtuvo en el capítulo 3.

#### 4.3.2 Caracterización de los recubrimientos

**Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR):** En la figura 16 se presenta el espectro infrarrojo obtenido para los formulados con sericina al 1%

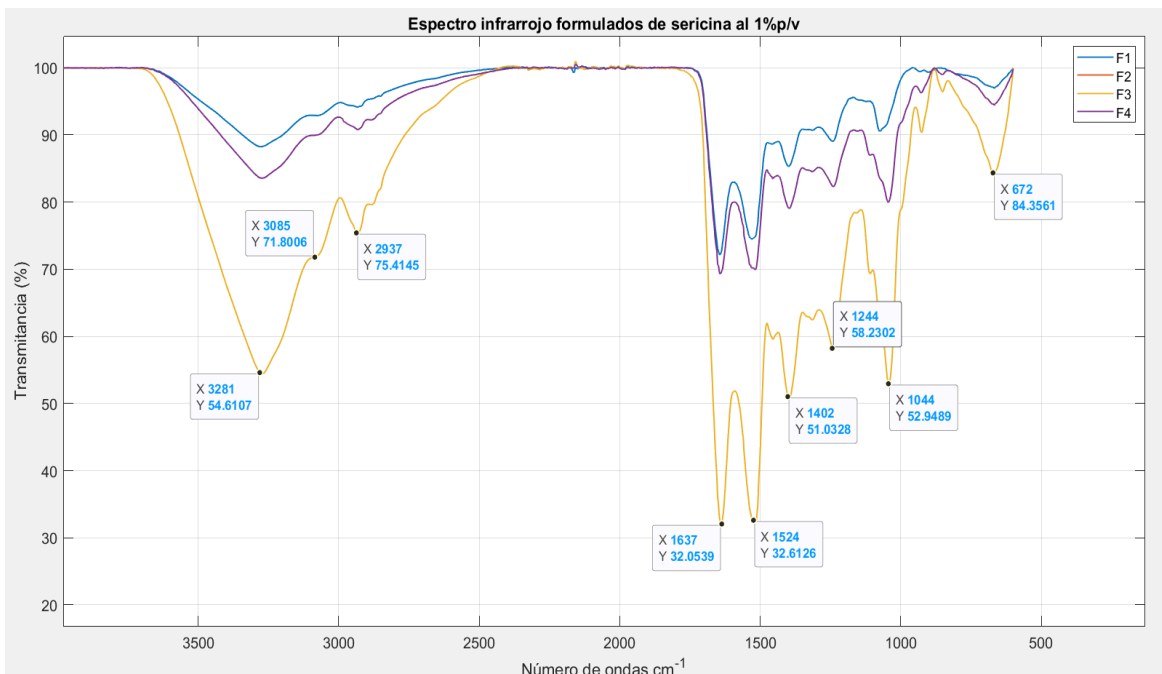


Figura 16. Espectro infrarrojo de los Formulados obtenidos con sericina al 1%.

Los cuatro formulados con sericina al 1% presentan características muy similares en sus espectros infrarrojos; el espectro del formulado 3 (amarillo) se superpuso al espectro del formulado 2 (naranja), mostrando su igualdad. Esto podría indicar que la pequeña cantidad de aloe vera no ejerce poder en el cambio de composición del formulado. Un pico a  $672\text{ cm}^{-1}$  se observa en los espectros y está asociado a la deformación del enlace C-OH presente en la estructura de la sericina como lo reporta Raguapathi *et al* [64]; el pico centrado en  $1637\text{ cm}^{-1}$  muestra la presencia de la amida I y la estructura en láminas  $\beta$  antiparalelas de la proteína, la amida II se registra gracias al pico obtenido en  $1524\text{ cm}^{-1}$ , mientras que la amida III se logra evidenciar en el pico centrado en  $1244\text{ cm}^{-1}$  [62]; los picos centrados en  $1402\text{ cm}^{-1}$  y  $1044\text{ cm}^{-1}$  se relacionan con la presencia de los enlaces  $\delta\text{OH}$ ,  $\nu\text{C}=\text{N}$  y  $\nu\text{C}=\text{C}\beta$ , y  $\nu\text{CO}_2$  característicos de la sericina como lo reporta Monti *et al* [62], Los picos centrados en las bandas a  $3069\text{ cm}^{-1}$  y  $3280\text{ cm}^{-1}$  son indicativo del estiramiento N-H presente en la sericina y el pico observado a  $2931\text{ cm}^{-1}$  que indica el estiramiento del enlace C-H típico de la proteína como lo reportan García *et al* [61].

Los formulados 2, 3 y 4 que tienen en su composición glicerol no exhiben diferencias espectrales respecto al formulado 1, el cual solo está compuesto por sericina, esto se puede explicar partiendo

de que las cantidades de glicerol en estos formulados son muy pequeñas y su interacción con la sericina puede ocultar los enlaces y grupos funcionales del plastificante, no se observan bandas alrededor de  $3321\text{ cm}^{-1}$  y  $1739\text{ cm}^{-1}$  y  $910\text{ cm}^{-1}$  características del glicerol como lo reporta Danish *et al* [65].

Respecto a la adición de *Aloe vera* tampoco se encuentran diferencias entre los formulados que poseen esta sustancia (Formulados 3 y 4) y los formulados 1 y 2 con ausencia de este, no se observan picos centrados en bandas cercanas a  $3424\text{ cm}^{-1}$  y  $2922\text{ cm}^{-1}$  típicas de los compuestos presentes en el *Aloe vera* como lo reporta Lim *et al* [66], por esta razón se puede decir que las cantidades presentes de esta sustancia en los formulados son muy pequeñas para observar su presencia en los espectros.

En la figura 17 se presenta el espectro infrarrojo obtenido para los formulados con sericina al 2%.

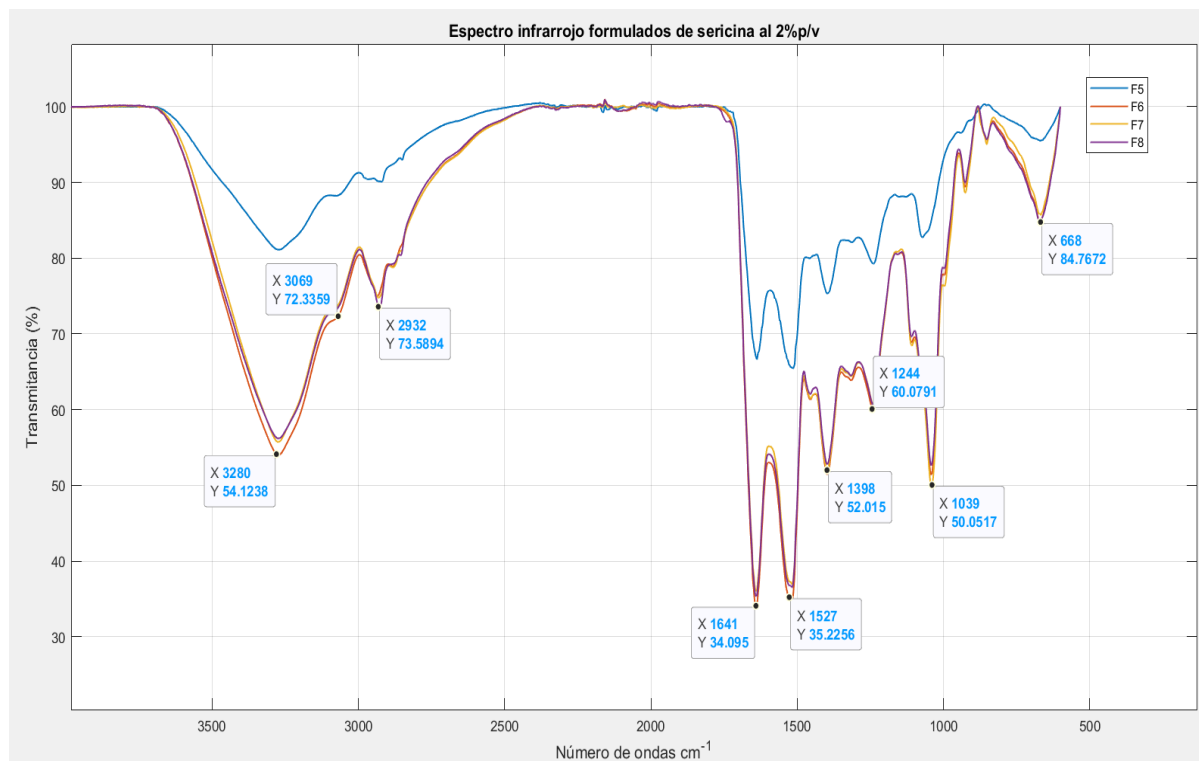


Figura 17. Espectro infrarrojo de los Formulados obtenidos con sericina al 2%.

Para los cuatro formulados con sericina al 2%, se obtuvieron espectros infrarrojos bastante similares. El pico presente a  $668\text{ cm}^{-1}$  está asociado a la deformación del enlace C-OH presente en la estructura de la sericina como lo reporta Raguapathi *et al* [64]; la amida I y la estructura en láminas  $\beta$  antiparalelas de la proteína se visualiza gracias al pico centrado en  $1641\text{ cm}^{-1}$ , la amida II se evidencia gracias al pico obtenido en  $1527\text{ cm}^{-1}$ , la banda centrada en  $1244\text{ cm}^{-1}$  muestra la presencia de la amida III [62]; las bandas presentes en  $1398\text{ cm}^{-1}$  y  $1039\text{ cm}^{-1}$  se relacionan con la presencia de los enlaces  $\delta\text{OH}$ ,  $\nu\text{C}_{\infty}\text{-N}$  y  $\nu\text{C}_{\infty}\text{C}_{\beta}$ , y  $\nu\text{CO}_2$  presentes en los aminoácidos de la sericina como lo reporta Monti *et al* [62], Los picos centrados en  $3069\text{ cm}^{-1}$  y  $3280\text{ cm}^{-1}$  indican la presencia del estiramiento N-H de la sericina y el pico observado a  $2932\text{ cm}^{-1}$  indica el estiramiento del enlace C-H característico de la proteína como lo reportan García *et al* [61].

No se observan los picos en de  $3321\text{ cm}^{-1}$  y  $1739\text{ cm}^{-1}$  y  $910\text{ cm}^{-1}$  característicos del glicerol en los formulados 6, 7 y 8 [65], exhibiendo un espectro infrarrojo similar al formulado 5 que está compuesto sólo por sericina . La adición de *Aloe vera* no modificó significativamente los espectros de los formulados 7 y 8 respecto a los otros, además no se observan picos centrados en bandas cercanas a  $3424\text{ cm}^{-1}$  y  $2922\text{ cm}^{-1}$  típicas de los compuestos presentes en el *Aloe vera* como lo reporta Lim *et al* [66], este resultado permite decir que las cantidades de este aditivo presentes en los formulados 7 y 8 son demasiado pequeñas como para observar su presencia en el espectro infrarrojo.

Los espectros infrarrojos de los ocho formulados evaluados muestran comportamiento muy similar, exhibiendo sólo las bandas características de la sericina de seda y sin evidencia de la presencia de los aditivos; lo anterior permite inferir que al añadir los aditivos no se generan cambios conformacionales en la proteína, ya que está mantiene su estructura amorfa y en láminas  $\beta$  antiparalelas que se obtuvo en el capítulo 3 para la sericina extraída, mostrando que el entrecruzamiento con el glicerol y la adición de *Aloe vera* en las cantidades usadas no modifica las propiedades de la proteína.

**Microscopia Electrónica de Barrido (SEM):** En las figuras 18 y 19 se presentan las microestructuras obtenidas por microscopía electrónica de barrido (SEM), con aumento de 100x y



500x de la cáscara de banano antes y después de aplicar los recubrimientos de sericina de seda al 1 y 2% con *Aloe vera* y glicerol, respectivamente

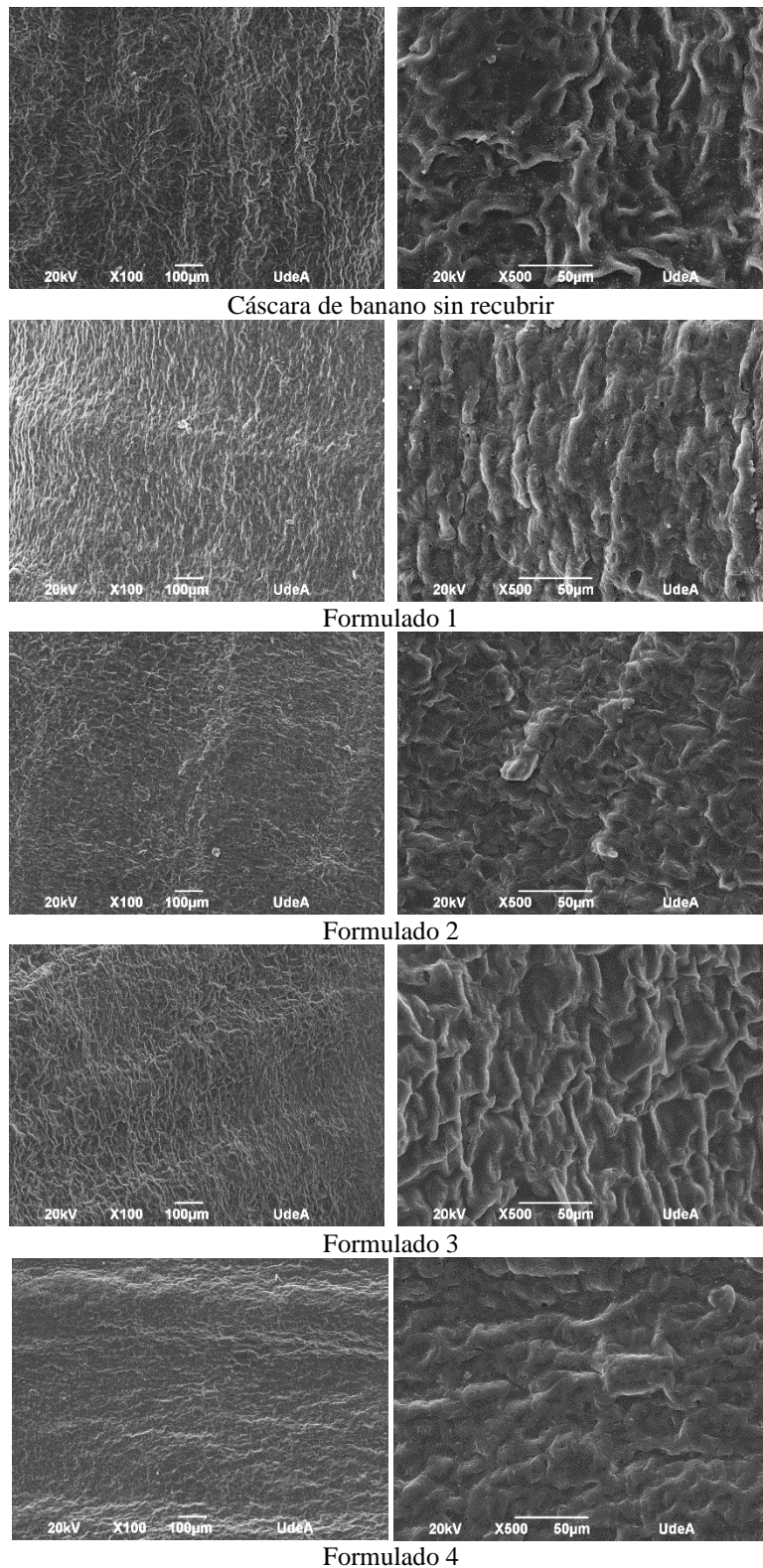


Figura 18. Imágenes SEM cáscara de banano sin recubrir y con recubrimientos de sericina al 1%

