



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS DE UN MATERIAL DE ENVASE DE ALIMENTOS COMPUESTO POR POLÍMEROS BIODEGRADABLES Y UN SURFACTANTE CATIÓNICO

Autor: Abarca Guanoluisa, María Fernanda

Tutor: Herrera Chávez Byron Adrián, Ph.D.

Riobamba, Ecuador

2026



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE INGENIERÍA
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

TRABAJO DE TITULACIÓN - MODALIDAD TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

TÍTULO:

Evaluación de las propiedades antibacterianas de un material de envase de alimentos
compuesto por polímeros biodegradables y un surfactante catiónico

AUTOR:

Abarca Guanoluisa, María Fernanda

TUTOR:

Herrera Chávez Byron Adrián, Ph.D.

Riobamba, Ecuador

2026

© DECLARATORIA DE AUTORÍA

Yo, María Fernanda Abarca Guanoluisa, con cédula de identidad 0605099985, autora del trabajo de titulación: Evaluación de las propiedades antibacterianas de un material de envase de alimentos compuesto por polímeros biodegradables y un surfactante catiónico, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mi exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 07 de septiembre de 2026.



MARIA FERNANDA ABARCA GUANOLUISA
NUI: 0605099985

DECLARATORIA SOBRE EL USO DE HERRAMIENTAS DE IA

Yo, María Fernanda Abarca Guanoluisa, con cédula de identidad 0605099985, autora del presente trabajo de titulación, declaro que el uso de herramientas de inteligencia artificial en la elaboración del presente trabajo de titulación se limitó exclusivamente al apoyo en la organización de ideas y a la mejora de la redacción y claridad expositiva, en los apartados de introducción, marco teórico y marco metodológico, sin implicar la generación autónoma de contenidos académicos, análisis, resultados, conclusiones ni aportes propios del proceso investigativo.

Asimismo, dejo constancia de que las decisiones académicas, el desarrollo conceptual, el enfoque metodológico, el análisis de fuentes y la interpretación de resultados son de mi exclusiva responsabilidad.

Finalmente, declaro que el uso de dichas herramientas no sustituyó mi criterio académico, ni vulneró las disposiciones institucionales sobre plagio, propiedad intelectual y autoría, manteniéndose el cumplimiento de las normas de citación y referenciación, con el fin de garantizar la transparencia académica y el uso ético y responsable de tecnologías emergentes en la elaboración del trabajo de titulación.

En Riobamba, 29 de junio de 2026.



MARIA FERNANDA ABARCA GUANOLUISA
NUI: 0605099985

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, en primer lugar, a mis padres, Marco Antonio Abarca Bonilla y Julia Marlene Guanoluisa Timbela, quienes han sido mi pilar fundamental a lo largo de toda esta etapa, brindándome no solo su apoyo económico, sino también su amor, su guía y la fortaleza necesaria para no rendirme.

A mis hermanos, Marco y Camila, por su compañía y cariño incondicional en cada momento.

A mi pareja, David Jiménez, por su paciencia infinita, por cada palabra de aliento en los momentos más difíciles y por ser mi refugio durante todo este proceso.

Finalmente, me dedico este logro a mí misma, como reconocimiento a la perseverancia, el esfuerzo y la determinación que deposité en cada etapa de este camino.

AGRADECIMIENTO

Agradezco, en primer lugar, a Dios por concederme sabiduría, claridad y la fortaleza necesaria para alcanzar este objetivo. Con especial afecto, extendo mi más profundo reconocimiento a mi madre, Julia Guanoluisa, por su apoyo incondicional y su presencia constante a lo largo de toda mi vida; a mi padre, Marco Abarca, y a mis hermanos, Marco y Camila, por creer en mí y acompañarme en este proceso.

A mi tutor al Ing. Byron Adrian Herrera Chavez, Ph.D por su guía, paciencia y apoyo incondicional en el desarrollo de esta tesis. Mi más sincero agradecimiento por su confianza y por motivarme constantemente a involucrarme en actividades de mi vida profesional y social; su mentoría y calidad humana han sido pilares fundamentales en mi formación integral y en el inicio de mi carrera.

Mi sincero agradecimiento al Ing. Cristian Patiño, por su orientación académica, paciencia y por haberme integrado al grupo de investigación INVAGRO, experiencia que enriqueció profundamente mi formación. Asimismo, agradezco a mis amigos Andrés Adriano y Ricardo Aldaz, por su compañía y apoyo genuino durante esta etapa universitaria.

Finalmente, expreso mi gratitud a la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH) por abrirme sus puertas y brindarme la formación profesional que hoy me permite culminar este proyecto con orgullo.

ÍNDICE

Resumen.....	10
Introducción	12
Descripción de la situación problemática	12
Justificación	13
Pregunta de la investigación	13
Objetivos	14
Objetivo general.....	14
Objetivos específicos	14
Marco referencial.....	15
Antecedentes	15
Marco teórico	18
Contaminación de alimentos.....	18
Enfermedades transmitidas por alimentos	18
Microorganismos patógenos	18
Materiales de envase	19
Películas biodegradables	19
Polímeros biodegradables	19
Plastificante polietilenglicol (peg).....	20
Agentes antimicrobianos.....	21
Curvas de crecimiento bacteriano	21
Evaluación de propiedades antibacterianas en materiales de envase.....	22
Metodología	23
Enfoque	23
Tipo de investigación	23
diseño de la investigación	23
Técnicas e instrumentos para la recolección de datos e información	23
Preparación del material de envase biodegradable	23
Construcción de curvas de crecimiento	25
Preparación del inóculo.....	25
Evaluación de la actividad antibacteriana del material de envase biodegradable.....	25
Análisis de datos aplicados	26
Cumplimiento de principios éticos de la investigación científica.....	27
Resultados y discusión	28
Elaboración del material	28
Curvas de crecimiento bacteriano	29
Evaluación de la actividad antibacteriana mediante la técnica de contacto dinámico.....	32
Evaluación de la actividad antibacteriana mediante la técnica de disco de difusión	40
Conclusiones	47
Recomendaciones.....	48
Bibliografía	49
Anexos	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Formulación de la película biodegradable PLA/PCL/LAE/PEG	28
Tabla 2	Concentración bacteriana residual y reducción logarítmica en medio líquido bajo contacto dinámico	34
Tabla 3	Análisis de varianza (ANOVA) para la concentración bacteriana en función del tipo de bacteria y del material	37
Tabla 4	Pruebas de rangos múltiples (LSD de Fisher al 95 %) para la concentración bacteriana por material	39
Tabla 5	Diámetro del halo de inhibición (cm) en medio sólido para los distintos materiales evaluados	42
Tabla 6	Análisis de varianza para el diámetro del halo de inhibición (cm) – Suma de cuadrados Tipo III	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Curva de crecimiento bacteriano de <i>S. aureus</i>	30
Figura 2	Curva de crecimiento bacteriano de <i>E. coli</i>	31
Figura 3	Comparativa de las curvas de crecimiento de <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>	32
Figura 4	Placas resultantes del ensayo de contacto dinámico con <i>S. aureus</i> ..	33
Figura 5	Placas resultantes del ensayo de contacto dinámico con <i>E. coli</i>	34
Figura 6	Concentración bacteriana residual por material en escala logarítmica – contacto dinámico	36
Figura 7	Medias y 95% de Fisher LSD para la concentración bacteriana en función del material	38
Figura 8	Gráfico de interacciones Material × Bacteria – ensayo de contacto dinámico	38
Figura 9	Efecto bactericida del material PLA/PCL/LAE tras retirar el disco activo	40
Figura 10	Placas resultantes del ensayo de disco de difusión con <i>S. aureus</i> ..	41
Figura 11	Placas resultantes del ensayo de disco de difusión con <i>E. coli</i>	41
Figura 12	Comparación del diámetro del halo entre <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>	43
Figura 13	Medias y 95 % de Fisher LSD para el diámetro del halo de inhibición	44
Figura 14	Gráfico de interacciones Material × Bacteria – ensayo de disco de difusión	45