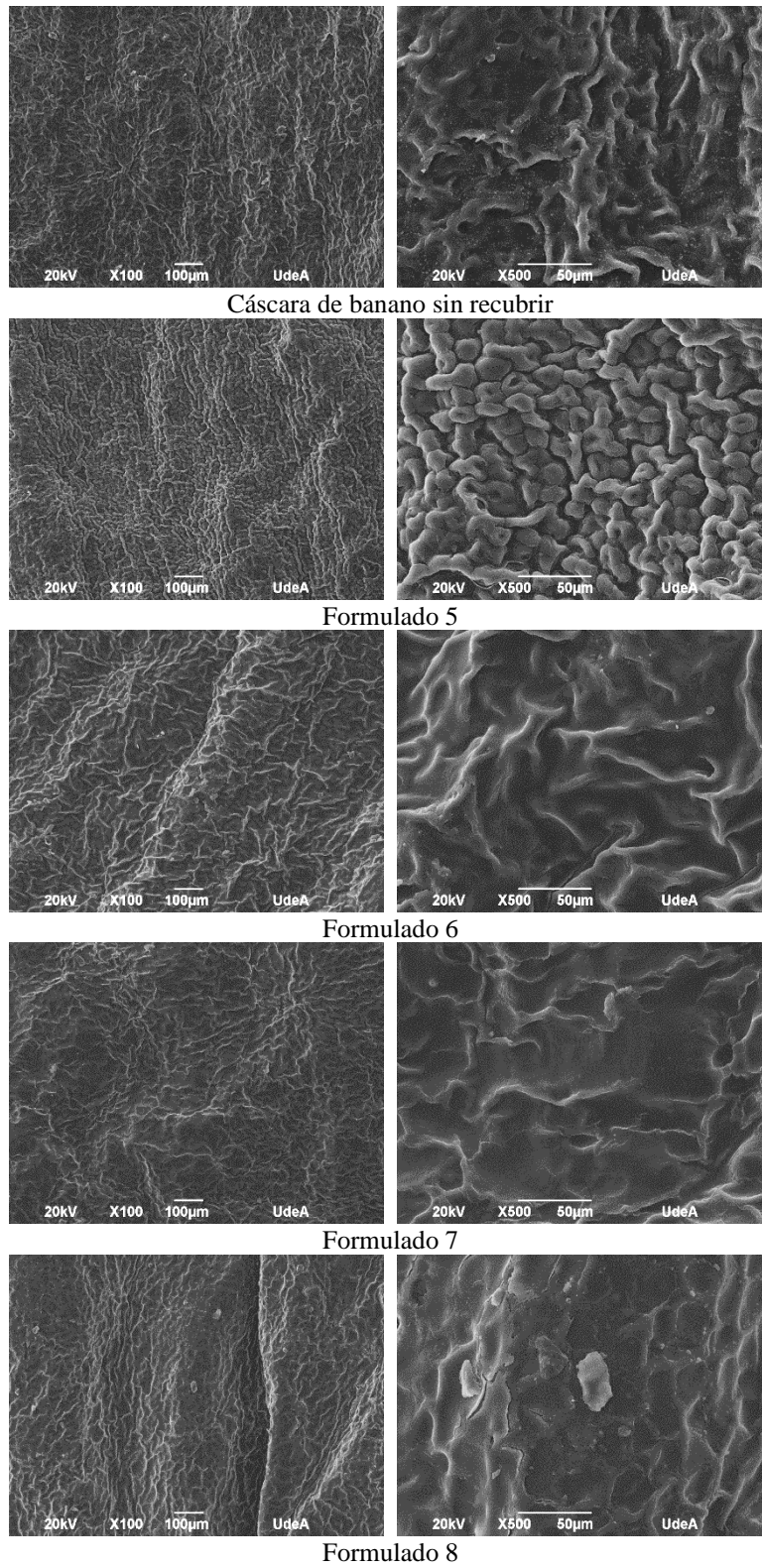


Figura 19. Imágenes SEM cáscara de banana con recubrimientos de sericina al 2%.

Las micrografías de las figuras 18 y 19 muestran la estructura rugosa de la superficie de la cáscara de banano. En la imagen se puede observar que las superficies con recubrimiento presentan cambios morfológicos respecto a la superficie sin recubrir; las superficies recubiertas se observan más opacas y uniformes que la superficie desnuda, aunque con la presencia de los recubrimientos se sigue observando en menor medida la rugosidad de la cáscara de la fruta, esto se debe posiblemente a que las películas formadas son delgadas y flexibles.

Al evaluar los recubrimientos, no se observa la presencia de material particulado en la superficie del banano que se puede observar en la superficie sin recubrimiento, sin embargo, en algunas superficies como en los formulados 1, 2, 6 y 8 se observa la presencia de pequeñas partículas y hojuelas, se pueden tratar de impurezas en el material o residuos provenientes de la sal usada en el proceso de extracción de la sericina (Carbonato de sodio) que pudieran no haberse eliminado completamente en el proceso de diálisis.

Las superficies con los formulados de sericina al 2% se observan mucho más uniformes que los recubrimientos a base de sericina al 1%, lo anterior se debe a que el mayor contenido de sericina en el formulado permite el desarrollo de una capa más densa.

En las imágenes se observan pequeñas fisuras en los formulados 6 y 8 que se pudieron haber formado durante el proceso de secado de los recubrimientos. No se observan cambios superficiales significativos que se relacionen con la adición de *Aloe vera* o del glicerol, tampoco se observan poros en la escala de los micrómetros para ningún formulado.

Los resultados obtenidos para la morfología de la superficie de la cáscara de banano recubierta concuerdan con los reportados en otros estudios donde se muestra que al cubrir la cáscara se obtienen superficies más uniformes y opacas manteniendo en alguna medida la rugosidad característica de la cáscara, lo que da un indicio de la adhesión del recubrimiento a la superficie del fruto [9].

En la figura 20 se presentan las imágenes SEM obtenidas para cortes transversales de cáscaras recubiertas con cada formulado.

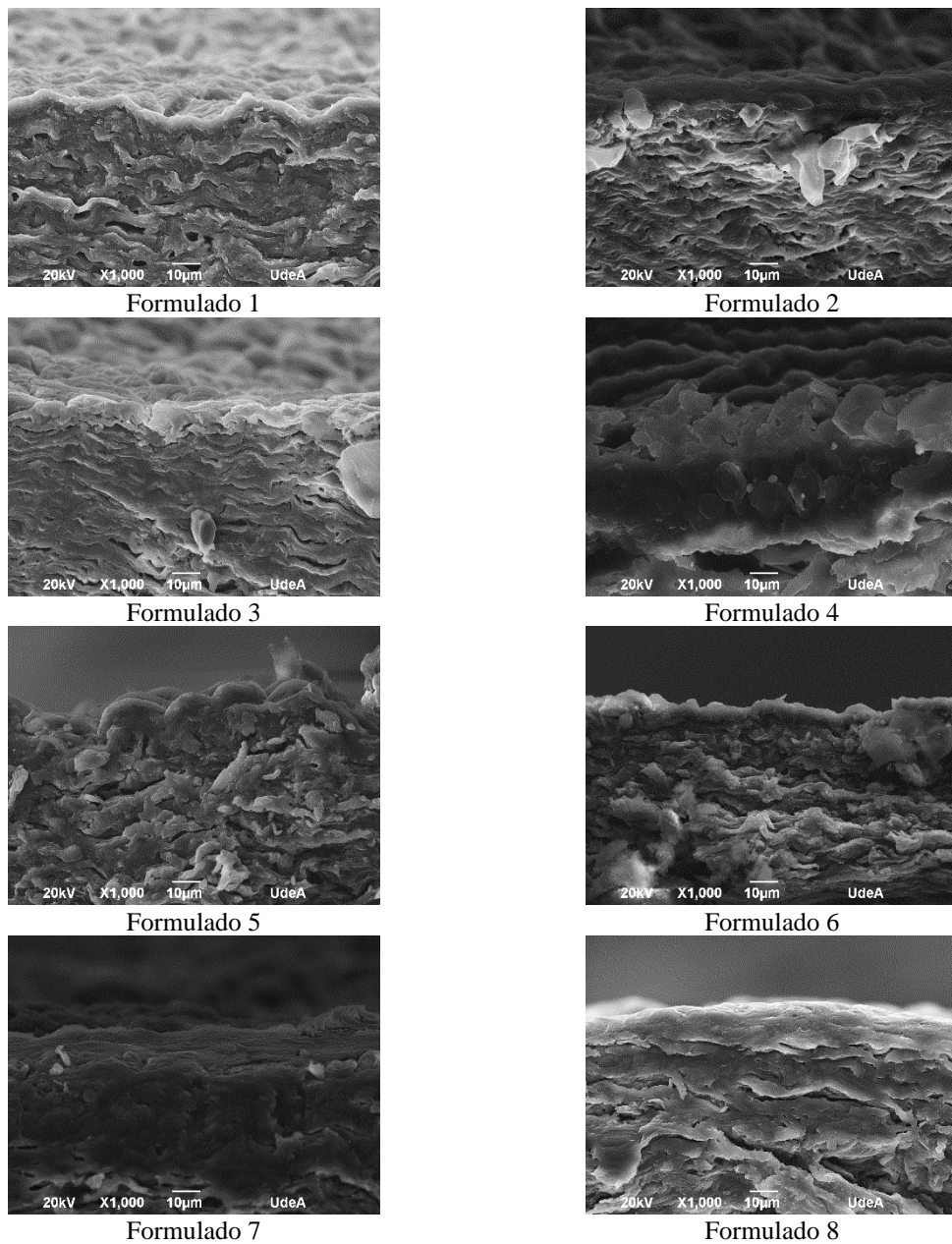
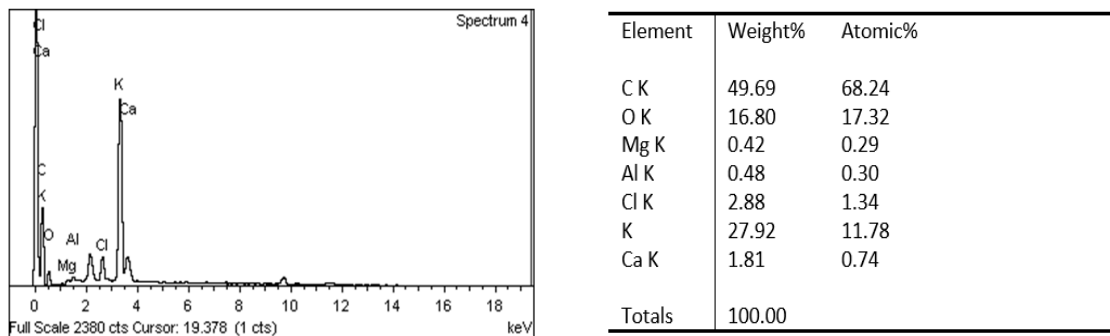


Figura 20. Imágenes SEM cotes transversales de la cáscara de banano recubierta.

En los cortes transversales de las muestras 1, 3, 6 y 8 se puede observar la deposición de los recubrimientos sobre la cáscara del fruto claramente ya que se evidencian cambios morfológicos en la superficie respecto al interior como uniformidad y brillo, además, se puede observar según la escala de las imágenes que los recubrimientos son delgados, del orden de los 10 µm; en las demás

muestras no se observan diferencias en la morfología de la superficie comparando con el interior de la cáscara, por lo tanto no se puede determinar la deposición del recubrimiento. En otros estudios sobre recubrimientos para la protección del banano se han obtenido resultados similares respecto a la morfología de la cáscara recubierta en un corte transversal, mostrando que el interior de la cáscara presenta menor uniformidad y mayor opacidad aunque esto depende de los materiales usados en los recubrimientos [9].

Para verificar la presencia de los recubrimientos sobre la cáscara de banano, los cortes transversales de las cáscaras se sometieron a prueba EDS para observar diferencias en la composición química de los recubrimientos respecto a la cáscara de banano, en la figura 21 se observa el espectro EDS de la cáscara de banano desnuda y su composición elemental.