RESUMEN

El envasado activo permite que el propio material de contacto frene el desarrollo de microorganismos y ayude a prevenir enfermedades transmitidas por los alimentos. El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades antibacterianas de un material de envase de alimentos compuesto por polímeros biodegradables y un surfactante catiónico. En cuanto a la metodología, la película se obtuvo por solvent casting a partir de una mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona en proporción 75/25 (PLA/PCL), con 15 % de etil lauroil arginato (LAE) y 2,8 % de polietilenglicol (PEG), ambos expresados en peso respecto al polímero; se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial 3×2 y la actividad se ensayó frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, con inóculos ajustados a 10^7 UFC/mL, mediante contacto dinámico (ASTM E2149-13) y disco de difusión. Respecto a los resultados, el material PLA/PCL/LAE redujo la carga bacteriana en 7,59 log para *S. aureus* y 8,17 log para *E. coli*, sin recuento detectable en ninguna réplica, y generó halos de inhibición de 4,0 y 3,6 cm, respectivamente; el análisis de varianza confirmó que el factor material fue altamente significativo ($p < 0,001$). Una reducción superior a 7 log excede en más de cuatro órdenes de magnitud el umbral de 3 log que suele exigirse a un envase antimicrobiano, de modo que el material ofrece una barrera activa capaz de contener patógenos comunes en alimentos y de contribuir a extender su vida útil.

Palabras clave: envasado activo, contaminación alimentaria, polímeros biodegradables, ácido poliláctico, policaprolactona, etil lauroil arginato, actividad antibacteriana

ABSTRACT

Active packaging allows the contact material itself to stop the growth of microorganisms and, in this way, helps to prevent diseases transmitted by food. However, before suggesting any new formulation as a barrier against contamination, it is necessary first to check how it behaves against microbes. For this reason, this work aimed to evaluate how effective a food package made with biodegradable polymers and a cationic surfactant with antimicrobial properties is against bacteria. The film was obtained through the casting method from a mixture of polylactic acid (PLA) and polycaprolactone (PCL) in a 75/25 ratio (PLA/PCL). Then, 15% of ethyl lauroyl arginate (LAE) and 2.8% of polyethylene glycol (PEG) were added, both expressed by weight relative to the polymer (w/w). A completely randomized design with a 3×2 bifactorial arrangement was applied in the experiment. The inocula were adjusted to a concentration close to 10^7 CFU/mL, and the antibacterial activity was tested against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* through the dynamic contact and disc diffusion methods. The PLA/PCL/LAE material reduced the bacterial load by more than 8.17 log for *S. aureus* and 7.59 log for *E. coli*, and it also formed halos of 4.0 and 3.6 cm, respectively. The ANOVA confirmed that the material had a highly significant effect on bacteria ($p < 0.001$). These results show that the material can inhibit common foodborne pathogens and help extend the shelf life of food products.

Keywords: active packaging, food contamination, biodegradable polymers, polylactic acid, polycaprolactone, ethyl lauroyl arginate, antibacterial activity



Reviewed by:
Ms.C. Ana Maldonado León
ENGLISH PROFESSOR
C.I.0601975980

INTRODUCCIÓN

Descripción de la situación problemática

A nivel global, la producción de plásticos supera los 460 millones de toneladas anuales, de las cuales el 36 % se destina a envases y menos del 10 % se recicla, lo que genera hasta 23 millones de toneladas de residuos en cuerpos de agua e introduce microplásticos en la cadena alimentaria (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente [PNUMA], 2023). Simultáneamente, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2022) estima que una de cada diez personas enferma cada año por el consumo de alimentos contaminados, lo que demuestra la urgencia de reforzar las estrategias de envasado activo.

Ambos frentes convergen en una misma necesidad tecnológica: un material que reduzca el volumen de residuos plásticos y que, a la vez, ejerza acción antimicrobiana sobre la superficie del alimento. Un envase inerte se limita a separar el producto del medio; un envase bioactivo interviene sobre la carga microbiana y traslada la función conservante desde el aditivo incorporado al alimento hacia el propio material de contacto. Esa doble función, ambiental y sanitaria, es la que justifica el desarrollo de películas biodegradables con agente activo incorporado.