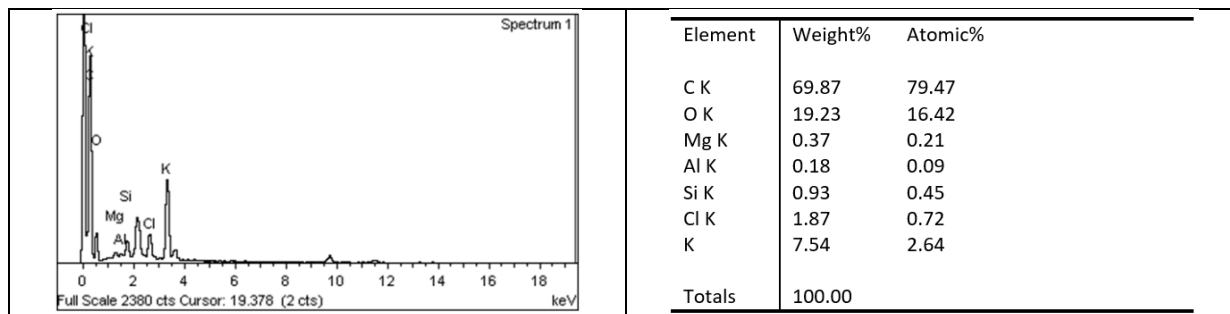


Cáscara de banano sin recubrir

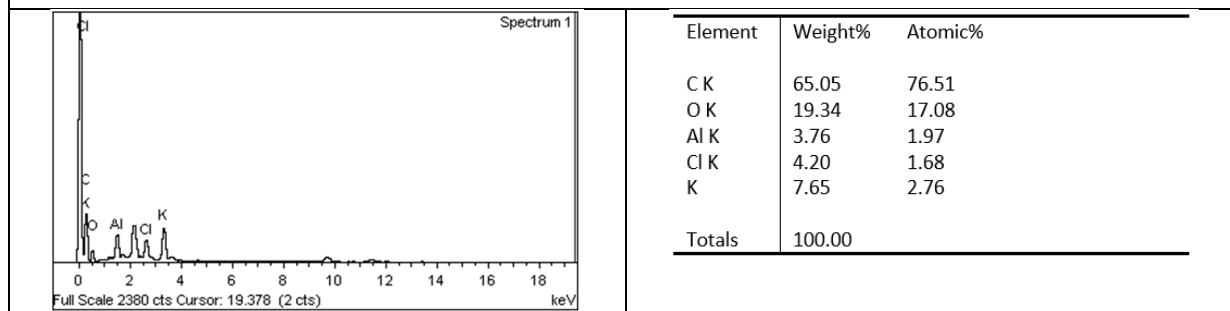
Figura 21. Espectro EDS de la cáscara de banano desnuda y su composición elemental.

Como se puede observar en el espectro y su composición en la figura 21, los elementos presentes en la cáscara de banano incluyen carbono, oxígeno, magnesio, cloro, potasio y calcio, aluminio, los anteriores concuerdan con los resultados de otros análisis composicionales de la cáscara de banano, aunque el aluminio no se reporta [67].

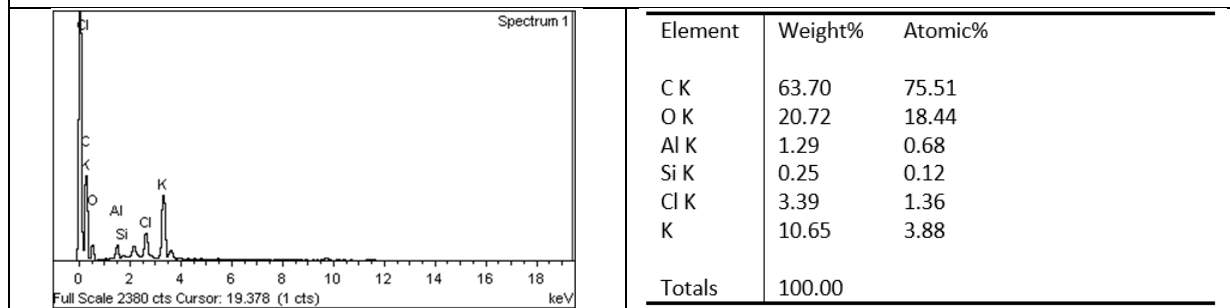
En la figura 22 se observan los espectros EDS obtenidos para los diferentes recubrimientos.



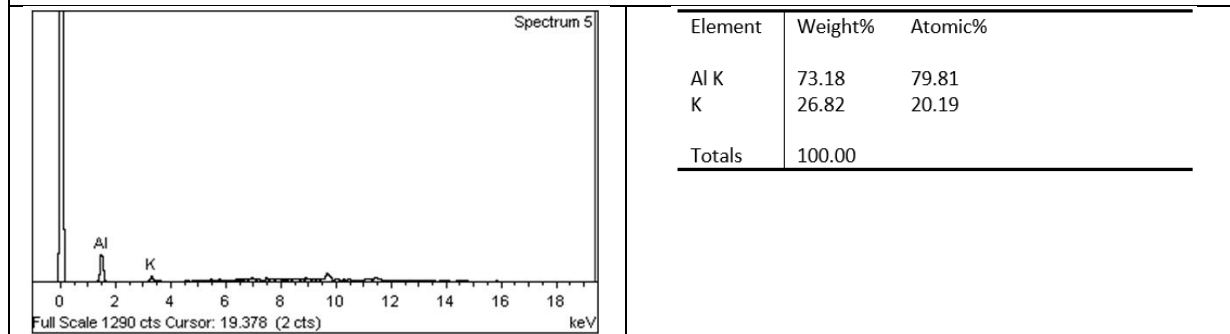
Formulado 1



Formulado 2



Formulado 3



Formulado 4

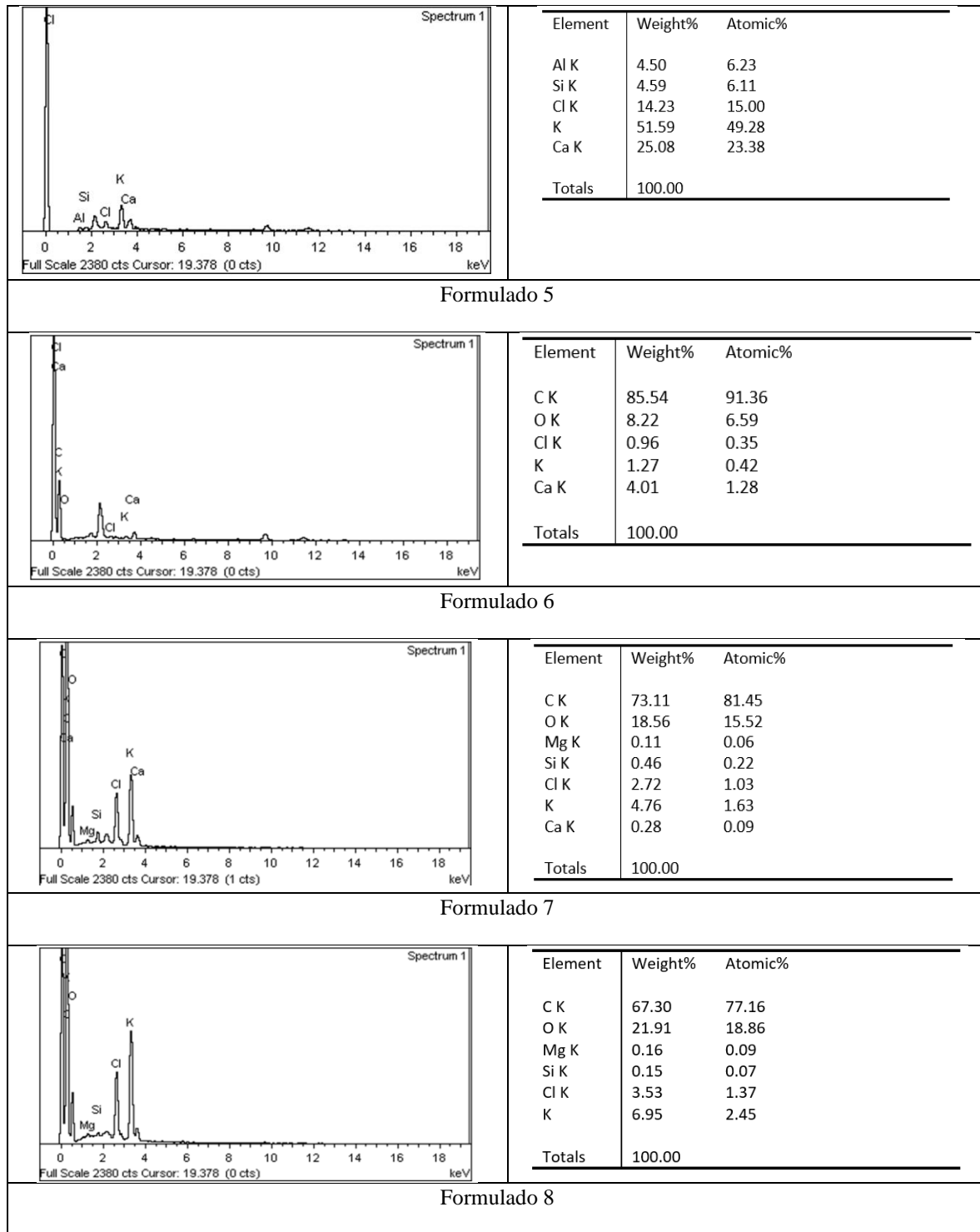


Figura 22. Espectro EDS y composición elemental de los diferentes recubrimientos.

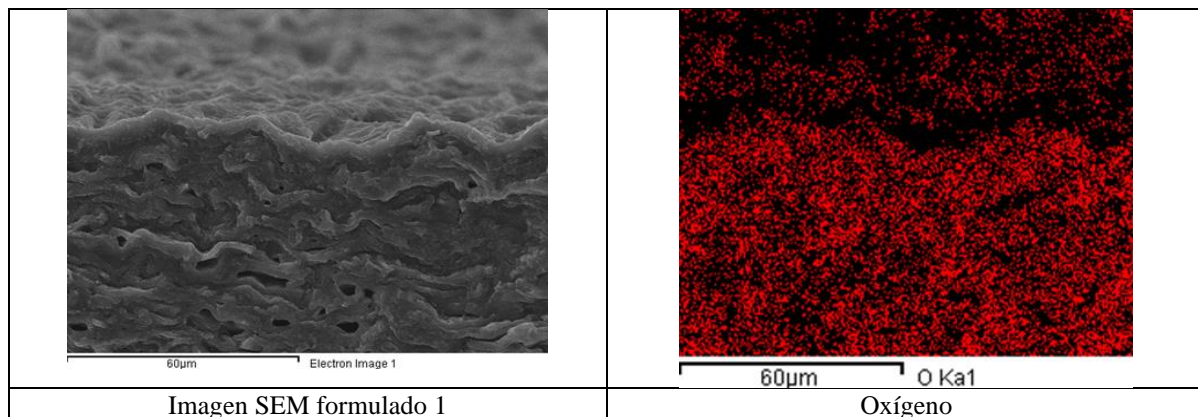
En los espectros de EDS se observan diferencias en la composición de la superficie de la cáscara de banano con y sin recubrimiento, la principal diferencia es el alto contenido de potasio que se

observa en la cáscara sin recubrimiento, que se puede observar en la figura 22, las superficies con recubrimiento comparten el alto contenido de carbono y oxígeno y el bajo porcentaje de potasio, los resultados obtenidos concuerdan con los encontrados en la literatura, donde se reporta el alto contenido de estos elementos en la sericina de seda y la ausencia de potasio en la proteína [39].

Otros elementos obtenidos en los espectros EDS como el calcio, silicio y magnesio también se reportan como elementos comunes en la cáscara de banano [68]; estos elementos logran ser detectados por el equipo en los recubrimientos de sericina, posiblemente debido a que la película formada es delgada. No se observan diferencias significativas en la composición de los recubrimientos que pueda relacionarse con la adición de *Aloe vera* o de glicerol.

En el espectro EDS de la cáscara de banano desnuda y de los recubrimientos 1,2,3,4 y 5 se puede observar la presencia de aluminio, este elemento no se reporta en la composición del banano y tampoco en los formulados [67], [39], la razón de esto puede ser la contaminación de las muestras en el proceso de recubrimiento con oro para su observación en el microscopio electrónico.

En la figura 23 se presenta la distribución de oxígeno, potasio y cloro en la imagen SEM del corte transversal de la cáscara de banana recubierta con el formulado 1; en la figura 24 se presenta la distribución elemental longitudinal en el corte transversal de la cáscara con el formulado 6.





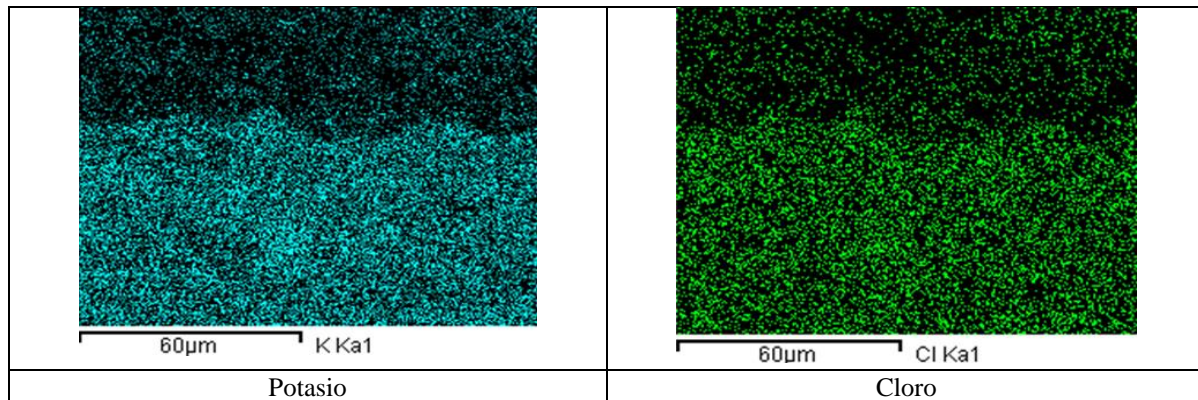


Figura 23. Mapeo EDS en el corte transversal del recubrimiento 1.