En América Latina la situación se agrava por las brechas regulatorias, una infraestructura de reciclaje insuficiente y la fuerte dependencia de polímeros convencionales. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2022) señala que los brotes alimentarios se vinculan con mayor frecuencia a bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus*. Ecuador no escapa de esta realidad: el Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE, 2022) contabiliza más de 250.000 toneladas anuales de residuos plásticos con tasas de reciclaje por debajo del 25 %, mientras que el Ministerio de Salud Pública (MSP, 2022) registra intoxicaciones reiteradas por *E. coli* y *S. aureus* en productos cárnicos, lácteos y de panadería, con incidencia particular en Chimborazo. Conviene añadir que muchas pequeñas y medianas industrias locales emplean envases sin propiedades antimicrobianas, lo que se traduce en pérdidas económicas, devoluciones y riesgos para el consumidor.

En este escenario, el grupo de investigación de la Universidad Nacional de Chimborazo trabaja en el desarrollo de envases biodegradables con actividad antimicrobiana. Persiste, no obstante, un vacío preciso: aún no se cuenta con un material biodegradable, procesable por solvent casting, que combine acción antibacteriana de amplio espectro con una caracterización técnica precisa. Detrás de esa brecha hay varios factores, como la escasa evaluación de mezclas PLA/PCL con surfactantes catiónicos del tipo LAE, la limitada transferencia tecnológica entre la universidad y la industria, y la falta de protocolos estandarizados en el país conforme a la norma ASTM E2149-13 (ASTM International, 2013). Si las condiciones actuales no se modifican, la salud pública continuará bajo la amenaza de elevadas tasas de contaminación por residuos plásticos y de afecciones transmitidas por alimentos. Asimismo, esta tendencia frenará el alcance de las metas y compromisos ambientales que el Ecuador ha asumido a escala nacional e internacional.

Justificación

Este estudio encuentra su justificación en cuatro planos que dialogan con las prioridades nacionales: el académico, el social, el económico y el tecnológico.

En el plano académico, el trabajo aporta evidencia experimental real acerca del comportamiento antibacteriano de una matriz biodegradable PLA/PCL incorporada con etil lauroil arginato, una combinación todavía poco documentada y señalada como línea prioritaria por su proyección en el envasado activo (Moraczewski et al., 2025; Patiño-Vidal et al., 2023). Al generar datos cuantitativos mediante técnicas estandarizadas: disco de difusión y contacto dinámico según la norma ASTM E2149-13, la investigación ayuda a precisar cómo interactúa el surfactante catiónico con bacterias representativas de las ETA, concretamente *S. aureus* y *E. coli*.

En lo social, contar con un envase de capacidad antibacteriana comprobada ofrece una herramienta concreta para reducir la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos, cuya carga sanitaria sigue siendo elevada en el mundo (OMS, 2022). El aporte resulta aún más pertinente en Ecuador, donde el MSP (2022) documenta brotes recurrentes asociados a *E. coli* y *S. aureus*, un problema que repercute de forma directa en la salud y la calidad de vida de la población.

En lo económico, el material brindaría a la agroindustria una opción de envasado activo capaz de prolongar la vida útil de productos perecederos, recortar las pérdidas poscosecha y mejorar la competitividad de la oferta exportable. Sumar tecnologías de barrera activa resulta coherente con la estrategia de diferenciación de productos con valor agregado que promueve el Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca.

Desde la perspectiva tecnológica, el estudio recurre al solvent casting, una técnica ampliamente validada en la literatura por ser sencilla, reproducible y escalable para fabricar películas biodegradables de espesor controlado y con el agente activo distribuido de forma homogénea (Cottet et al., 2024; Hanafy et al., 2021; Srisa y Harnkarnsujarit, 2026). A su vez, la formulación PLA/PCL/LAE se plantea como una propuesta innovadora, en sintonía con la tendencia internacional hacia envases activos y sostenibles (Nasution et al., 2023; Shi et al., 2025).