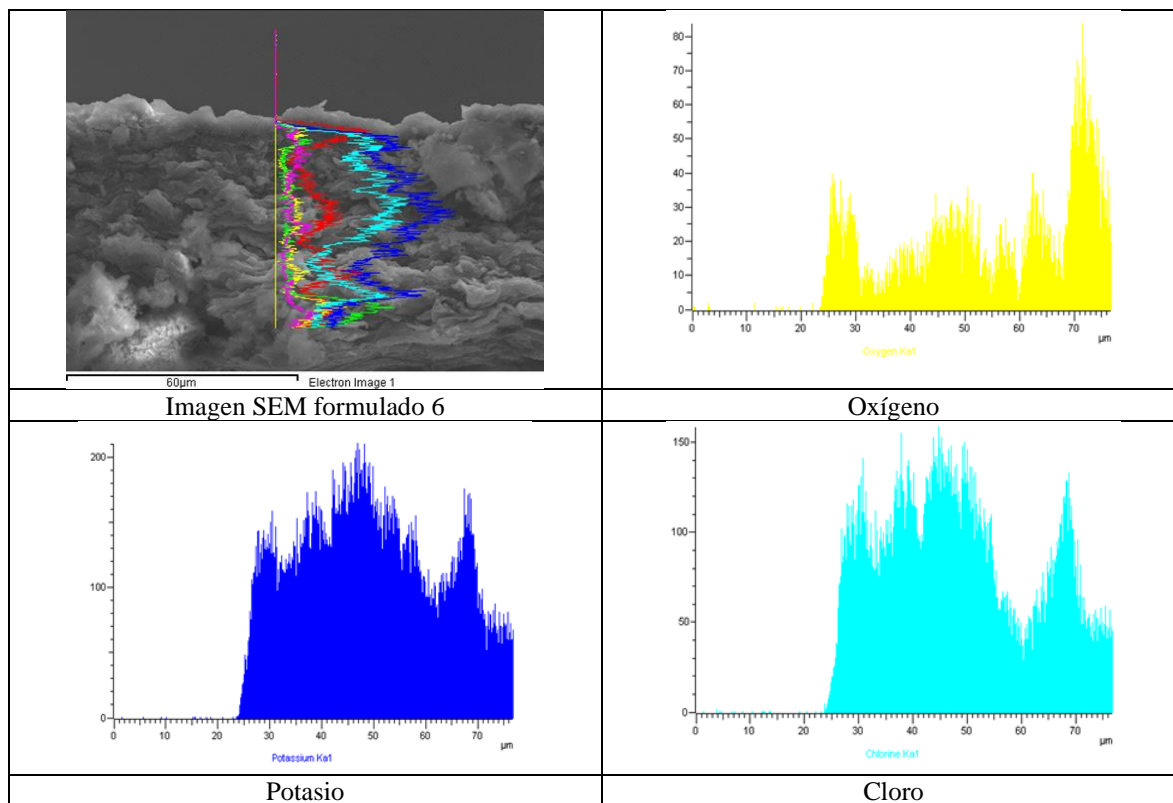


Figura 24. Mapeo EDS en el corte transversal del recubrimiento 6.

En la figuras 23 y 24 se puede observar que la superficie de la cáscara recubierta con el formulado 1 posee una menor cantidad de oxígeno comparando con el interior de esta, este elemento se reporta presente tanto en la composición de la cáscara del banano como de la sericina de seda, sin embargo,

el contenido de oxígeno en la sericina solo corresponde a porciones menores del 2% de la proteína [39], mientras que en la cáscara de banano este elemento se encuentra presente en proporciones mayores según lo reporta Suantak *et al* en un estudio realizado sobre la caracterización química de la cáscara de banano [68]; Así mismo, se puede observar la distribución de potasio en las imágenes, mostrando el mismo comportamiento, un alto contenido de este elemento en el interior de la cáscara y baja presencia en la superficie, el potasio se encuentra en grandes cantidades en todas las partes que componen el fruto del banano [68], este elemento no se reporta en la estructura de la sericina de seda [40]. De la misma manera, en la distribución de cloro en las imágenes, se observa el alto contenido de este en el interior de la cáscara, lo que concuerda con la literatura sobre la composición química de la cáscara de banana en el estudio realizado por Suantak *et al* [68], en la estructura química de la sericina de seda no se encuentra presente el elemento cloro, sin embargo la proteína puede tener trazas de este elemento ya que la sal que se usa en su extracción (Cloruro de calcio), posee este elemento y pudiera no haberse eliminado totalmente en el proceso de diálisis [62].

Las diferencias morfológicas y químicas en las superficies de la cáscara de banano desnuda y recubierta evidencian la deposición de los formulados y su adhesión, no se observan diferencias respecto a la adición de *Aloe vera* y glicerol, la caracterización de los formulados permitió obtener información sobre las características químicas de los formulados, mostrando que los aditivos en las cantidades añadidas no modifican las propiedades químicas y estructurales de la sericina de seda.

## CAPITULO 5

### APLICACIÓN SOBRE EL FRUTO, VALIDACIÓN DE PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.

#### *5.1 Introducción*

Una de las técnicas más usada para la formación de recubrimientos a base de polímeros naturales para la protección de frutas es la técnica solvent casting, la cual consiste en la aplicación de un solución polimérica sobre la superficie del fruto, el solvente se evapora a temperatura ambiente dejando el polímero depositado formando la película, el solvente a usar depende de la solubilidad del polímero; esta técnica ha sido usada ampliamente para recubrir con polímeros naturales frutas como banano, lichi, papaya, entre otros [9].

Es necesario una vez que se forma el recubrimiento sobre la fruta, evaluar las propiedades de esta que permiten observar el efecto del recubrimiento; se ha registrado que cambios de color, pérdida de peso, producción de azúcares y disminución de acidez son características encontradas en el proceso de maduración del banano, caracterizar estos cambios es útil para observar el efecto de los recubrimientos en la maduración y calidad del fruto y poder determinar si un material es apto o no para la fabricación de recubrimientos con funciones de preservación de la calidad de la fruta [10].

Por ejemplo, el procesamiento digital de imágenes es una herramienta útil para la evaluación de cambios visuales, a partir de fotografías se puede obtener información importante sobre el cambio de color, cambios de tamaño, formas y patrones, caracterizando la maduración de una fruta, ya que cambios en la pigmentación se reportan en el proceso de maduración de la mayoría de las frutas. En igual forma, para caracterizar la producción de azúcares en una fruta existen métodos cuantitativos como el ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS), este compuesto reacciona con azúcares reductores a partir de una reacción redox y usando métodos colorimétricos a 540 nm se puede

cuantificar esta reacción, este método ha sido usado para caracterizar el contenido de azúcares reductores como índice de la maduración en frutas como el banano y la piña [69]. De la misma forma, la caracterización de la disminución de acidez en una fruta también se usa como índice de maduración; en la evaluación de recubrimientos para la protección del banano se ha usado la medición de la acidez titulante para cuantificar el contenido de ácido málico en la pulpa, determinando de esta forma los estados de maduración del fruto [10].

Además de la caracterización de los cambios en la fruta, es importante evaluar las propiedades antimicrobianas de los recubrimientos fabricados para proteger y conservar frutos, en el caso particular del banano, se reporta una amplia lista de microorganismos que deterioran el fruto, por esta razón es importante determinar la acción antimicrobiana de recubrimientos para la protección de esta fruta, el método de difusión con discos es uno de los más usados para evaluar las propiedades antimicrobianas de una sustancia, es de fácil aplicación y permite obtener información clara sobre el comportamiento de un microorganismos ante la sustancia evaluada [9].

Es por todo lo anterior que en este capítulo se presenta la formación de los recubrimientos a base de sericina de seda con adición de *Aloe vera* usando el método solvent casting y la evaluación de su efecto en la calidad de la fruta; se caracterizaron la pérdida de peso, el cambio de color a partir de procesamiento digital de imágenes, la producción de azúcar a partir del método DNS y el contenido de ácido málico usando el método de acidez titulante; de igual forma, se evaluaron las propiedades antimicrobianas de los recubrimientos ante microorganismos aislados del propio fruto con el método de difusión en disco, todas las características y propiedades evaluadas permitieron determinar el formulado más apropiado para ser usado en la protección y conservación del banano.

## 5.2 Metodología

### 5.2.1 Aplicación sobre el fruto

Se partió de un racimo de banano verde proveniente de la región del Urabá antioqueño, el cual se muestra en la figura 26 a, los bananos se cortaron uno a uno y se lavaron con jabón neutro y agua

destilada, posteriormente se enjuagaron con abundante agua y se dejaron secar a la intemperie como se muestra en la figura 26b.



a) Racimo de banano



b) Bananos cortados y lavados

Figura 25. Material de partida para aplicación de los formulados.

Para aplicar el recubrimiento se usó la técnica de solvent casting; de la misma manera como se explicó en el capítulo 4, se elaboraron 200 mL de cada formulado, tres bananos por cada formulación se sumergieron en la solución correspondiente y se dejaron secar a temperatura ambiente para evaporar el agua.

### 5.2.2 Evaluación y seguimiento de los bananos en el tiempo

**Pérdida de peso:** Cada banano se marcó para identificarlo, se tomó registro de su peso el día de la aplicación de los recubrimientos y cada 24 horas hasta el día 12.

**Color:** Para el seguimiento del cambio de color se tomaron fotos de cada banano desde el día de aplicación de los recubrimientos y cada 24 horas durante 12 días, manteniendo constante la configuración de la cámara, la fuente de luz y la distancia de la cámara al fruto, esto con el fin de que todas las fotos fueran tomadas bajo las mismas condiciones.

Cada fotografía se ingresó en un algoritmo de procesamiento de imágenes que comprende los siguientes pasos: La imagen del fruto se convirtió del espacio de color RGB a escala de grises, se aplicó la técnica de umbralización, la cual permite separa los pixeles de la imagen donde se

encuentra el banano asignándoles un valor de pixel igual a 1 y poniendo en cero los pixeles que no corresponden al banano, obtenido una imagen binaria o mascara; esta imagen binaria se multiplicó por la imagen original en el espacio de color RGB, obteniendo una imagen RGB que conserva los pixeles que corresponden al banano en su valor original y los demás en cero, de esta manera se obtiene una imagen segmentada RGB que posee solo la información de los pixeles que pertenecen al fruto, esta se convirtió de RGB al espacio de color CieLab, el cual expresa la imagen en tres componentes (L, A y B), como se observa en la figura 27 el componente L corresponde a luminosidad, el componente A positivo indica rojo y negativo indica verde y el componente B es positivo para amarillo y negativo para azul, se obtuvieron promedios de cada componente de la imagen en el espacio de color CieLab para observar los cambios de amarillo y verde de los bananos durante los días de evaluación y así determinar su estado de maduración [70].

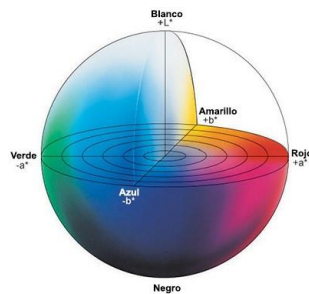


Figura 26. Imagen en tres componentes (L, A y B) [4].

En la figura 28 se presenta un diagrama del algoritmo de procesamiento de imágenes aplicado.

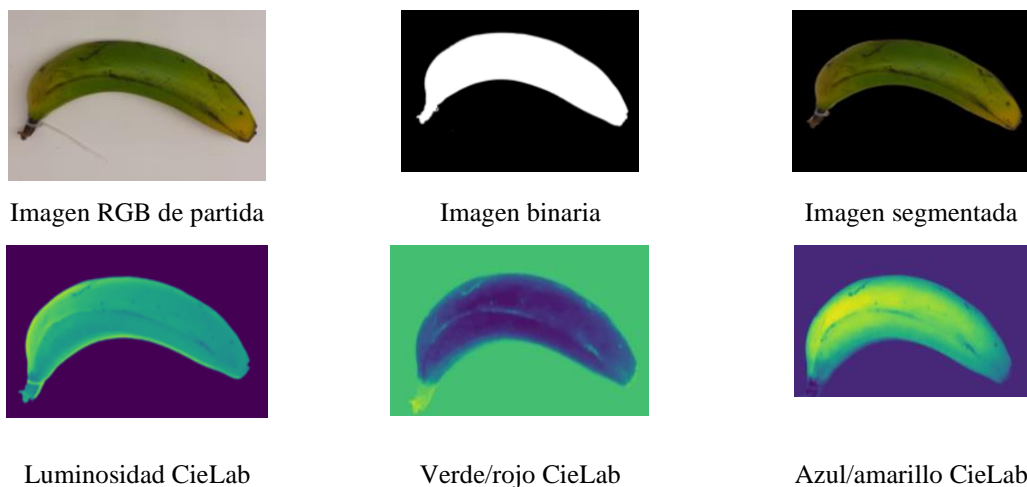


Figura 27. Diagrama del algoritmo de procesamiento de imágenes aplicado.

**Azúcar reductor:** Se utilizó el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) para cuantificar los azúcares reductores presentes en la pulpa del banano.

**Preparación del reactivo DNS:** Se preparó una solución de NaOH al 2N en un Erlenmeyer de 500ml con agitación constante, para esto fue necesario pesar 8g de NaOH en perlas y diluirlo en 100ml de agua destilada. A esta solución se le adicionaron 150g de tartrato de sodio y potasio y se completó el volumen hasta 500ml usando agua destilada; se dejó en agitación hasta que la solubilidad completa, esta solución se guardó en recipiente ámbar de 1L. Finalmente, se adicionaron 5g de DNS (ácido 3-5 dinitrosalicílico), una vez añadido el DNS se completó el volumen con agua destilada hasta 1L.

**Curva de calibración:** Se pesaron 0.1g de glucosa y se llevaron a un volumen de 50ml para tener una solución de 2g/L, se tomó una alícuota de 5ml y se llevó a 25ml para tener una solución de 0.4g/L, con esta última solución se prepararon las diluciones que se muestran en la tabla 6, obteniendo 1 mL de cada solución.

TABLA 7. DILUCIONES PARA CONCENTRACIONES A USAR EN LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

Solución	[glucosa] (g/L)	$V_{soln}$ madre (mL)	$V_{H_2O}$ destilada (mL)
Blanco	0	0	1
1	0.04	0.10	0.9
2	0.08	0.20	0.8
3	0.12	0.30	0.68
4	0.16	0.40	0.60
5	0.20	0.50	0.50
6	0.24	0.60	0.40
7	0.28	0.70	0.30
8	0.32	0.80	0.20
9	0.36	0.90	0.10
10	0.40	1	0.000

Cada solución obtenida se dispuso en tubos de ensayo ámbar y se agregó a cada uno 1 mL del reactivo DNS preparado, se taparon y se llevaron a baño maría durante 5 minutos, luego, se llevaron

a enfriamiento con hielo durante 5 minutos para parar la reacción, finalmente se midió la absorbancia de cada muestra a 540 nm, se realizó una curva de concentración de glucosa vs absorbancia y se halló su ecuación, obtenido así la curva de calibración o curva patrón que relaciona la concentración de glucosa con la absorbancia de la muestra a 540 nm.

***Preparación del extracto de la pulpa del banano:*** Se tomaron 50 gramos de cada banano y se licuaron con 100 mL de agua destilada hasta obtener homogeneidad, luego, se centrifugo durante 10 minutos a 2000 rpm, al finalizar se dispuso el sobrenadante (extracto de la pulpa) de cada muestra en tubos de ensayo y se desecharon los sólidos.

***Medición de azúcar reductor:*** Se tomó 1 mL de cada sobrenadante y se mezcló con 1 mL del reactivo DNS en tubos de ensayo ámbar tapados que fueron sometidos a baño maría durante 5 minutos y luego a enfriamiento con hielo durante 5 minutos, se midió la absorbancia de cada muestra a 540 nm y a partir de la curva de calibración realizada, se obtuvo un valor de concentración de azúcares para cada muestra.

***Acidez titulante:*** Se tomaron 5 mL de extracto de banano de cada muestra y se titularon con NaOH al 0,1 N, se utilizó un titulador y un medidor de pH como se observa en la, la cantidad de volumen de NaOH necesaria para titular cada muestra se expresó como la cantidad de ácido málico por cada 50 g de pulpa.

### *5.2.3 Evaluación antimicrobiana*

***Aislamiento de microorganismos desde la cáscara del banano:*** Se tomó una cáscara de banano y se dispuso en un agar papa dextrosa, los diferentes microorganismos que se presentaron crecimiento se inocularon de forma individual hasta obtenerlos de forma aislada, se realizó una caracterización de cada microorganismo a partir de la morfología de sus esporas y su micelio observados en microscopio óptico y usando azul de lactofenol como colorante.

***Evaluación de la capacidad antimicrobiana de los formulados:*** 4 discos de papel filtro de 7 mm de diámetro se impregnaron con 10 uL de solución de cada formulado, estos discos se dispusieron



en una caja de Petri con agar papa dextrosa y se ubicaron a 2 cm del centro de la caja, se inoculo con un disco de micelio de 5 mm de diámetro de cada microorganismo aislado, como control negativo se utilizó agua destilada estéril, y como control positivo se usó el fungicida carbendazim a una concentración de 0,5 g/L, se incubaron las cajas a 27 °C durante 7 días y se observó el crecimiento del microorganismo.

### 5.3 Resultados y discusión.

#### 5.3.1 Pérdida de peso

En la figura 29 se presentan los resultados obtenidos para la pérdida de peso de los frutos recubiertos con los formulados de sericina al 1% y el control.

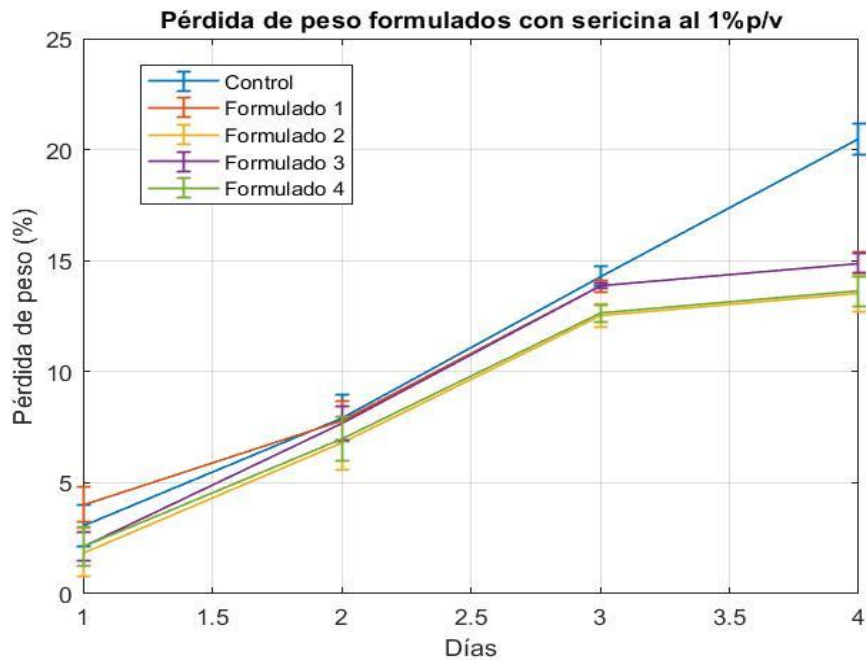


Figura 28. Pérdida de peso de los frutos recubiertos con los formulados de sericina al 1% p/v y el control.

En la figura 30 se presentan los resultados obtenidos para la pérdida de peso de los frutos recubiertos con los formulados de sericina al 2% y el control que corresponde a frutos sin recubrir.

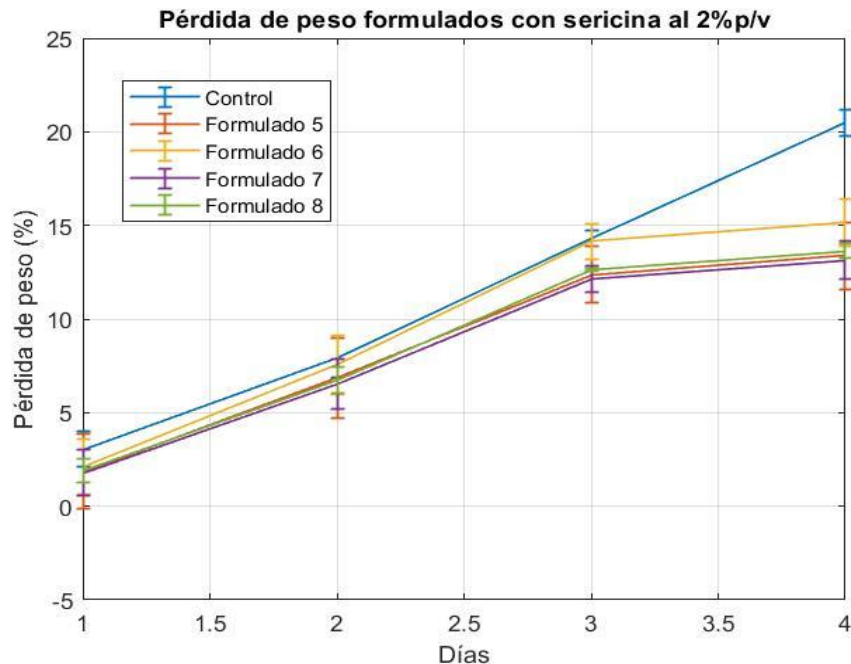


Figura 29. Pérdida de peso de los frutos recubiertos con los formulados de sericina al 2%p/v y el control.

Se puede observar en las figuras 29 y 30 que todos los frutos recubiertos con los formulados a base de sericina de seda presentaron menor pérdida de peso que los frutos sin recubrir (control). En el caso de los formulados de sericina al 1%, los formulados 2 y 3 mantuvieron el fruto con menor pérdida de peso respecto al formulado 3; por su parte, los frutos recubiertos con los formulados 5, 7 y 8 a base de sericina de seda al 2% presentaron valores de pérdida de peso muy similares y menores al formulado 6. El hecho de que los frutos recubiertos con los formulados evaluados presenten menor pérdida de peso respecto al control permite sospechar la eficacia de los formulados para mantener la calidad de la fruta en el tiempo ya que la pérdida de peso se reporta como una de las características de frutas en altos estados de maduración [29].

### 5.3.2 Color

En las figuras 31 y 32 se presentan los resultados obtenidos en el código de proceso de imágenes para la coordenada de amarillo de las fotografías de los frutos recubiertos con los formulados de sericina al 1% y 2% respectivamente el punto 9 corresponde al control.

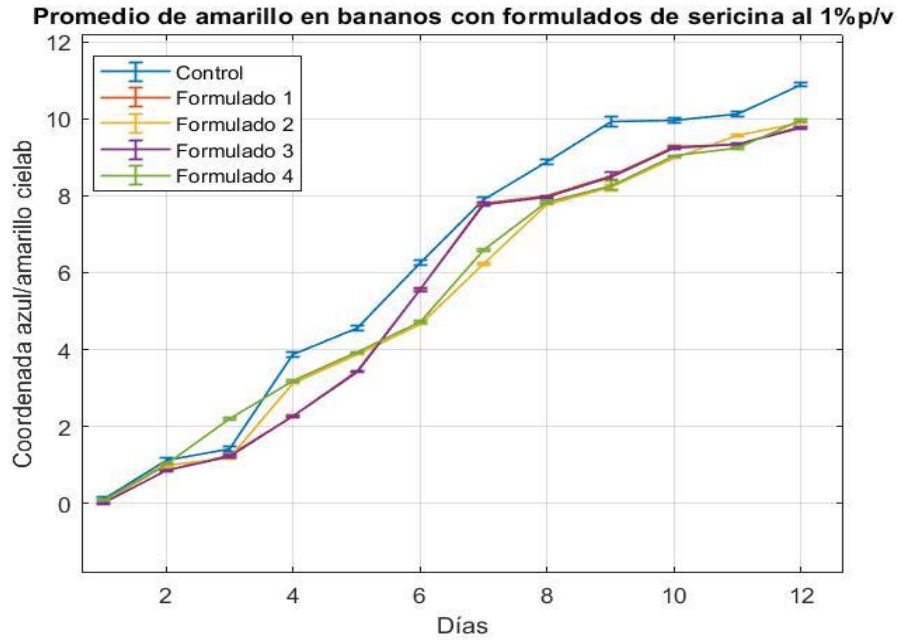


Figura 30. Resultados color para frutos con formulados de sericina al 1%p/v y el control.

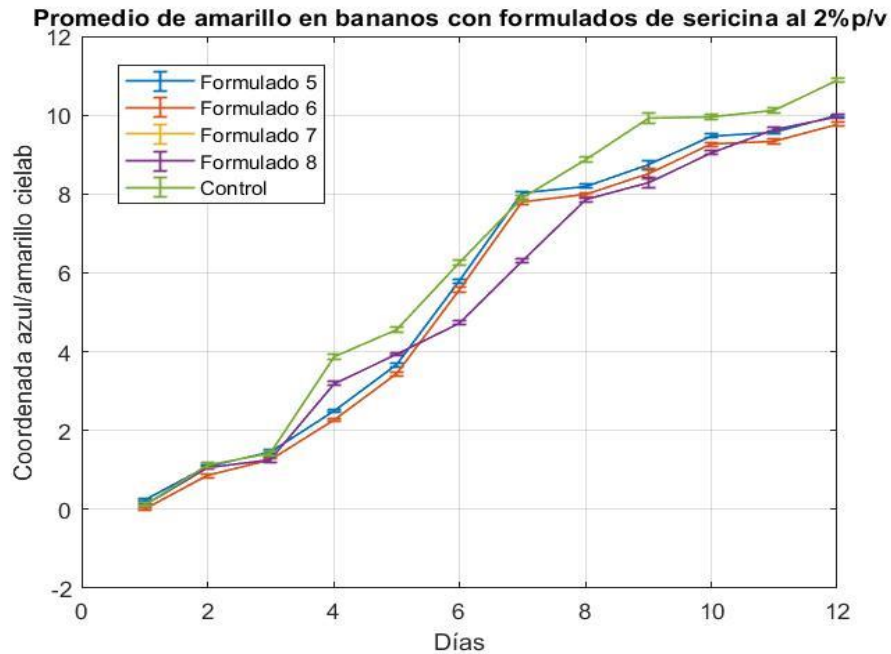


Figura 31. Resultados color para frutos con formulados de sericina al 2%p/v y el control.

La información presentada en las figuras 31 y 32 muestra que los frutos recubiertos con los formulados a base de sericina de seda en las dos concentraciones de trabajo mantuvieron durante la mayoría de días del estudio un valor de amarillo menor respecto a los frutos sin recubrir (control);

en el día 12, los frutos control presentaron una mayor coordenada de amarillo, verificando que se encuentran en un estado de maduración más avanzado comparando con los frutos recubiertos con los formulados estudiados. En la literatura se reporta que frutos de banano con mayor contenido de amarillo se encuentran en fases avanzadas del proceso de maduración [71]; así mismo, se puede observar que los frutos recubiertos mantuvieron características de color muy similares entre sí durante todos los días del estudio y en el día 12 el valor de amarillo para todos los frutos fue muy similar y cercano a 10, evidenciando que los frutos recubiertos se encuentran en estados de maduración muy cercanos.

### 5.3.3 Azúcar reductor

En la figura 33 se presenta línea de tendencia que se aproxima de mejor forma a los datos obtenidos en la calibración del método DNS para la cuantificación de azúcares.

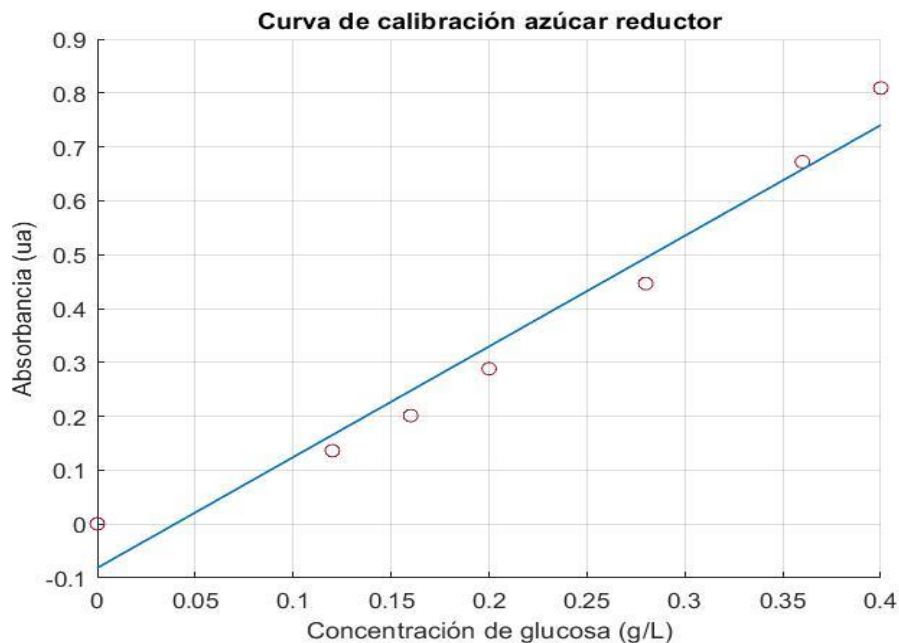


Figura 32. Curva de calibración método DNS.

Para la línea de tendencia para la cuantificación de azúcares por el método DNS que se observa en la figura 33 se obtuvo un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0,964, mostrando un ajuste adecuado

de la línea a los datos obtenidos en la calibración, la ecuación 4 está asociada a la línea de tendencia y relaciona la concentración de glucosa en función de la absorbancia.

$$C = \frac{A+0.0813}{2.0545} \text{ (Ecuación 4)}$$

Donde:

C= concentración de glucosa (g/L)

A= Absorbancia (ua)

La ecuación 4 se utilizó para determinar la concentración de azúcar en la pulpa de los frutos recubiertos y control, en la figura 34 se presentan los resultados obtenidos para esta cuantificación, el valor relacionado al número 9 corresponde a los frutos sin recubrir (control).

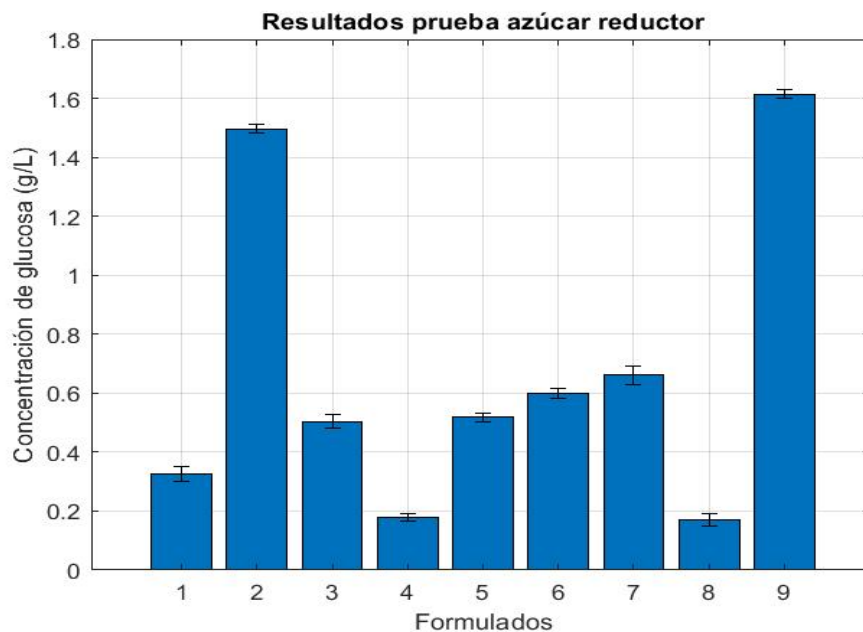


Figura 33. Resultados prueba azúcar reductor por método DNS.

Se logra evidenciar que se obtuvieron concentraciones de azúcares por encima del límite de la curva de calibración (0.4 g/L), y a pesar de que el método DNS no asegura linealidad por encima de estos límites [72], se puede observar claramente que todos los frutos recubiertos presentaron menor contenido de azúcar comparando con el control, además, los bananos recubiertos con los

formulados 1, 4 y 8 presentaron los menores contenidos de azúcar y sus valores están dentro de los límites de la curva de calibración de la figura 32; lo anterior permite sospechar que los frutos de bananos recubiertos con estos formulados se encuentran en estados de maduración tempranos respecto a los demás, ya que en la literatura se reporta que la maduración del fruto se caracteriza por un incremento en el contenido de azúcares [29].

### 5.3.4 Acidez titulante

En la figura 35 se presentan los resultados obtenidos para la acidez titulante en la pulpa de los frutos recubiertos con los formulados de sericina al 1%p/v y 2%p/v, el punto 9 corresponde al control.

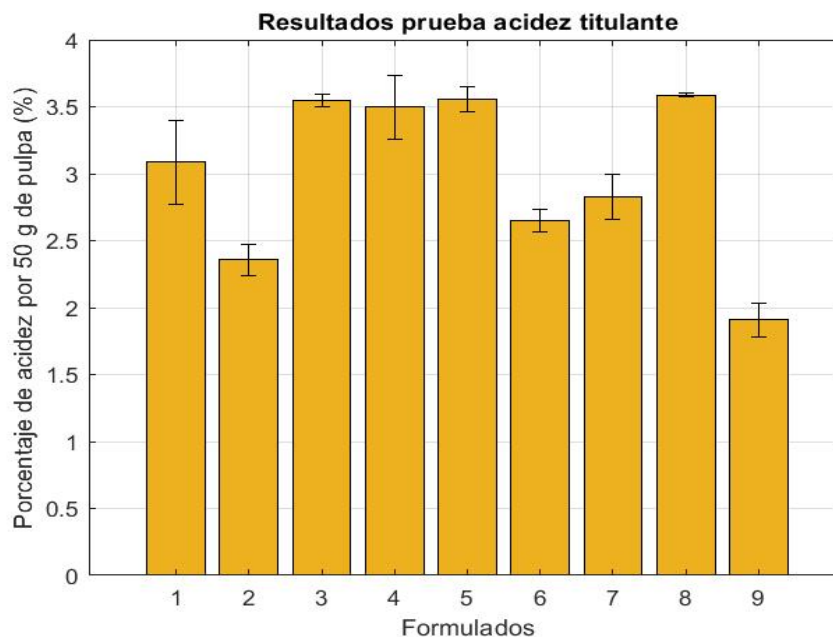


Figura 34. Resultados prueba de acidez titulante.

Los datos que se observan en la figura 35 muestran que los frutos que fueron recubiertos con todos los formulados estudiados presentaron un mayor porcentaje de acidez comparando con el control, los formulados 3, 4, 5 y 8 presentaron los más altos contenidos de ácido; este resultado permite corroborar el efecto de los recubrimientos fabricados en la maduración de la fruta, ya que se reporta

que los bananos con mayor contenidos de ácidos se encuentran menos maduros que los que poseen bajos contenidos [10].

Las pruebas de pérdida de peso, color, azúcar reductor y acidez titulante evidencian el efecto positivo que tiene la aplicación de los recubrimientos estudiados en la calidad del fruto del banano; los resultados de todas las pruebas aplicadas muestran que los frutos recubiertos se mantuvieron en estados de maduración más tempranos comparando con aquellos frutos que no se recubrieron. A pesar de que estas pruebas no son concluyentes respecto a cuál de los formulados mantiene la fruta en mejores condiciones, según lo observado, los formulados 4 y 8 presentan de forma global los mejores resultados, mostrando que la adición de *Aloe vera* y glicerol puede generar pequeños cambios en el comportamiento del formulado, aportando propiedades adecuadas para la conservación de la fruta.

### 5.3.5 Aislamiento de microorganismos desde la cáscara del banano.

Al disponer un trozo de cáscara de banano proveniente del Urabá antioqueño en agar papa dextrosa se presentó crecimiento de diferentes microorganismos como se muestra en la figura 36.



Figura 35. Agar papa dextrosa con colonias inoculadas desde cáscara de banano.

En la figura 36 se pueden diferenciar tres microorganismos, uno con coloración rojiza otro verde y otro marrón, al inocular cada uno de los micelios obtenidos de forma individual y observar la morfología y características de sus esporas en microscopio óptico usando como colorante azul de lactofenol, se obtuvieron los resultados que se presentan en la figura 37.



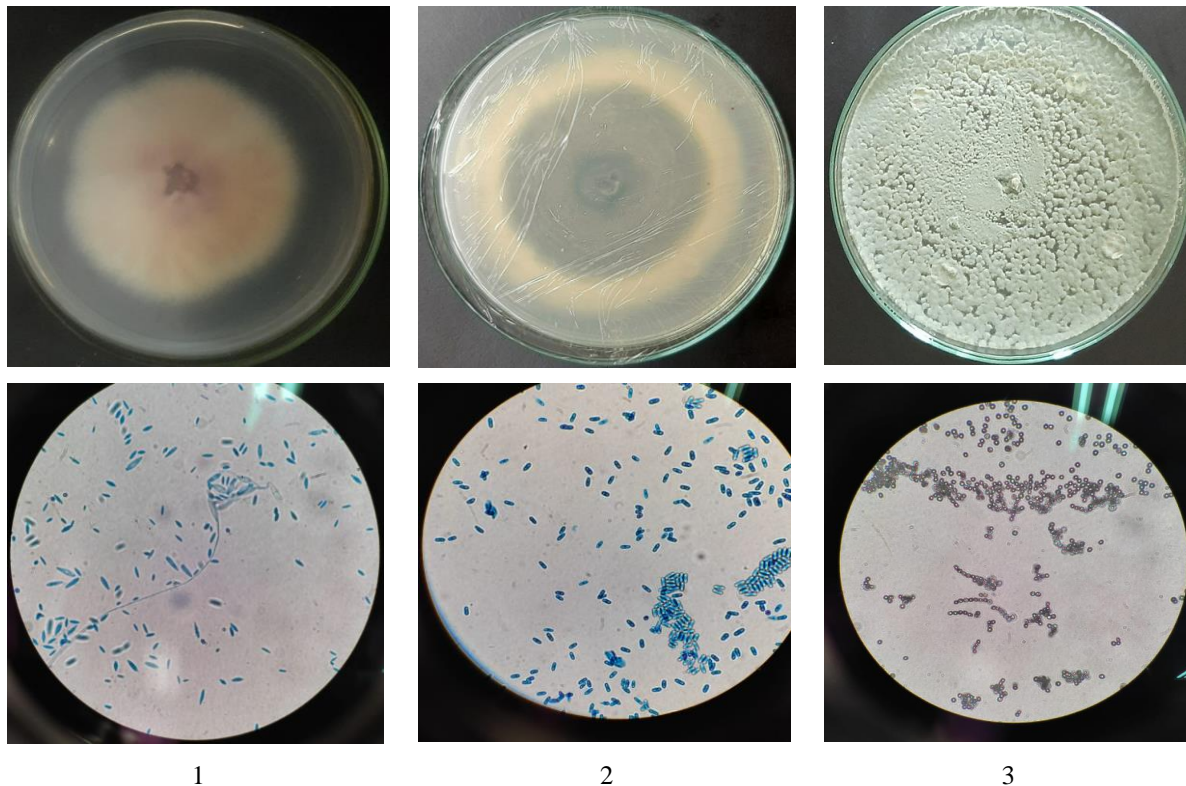





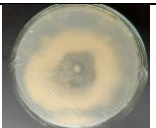





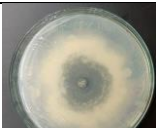
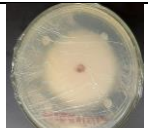







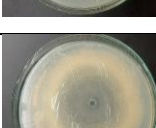
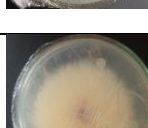
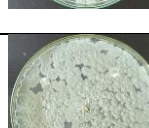
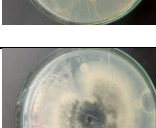
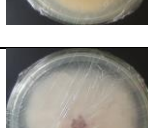

Figura 36. Colonias aisladas desde la cáscara de banano y su estructura microscópica.

La colonia 1 mostró coloración blanca-rojiza con centro violeta oscuro y sus esporas presentaron forma ovala con picos como se observa en la figura 37, estas características han sido previamente descritas por Kenneth *et al* [73] en la caracterización de hongos de la especie *Fusarium*, además se reporta ampliamente en la literatura la presencia de hongos de esta especie en la planta y fruto del banano [5]. Por su parte la colonia 2 creció de forma circular con coloración gris, formación de anillo concéntricos y con presencia de masas anaranjadas en el centro, las esporas presentaron forma ovalada, estas características morfológicas concuerdan con las encontradas por Rojo-Baez *et al* para hongos del género *Colletotrichum* [74]. Finalmente, la colonia 3 presentó coloración blanca en los extremos y verde en el centro, sus esporas se observaron circulares, la morfología descrita coincide con la presentada por Allende *et al* para la caracterización de hongos del género *Penicillium*, también se tiene evidencia en la literatura de la presencia de este microorganismo en frutas [5]. Aunque las características visuales descritas no son suficientes para caracterizar los microorganismos aislados desde la cáscara de banano, dan un indicio importante sobre la naturaleza de las colonias [73].



5.3.6 Evaluación de las propiedades antimicrobianas de los formulados.

En la figura 38 se observan los resultados obtenidos usando el método de difusión por disco para la evaluación bacteriana de los formulados

	<i>Colletotrichum</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>
Formulado 1			
Formulado 2			
Formulado 3			
Formulado 4			
Formulado 5			
Formulado 6			
Formulado 7			
Formulado 8			

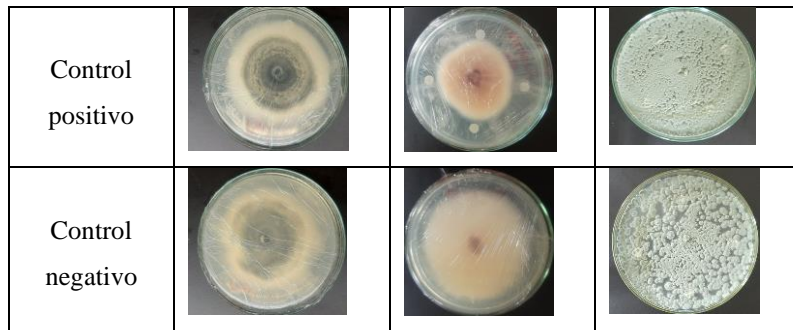


Figura 37. Resultados prueba de actividad antimicrobiana de los formulados.

En la figura 38 se puede observar que tanto para los formulados como para los controles no se obtuvo halo de inhibición para el hongo del género *Penicillium*, en todas las cajas se observa crecimiento de este microorganismo en toda el área de esta, por lo tanto se puede afirmar que los formulados no presentaron actividad antimicrobiana ante este hongo, por su parte, para los hongos *Fusarium* y *Colletotrichum* se presentaron diferencias en el radio de crecimiento en presencia de los formulados comparando con los controles, por esta razón se midió este radio usando el software ImageJ, en la tabla 8 se presentan los resultados.

TABLA 8. MEDIDAS RADIO DE CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS.

<b>Formulado</b>	<b>Radio de crecimiento <i>Colletotrichum</i> (mm)</b>	<b>Radio de crecimiento <i>Fusarium</i> (mm)</b>
Formulado 1	36,92 ± 1,21	20,12 ± 1,58
Formulado 2	36,97 ± 0,95	20,25 ± 1,72
Formulado 3	37,14 ± 1,12	18,87 ± 1,36
Formulado 4	37,09 ± 1,35	18,92 ± 1,44
Formulado 5	36,84 ± 1,07	20,53 ± 1,11
Formulado 6	37,11 ± 1,32	19,01 ± 0,98
Formulado 7	37,05 ± 1,02	36, 55 ± 1,26
Formulado 8	37,03 ± 0,97	35,42 ± 1,58
Control positivo	36,85 ± 1,25	16,28 ± 1,13
Control negativo	37,07 ± 0,89	37,11 ± 0,95



Como se puede observar en la tabla 8, todos los formulados pudieron ser caracterizados correctamente, de igual forma, para todos los formulados se obtuvo resultado positivo respecto a la conservación y calidad de la fruta, sin embargo, solo tres formulados presentaron potenciales propiedades antimicrobianas ante microorganismos presentes en el banano, estos son los formulados 3, 4 y 6; como se explicó anteriormente en este capítulo, el formulado 4 logró mantener la calidad del fruto del banano de mejor manera comparando con los demás formulados, por estas razones es posible sugerir que el formulado 4, el cual está compuesto por sericina de seda al 1%, glicerol al 1% y *Aloe vera* al 2% es el formulado evaluado en este estudio que posee las propiedades y características más adecuadas para ser aplicado como posible protector del fruto del banano.

## CAPÍTULO 6

### CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

#### 6.1 Conclusiones

En el desarrollo de este proyecto se fabricaron y caracterizaron formulados a base de sericina de seda con adición de *Aloe vera* como agente antimicrobiano y glicerol como plastificante, se partió de una matriz experimental de ocho compuestos a base de sericina de seda a concentraciones del 1% y 2% y se realizaron a los compuestos una serie de evaluaciones de las propiedades fisicoquímicas, antimicrobianas y de conservación del banano; teniendo en cuenta los objetivos del proyecto se puede concluir que:

- Se logró extraer de manera exitosa la sericina desde los capullos de gusano de seda *Bombyx mori*, el protocolo propuesto por el grupo de investigación en biomateriales BioMat permitió separar las fibras de fibroína de la sericina, además, a través de la caracterización química de la sericina usando la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y la espectroscopía UV-vis, obteniendo información importante sobre los enlaces y grupos funcionales de la proteína así como de su conformación típica aleatoria y en laminas

$\beta$ , concluyendo con esto que el protocolo empleado no generó daños en la sericina y mantuvo sus propiedades químicas y conformacionales.

- La preparación de los distintos formulados se llevó a cabo de manera exitosa, mostrando que los aditivos usados no causaron daño químico ni estructural a la sericina, de igual forma, fue posible comprobar la adhesión de los recubrimientos a la superficie de la cáscara de la fruta, verificando que se trata de recubrimientos delgados y que no afectan las propiedades sensoriales del fruto.
- Los formulados preparados y evaluados en este estudio poseen las propiedades necesarias para conservar la calidad del fruto del banano en el tiempo, permitiendo que los frutos recubiertos se mantuvieron por más tiempo en estados tempranos de maduración respecto a los frutos desnudos; características como la pérdida de peso, el color, la producción de azúcares y el contenido de acidez permitieron visualizar el potencial de los formulados para la conservación y protección del banano.
- Fue posible evidenciar el potencial antimicrobiano de algunos formulados ante microorganismos patógenos del fruto del banano, los formulados 3, 4 y 6 generaron inhibición en el crecimiento de un hongo del género *Fusarium*, este resultado es de suma importancia ya que hongos de este género se reportan como uno de los factores que genera más deterioro en la calidad de esta fruta.

Es por todo lo anterior que es posible afirmar que se cumplió el objetivo de este proyecto, llevando a cabo una evaluación exhaustiva de las propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas de los formulados elaborados a base de sericina de seda, evidenciando el alto potencial de estos compuestos para ser aplicados como protectores del fruto del banano. Todas las evaluaciones y caracterizaciones a las que se sometieron los formulados elaborados en este estudio, permiten concluir que el compuesto formado por sericina al 1%p/v con adición de *Aloe vera* al 2%p/p y glicerol al 1%p/p, posee las propiedades y características más adecuadas para conservar la calidad del banano sin modificar sus propiedades sensoriales.

## 6.2 Perspectivas

Los formulados a base de sericina de seda con adición de *Aloe vera* preparados y evaluados en este estudio presentan una alternativa a el uso de materiales termoplásticos contaminantes para la protección del banano, por lo tanto, en trabajos futuros se podría evaluar el uso de estos compuestos en otro tipo de frutas y alimentos, de igual forma, caracterizar propiedades de estos formulados como su permeabilidad, biodegradabilidad y actividad antioxidante puede ser de gran importancia para continuar introduciendo estos materiales en la industria alimenticia.

## REFERENCIAS

- [1] Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales- Minagricultura Colombia, “Cadena de banano,” 2020.
- [2] P. Mauricio and C. F. Prada, “Censo Nacional Agropecuario Décima Entrega Resultados - 2014,” *Dane*, vol. 10, pp. 1–43, 2014, [Online]. Available: <https://www.dane.gov.co/files/CensoAgropecuario/entrega-definitiva/Boletin-10-produccion/10-Boletin.pdf>.
- [3] “Food News Latam - Causas que ocasiona la pérdida de del Banano en la post cosecha.” <https://www.foodnewslatam.com/paises/85-mexico/6431-causas-que-ocasiona-la-pérdida-de-del-banano-en-la-post-cosecha.html> (accessed Jan. 17, 2023).
- [4] W. Vásquez-Castillo, K. Aguilar, R. Vilaplana, P. Viteri, W. Viera, and Y. S. Valencia-Chamorro, “Calidad del fruto y pérdidas poscosecha de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw.) en Ecuador,” *Agron. Colomb.*, vol. 34, no. 1, pp. S1081–S1083, 2016, doi: 10.15446/AGRON.COLOMB.V34N1SUPL.58279.
- [5] Gilberto Manzo-Sánchez<sup>1</sup>, Mario Orozco-Santos, Luciano Martínez-Bolaños, Eduardo Garrido-Ramírez, and Blondy Canto-Canche, “Enfermedades de importancia cuarentenaria y económica del cultivo de banano ( *Musa* sp.) en México,” *Rev. Mex. Fitopatol.*, vol. 32, no. 2, 2014, Accessed: Jan. 17, 2023. [Online]. Available: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092014000200089](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092014000200089).
- [6] W. Vásquez-Castillo, M. Racines-Oliva, P. Moncayo, W. Viera, and M. Seraquive, “Calidad

- del fruto y pérdidas poscosecha de banano orgánico (*Musa acuminata*) en el Ecuador,” *Enfoque UTE*, vol. 10, no. 4, pp. 57–66, Dec. 2019, doi: 10.29019/ENFOQUE.V10N4.545.
- [7] “Las bolsas de plástico que preocupan a los cultivadores de plátano en el Urabá | EL ESPECTADOR.” <https://www.elespectador.com/ambiente/las-bolsas-de-plastico-que-preocupan-a-los-cultivadores-de-platano-en-el-uraba-article/> (accessed Jan. 17, 2023).
- [8] P. Leelaphiwat and V. Chonhenchob, “Packaging Technologies for Banana and Banana Products,” *Handb. Banan. Prod. Postharvest Sci. Process. Technol. Nutr.*, pp. 81–98, 2020, doi: 10.1002/9781119528265.ch5.
- [9] D. D. La *et al.*, “Effects of antibacterial ZnO nanoparticles on the performance of a chitosan/gum arabic edible coating for post-harvest banana preservation,” *Prog. Org. Coatings*, vol. 151, no. October 2020, p. 106057, 2021, doi: 10.1016/j.porgcoat.2020.106057.
- [10] A. Wantat, K. Seraypheap, and P. Rojsitthisak, “Effect of chitosan coatings supplemented with chitosan-montmorillonite nanocomposites on postharvest quality of ‘Hom Thong’ banana fruit,” *Food Chem.*, vol. 374, no. November 2021, p. 131731, 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131731.
- [11] M. Iñiguez-moreno, J. A. Ragazzo-sánchez, and M. Calderón-santoyo, “An extensive review of natural polymers used as coatings for postharvest shelf-life extension: Trends and challenges,” *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 19, 2021, doi: 10.3390/polym13193271.
- [12] S. Mei *et al.*, “Developing silk sericin-based and carbon dots reinforced bio-nanocomposite films and potential application to litchi fruit,” *Lwt*, vol. 164, no. May, p. 113630, 2022, doi: 10.1016/j.lwt.2022.113630.
- [13] M. Sánchez, E. González-Burgos, I. Iglesias, and M. P. Gómez-Serranillos, “Pharmacological update properties of aloe vera and its major active constituents,” *Molecules*, vol. 25, no. 6, pp. 1–37, 2020, doi: 10.3390/molecules25061324.
- [14] A. Vargas, H. Valle, and M. González, “EFECTO DEL COLOR Y DE LA DENSIDAD DEL POLIETILENO DE FUNDAS PARA CUBRIR EL RACIMO SOBRE DIMENSIONES, PRESENTACIÓN Y CALIDAD POSCOSECHA DE FRUTOS DE BANANO Y PLÁTANO,” *Agron. Costarric.*, 2010, Accessed: Jan. 17, 2023. [Online]. Available: [www.mag.go.cr/revagr/index.html](http://www.mag.go.cr/revagr/index.html)[www.cia.ucr.ac.cr](http://www.cia.ucr.ac.cr).
- [15] “El uso masivo de plástico en la agricultura afecta nuestra salud, la del suelo y la producción

- de alimentos | Noticias ONU.” <https://news.un.org/es/story/2022/10/1516177> (accessed Jan. 17, 2023).
- [16] S. K. Rujira Choehom, “Senescent spotting of banana peel is inhibited by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*, 31(2), 167–175 | 10.1016/j.postharvbio.2003.07.001,” *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 31, 2004, Accessed: Jan. 17, 2023. [Online]. Available: <https://sci-hub.se/10.1016/j.postharvbio.2003.07.001>.
- [17] O. Stewart, “MA storage of Cavendish bananas using silicone membrane and diffusion channel systems. *Postharvest Biology and Technology*, 35(3), 309–317 | 10.1016/j.postharvbio.2004.10.003,” *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 35, 2005, Accessed: Jan. 17, 2023. [Online]. Available: <https://sci-hub.se/10.1016/j.postharvbio.2004.10.003>.
- [18] K. Syamsu, E. Warsiki, S. Yuliani, and S. Mariana Widayanti, “Nano Zeolite-kmno 4 as Ethylene Adsorber in Active Packaging of Horticulture Products (Musa Paradisiaca),” *Int. J. Sci. Basic Appl. Res. Int. J. Sci. Basic Appl. Res.*, vol. 30, no. 1, pp. 93–103, 2016, Accessed: Jan. 17, 2023. [Online]. Available: <http://gssrr.org/index.php?journal=JournalOfBasicAndApplied>.
- [19] K. Illeperuma, D. Chamara, and P. T. Galappatty, “Effect of modified atmosphere and ethylene absorbers on extension of storage life of ‘Kolikuttu’ banana at ambient temperature,” *Fruits*, vol. 55, no. 6, pp. 381–388, 2000.
- [20] M. Maqbool, A. Ali, P. G. Alderson, N. Zahid, and Y. Siddiqui, “Effect of a novel edible composite coating based on gum arabic and chitosan on biochemical and physiological responses of banana fruits during cold storage,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 59, no. 10, pp. 5474–5482, May 2011, doi: 10.1021/JF200623M.
- [21] R. Thakur *et al.*, “A starch edible surface coating delays banana fruit ripening,” *LWT*, vol. 100, pp. 341–347, Feb. 2019, doi: 10.1016/J.LWT.2018.10.055.
- [22] H. Sun and B. Marelli, “Growing silk fibroin in advanced materials for food security,” *MRS Commun.*, vol. 11, no. 1, pp. 31–45, 2021, doi: 10.1557/s43579-020-00003-x.
- [23] T. T. Cao and Y. Q. Zhang, “Processing and characterization of silk sericin from *Bombyx mori* and its application in biomaterials and biomedicines,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 61, pp. 940–952, 2016, doi: 10.1016/j.msec.2015.12.082.
- [24] G. A. Cuervo Osorio, Y. A. Murillo Arias, and L. Urrea Vélez, “Estudio del efecto de recubrimientos de sericina extraída de los capullos del gusano de seda *Bombyx mori* en la



- degradación de frutas,” *Rev. ION*, vol. 34, no. 1, Jun. 2021, doi: 10.18273/REVION.V34N1-2021002.
- [25] S. Hazrati, A. Beyraghdar Kashkooli, F. Habibzadeh, Z. Tahmasebi-Sarvestani, and A. R. Sadeghi, “Beurteilung von Aloe-vera-Gel als alternative essbare Beschichtung für Pfirsichfrüchte während der kalten Lagerphase,” *Gesunde Pflanz.*, vol. 69, no. 3, pp. 131–137, Sep. 2017, doi: 10.1007/S10343-017-0397-5/METRICS.
- [26] “Evaluation of Aloe vera Gel as an Alternative Edible Coating for Peach Fruits During Cold Storage Period | SpringerLink.” <https://link.springer.com/article/10.1007/s10343-017-0397-5> (accessed Jan. 17, 2023).
- [27] J. Trujillo and A. Michelle, “Recubrimiento comestible a base de aloe vera (aloe barbadensis miller) para papaya (carica papaya) y guayaba (psidium guajava) como alimentos de IV gama,” 2017, Accessed: Jan. 17, 2023. [Online]. Available: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/6455>.
- [28] L. Sierra, “El cultivo del banano : producción y comercio,” p. 679, 1993, Accessed: Jan. 18, 2023. [Online]. Available: [https://books.google.com/books/about/El\\_cultivo\\_del\\_banano.html?hl=es&id=dEJjAAAAMAAJ](https://books.google.com/books/about/El_cultivo_del_banano.html?hl=es&id=dEJjAAAAMAAJ).
- [29] S. D. T. Maduwanthi and R. A. U. J. Marapana, “Induced ripening agents and their effect on fruit quality of banana,” *Int. J. Food Sci.*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/2520179.
- [30] S. Mohandas and K. V. Ravishankar, “Banana: Genomics and transgenic approaches for genetic improvement,” *Banan. Genomics Transgenic Approaches Genet. Improv.*, pp. 1–346, Jan. 2016, doi: 10.1007/978-981-10-1585-4/COVER.
- [31] “Morfología de la planta del banano | Improving the understanding of banana.” [https://www.promusa.org/Morfología+de+la+planta+del+banano#Sistema\\_radicular](https://www.promusa.org/Morfología+de+la+planta+del+banano#Sistema_radicular) (accessed Jan. 29, 2023).
- [32] “Guía práctica para el manejo de banano orgánico en el Valle del Chira (Piura-Perú).” <http://www.bananotecnia.com/articulos/guia-practica-para-el-manejo-de-banano-organico-en-el-valle-del-chira-piura-peru/> (accessed Jan. 18, 2023).
- [33] Latché, Alain, Nath, and Jean -, “Mechanism of Fruit Ripening-Chapter 16,” *Plant Dev. Biol. Perspect.*, vol. 1, 2010, doi: 10.1007/978-3-642-02301-9.
- [34] Salazar Bong, “Etiology and Postharvest Control of Finger Drop Disorder in ‘Cuarenta Dias’

- Banana (*Musa acuminata* AA Group),” *Philipp. Agric. Sci.*, vol. 96, Jun. 2013, Accessed: Jan. 18, 2023. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/286201153\\_Etiology\\_and\\_Postharvest\\_Control\\_of\\_Finger\\_Drop\\_Disorder\\_in\\_'Cuarenta\\_Dias'\\_Banana\\_Musa\\_acuminata\\_AA\\_Group](https://www.researchgate.net/publication/286201153_Etiology_and_Postharvest_Control_of_Finger_Drop_Disorder_in_'Cuarenta_Dias'_Banana_Musa_acuminata_AA_Group).
- [35] M. Carballo, “Opciones para el manejo del picudo negro del plátano,” 2001.
- [36] Ying-Yuan Su, Parinn Noireung, and Fang Liu, “Epitypification of *Colletotrichum musae*, the causative agent of banana anthracnose. *Mycoscience*, 52(6), 376–382 | 10.1007/s10267-011-0120-9,” *Mycol. Soc. Japan Springer*, 2011, Accessed: Jan. 18, 2023. [Online]. Available: <https://sci-hub.se/10.1007/s10267-011-0120-9>.
- [37] R. Ploetz *et al.*, “Tropical race 4 of Panama disease in the Middle East,” *Phytoparasitica*, vol. 43, no. 3, pp. 283–293, Jul. 2015, doi: 10.1007/S12600-015-0470-5/METRICS.
- [38] V. V. Datar and K. K. Ghule, “Banana fruit rot caused by *Penicillium funiculosum* Thom. a new record from India.,” *Indian J. Plant Pathol.*, vol. 3, no. 2, 1985.
- [39] G. Çapar and S. S. Aygün, “Characterization of sericin protein recovered from silk wastewaters,” *Turk Hij. ve Deney. Biyol. Derg.*, vol. 72, no. 3, pp. 219–234, 2015, doi: 10.5505/TurkHijyen.2015.47113.
- [40] S. M. Hong, S. C. Choi, H. M. Park, and Y. S. Seok, “Preparation and characterization of sericin powder extracted with deep sea water,” *3 Biotech*, vol. 9, no. 1, p. 30, Jan. 2019, doi: 10.1007/S13205-018-1558-7.
- [41] H. Dou and B. Zuo, “Effect of sodium carbonate concentrations on the degumming and regeneration process of silk fibroin,” *J. Text. Inst.*, vol. 106, no. 3, pp. 311–319, 2015, doi: 10.1080/00405000.2014.919065.
- [42] Y. Carolina and J. Peña, “Implementación de un biosensor colorimétrico de flujo lateral a partir de los derivados del capullo de *Bombyx Mori* y nanopartículas de oro para la detección de *Helicobacter Pylori*,” *instnameUniversidad los Andes*, 2015, Accessed: Jan. 20, 2023. [Online]. Available: <https://repositorio.uniandes.edu.co/handle/1992/18285>.
- [43] “Aloe vera (sábila): Cuidados y beneficios para la salud de esta planta medicinal | Architectural Digest.” <https://www.admagazine.com/estilo-de-vida/aloe-vera-sabila-como-cuidarla-y-sus-beneficios-medicinales-20210805-8859-articulos> (accessed Jan. 19, 2023).
- [44] A. Surjushe, R. Vasani, and D. Saple, “ALOE VERA: A SHORT REVIEW,” *Indian J. Dermatol.*, vol. 53, no. 4, p. 163, Oct. 2008, doi: 10.4103/0019-5154.44785.

- 
- [45] A. A. Maan *et al.*, “The therapeutic properties and applications of Aloe vera: A review,” *J. Herb. Med.*, vol. 12, pp. 1–10, Jun. 2018, doi: 10.1016/J.HERMED.2018.01.002.
- [46] N. M. Fernández, D. C. Echeverría, S. A. Mosquera, and S. P. Paz, “CURRENT STATUS OF THE USE OF EDIBLE COATINGS IN FRUIT AND VEGETABLES STATUS ATUAL DO USO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS EM FRUTAS E LEGUMES Artículos de Revisión,” *Biotechnol. en el Sect. Agropecu. y Agroindustrial*, vol. 15, no. 2, pp. 134–141, 2017, doi: 10.18684/BSAA(15)134-141.
- [47] E. Berta and A. Vargas, “APLICACIÓN DE REVESTIMIENTOS COMESTIBLES EN PAPAYA (Carica papaya) MÍNIMAMENTE PROCESADA,” *Ing. Ciencia, Tecnol. e Innovación*, vol. 2, no. 1, pp. 15–15, Aug. 2015, doi: 10.26495/ICTI.V2I1.100.
- [48] A. Kalia and V. R. Parshad, “Novel trends to revolutionize preservation and packaging of fruits/fruit products: microbiological and nanotechnological perspectives,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 55, no. 2, pp. 159–182, 2015, doi: 10.1080/10408398.2011.649315.
- [49] M. Z. Elsabee and E. S. Abdou, “Chitosan based edible films and coatings: A review,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 4, pp. 1819–1841, May 2013, doi: 10.1016/J.MSEC.2013.01.010.
- [50] Q. D. Shen, “Preparation, structure and properties of fluorine-containing polymers,” *Dielectr. Polym. Mater. High-Density Energy Storage*, pp. 59–102, Jan. 2018, doi: 10.1016/B978-0-12-813215-9.00003-8.
- [51] H. Yun, M. K. Kim, H. W. Kwak, J. Y. Lee, M. H. Kim, and K. H. Lee, “The role of glycerol and water in flexible silk sericin film,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 82, pp. 945–951, 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.11.016.
- [52] H. Zhang, L. Deng, M. Yang, S. Min, L. Yang, and L. Zhu, “Enhancing effect of glycerol on the tensile properties of bombyx mori cocoon sericin films,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 12, no. 5, pp. 3170–3181, 2011, doi: 10.3390/ijms12053170.
- [53] H. Teramoto, K. I. Nakajima, and C. Takabayashi, “Preparation of elastic silk sericin hydrogel,” *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 69, no. 4, pp. 845–847, 2005, doi: 10.1271/bbb.69.845.
- [54] M. N. Padamwar and A. P. Pawar, “Silk sericin and its applications: A review,” *J. Sci. Ind. Res.*, vol. 63, pp. 323–329, 2004.
- [55] P. Anand, J. P. Pandey, and D. M. Pandey, “Study on cocoonase, sericin, and degumming

- of silk cocoon: computational and experimental,” *J. Genet. Eng. Biotechnol.*, vol. 19, no. 1, pp. 1–22, Dec. 2021, doi: 10.1186/S43141-021-00125-2/FIGURES/17.
- [56] L.-P. W. JIN-BO FAN and FA-ZHENG REN, “Antioxidant activities of silk sericin from silk worm *Bombyx mori.*,” *J. Food Biochem.*, 2007, Accessed: Jan. 22, 2023. [Online]. Available: <https://sci-hub.se/10.1111/j.1745-4514.2008.00204.x>.
- [57] M. Jackson and H. H. Mantsch, “The Use and Misuse of FTIR Spectroscopy in the Determination of Protein Structure,” <https://doi.org/10.3109/10409239509085140>, vol. 30, no. 2, pp. 95–120, 2008, doi: 10.3109/10409239509085140.
- [58] “Ultraviolet Spectroscopy of Proteins - Alexander P. Demchenko - Google Libros.” [https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=H3b1CAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR11&dq=uv+vis+spectroscopy+in+proteins&ots=9pirgLsx25&sig=cOTuqGdg0T\\_XQY2WbzIFcrzONNQ&redir\\_esc=y#v=onepage&q=uv vis spectroscopy in proteins&f=false](https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=H3b1CAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR11&dq=uv+vis+spectroscopy+in+proteins&ots=9pirgLsx25&sig=cOTuqGdg0T_XQY2WbzIFcrzONNQ&redir_esc=y#v=onepage&q=uv%20vis%20spectroscopy%20in%20proteins&f=false) (accessed Jan. 29, 2023).
- [59] A. R. Lalit Jajpura, “The Biopolymer Sericin: Extraction and Applications,” *J. Text. Sci. Eng.*, vol. 05, no. 01, 2015, doi: 10.4172/2165-8064.1000188.
- [60] K. S. Harisha, N. Parushuram, S. Asha, S. B. Suma, B. Narayana, and Y. Sangappa, “Eco-synthesis of gold nanoparticles by Sericin derived from *Bombyx mori* silk and catalytic study on degradation of methylene blue,” *Part. Sci. Technol.*, vol. 39, no. 2, pp. 131–140, 2021, doi: 10.1080/02726351.2019.1666951.
- [61] P. S. Garcia *et al.*, “Sericin as compatibilizer in starch/ polyester blown films,” *Polimeros*, vol. 28, no. 5, pp. 389–394, 2018, doi: 10.1590/0104-1428.05117.
- [62] P. Monti, G. Freddi, C. Arosio, M. Tsukada, T. Arai, and P. Taddei, “Vibrational spectroscopic study of sulphated silk proteins,” *J. Mol. Struct.*, vol. 834–836, no. SPEC. ISS., pp. 202–206, 2007, doi: 10.1016/j.molstruc.2006.11.009.
- [63] Z. Yang, H. Peng, W. Wang, and T. Liu, “Application of Silk Sericin to Polyester Fabric,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 116, no. 5, pp. 2658–2667, 2010, doi: 10.1002/app.
- [64] R. Ragupathi Raja Kannan, R. Arumugam, and P. Anantharaman, “Fourier Transform Infrared Spectroscopy Analysis of Seagrass Polyphenols,” *Curr. Bioact. Compd.*, vol. 7, no. 2, pp. 118–125, 2011, doi: 10.2174/157340711796011142.
- [65] M. Danish, M. W. Mumtaz, M. Fakhar, and U. Rashid, “Response surface methodology based optimized purification of the residual glycerol from biodiesel production process,”

- Chiang Mai J. Sci.*, vol. 44, no. 4, pp. 1570–1582, 2017.
- [66] Z. X. Lim and K. Y. Cheong, “Effects of drying temperature and ethanol concentration on bipolar switching characteristics of natural Aloe vera-based memory devices,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 17, no. 40, pp. 26833–26853, 2015, doi: 10.1039/c5cp04622j.
- [67] J. R. Memon, S. Q. Memon, M. I. Bhangar, G. Z. Memon, A. El-Turki, and G. C. Allen, “Characterization of banana peel by scanning electron microscopy and FT-IR spectroscopy and its use for cadmium removal,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 66, no. 2, pp. 260–265, 2008, doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.07.001.
- [68] S. Kamsonlian, S. Sundaramurthy, C. Balomajumder, S. Suresh, C. B. Majumder, and S. Chand, “CHARACTERIZATION OF BANANA AND ORANGE PEELS: BIOSORPTION MECHANISM Water Quality Management View project CHARACTERIZATION OF BANANA AND ORANGE PEELS: BIOSORPTION MECHANISM,” no. January 2014, 2011, [Online]. Available: [www.ijstm.com](http://www.ijstm.com).
- [69] L. J. Burgos Montañez, “Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico,” *Quest. Investig. Específica*, vol. 7, no. 1, pp. 57–66, 2020, doi: 10.29097/23461098.308.
- [70] “Entendiendo El Espacio de Color CIE L\*A\*B\* - Konica Minolta Sensing.” <https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/> (accessed Oct. 18, 2022).
- [71] T. Ringer and M. Blanke, “Non-invasive, real time in-situ techniques to determine the ripening stage of banana,” *J. Food Meas. Charact.*, vol. 15, no. 5, pp. 4426–4437, Oct. 2021, doi: 10.1007/S11694-021-01009-2.
- [72] A. V. Gusakov, E. G. Kondratyeva, and A. P. Sinitsyn, “Comparison of Two Methods for Assaying Reducing Sugars in the Determination of Carbohydrase Activities,” *Int. J. Anal. Chem.*, vol. 2011, pp. 1–4, 2011, doi: 10.1155/2011/283658.
- [73] K. Retana *et al.*, “Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F. SP.Apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica,” *Agron. Costarric.*, vol. 42, no. 1, pp. 115–126, Jan. 2018, doi: 10.15517/RAC.V42I1.32199.
- [74] I. Rojo-Báez *et al.*, “Situación actual de *Colletotrichums* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control,” *Rev. Mex. Fitopatol.*, vol. 35, no. 3, pp. 549–570, Jun. 2017, doi: 10.18781/R.MEX.FIT.1703-9.