En el plano ambiental, sustituir poliolefinas por una matriz PLA/PCL incide sobre un pasivo cuantificable: Ecuador genera más de 250.000 t anuales de residuos plásticos y recicla menos del 25 % (MAATE, 2022), mientras que a escala global el 36 % de la producción de plásticos se destina a envases y menos del 10 % se recupera (PNUMA, 2023). Un envase biodegradable con acción antimicrobiana actúa sobre dos indicadores a la vez: reduce el residuo no degradable por unidad de producto envasado y disminuye el desperdicio alimentario asociado al deterioro microbiano, que constituye en sí mismo una fuente de emisiones. La propuesta se alinea con la Ley Orgánica para la Racionalización, Reutilización y Reducción de Plásticos de un Solo Uso (MAATE, 2022), que obliga a la sustitución progresiva de los envases de un solo uso, y con los compromisos asumidos por el país frente a las metas de reducción de la contaminación por plásticos del PNUMA (2023).

Pregunta de la investigación

¿Qué actividad antibacteriana presenta frente a *S. aureus* y *E. coli* un material de envase elaborado con PLA/PCL 75/25 e incorporado con 15 % de etil lauroil arginato?

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar las propiedades antibacterianas de un material de envase de alimentos compuesto por polímeros biodegradables y un surfactante catiónico

Objetivos Específicos

- Elaborar un material de envase de alimentos biodegradables y antibacteriano mediante el uso de ácido poliláctico, policaprolactona y etil lauroil arginato aplicando la técnica de casting.
- Evaluar la capacidad antimicrobiana del material de envase de alimentos frente a bacterias Gram positiva y Gram negativa mediante la técnica de disco de difusión y contacto dinámico

MARCO REFERENCIAL

Antecedentes

Se han desarrollado películas biodegradables de quitosano reforzadas con bionanocompuestos de metales y óxidos metálicos, en especial óxido de zinc (ZnO) y dióxido de titanio (TiO₂), conformadas por moldeo con evaporación de solvente (solvent casting) (Babaei-Ghazvini et al., 2021). Una vez dispersas las nanopartículas en la solución filmogénica, se midió la actividad antibacteriana por difusión en disco frente a *E. coli* y *S. aureus*. Las formulaciones con ZnO entre 1 y 5 % generaron halos de 15 a 19 milímetros contra ambos patógenos, con una respuesta que aumentaba según la concentración. Se estableció que las nanopartículas refuerzan la actividad antibacteriana del quitosano y posicionan a estos nanocompuestos como una opción viable para el envasado activo.

Por otra parte, se elaboraron películas nanocompuestas biodegradables de quitosano, dióxido de titanio (TiO₂) y ácido oleico mediante solvent casting, con el fin de reunir propiedades antimicrobianas y de barrera (Hanafy et al., 2021). Se dispersó el TiO₂ en proporciones de hasta 3 % y se añadió ácido oleico como plastificante dentro de la matriz de quitosano, antes de evaporar el solvente de forma controlada. Frente a *E. coli* (Gram negativa) y *S. aureus* (Gram positiva), el ensayo por difusión mostró tanto inhibición del crecimiento como una película más flexible. Se concluyó que asociar TiO₂ con agentes plastificantes mejora al mismo tiempo el desempeño mecánico y antimicrobiano de los recubrimientos biodegradables.

El estado del arte del envasado activo basado en etil lauroil arginato (LAE) ha sido sistematizado integrando los resultados obtenidos con matrices convencionales y de base biológica (Nicosia y Licciardello, 2025). Dicha revisión confirma que el LAE conserva su actividad antibacteriana una vez incorporado a una matriz polimérica y que su liberación controlada desde el material de contacto permite actuar sobre la superficie del alimento; asimismo, identifica como principal vacío de investigación la escasez de estudios con mezclas de poliésteres biodegradables. Constituye el antecedente directo del empleo del LAE como agente activo en envases, principio sobre el que se apoya la formulación evaluada en esta investigación.

En el ámbito de las nanofibras se diseñó un sistema de envasado antimicrobiano con estructuras electrohiladas de tipo núcleo-coraza de alcohol polivinílico (PVOH) y ácido poliláctico (PLA) cargadas con etil lauroil arginato (LAE) (Patiño-Vidal et al., 2021). El electrohilado coaxial permitió encapsular el surfactante para regular su liberación y evaluar su efecto sobre *E. coli* y *Listeria innocua*, además de biopelículas de *Salmonella*. Las concentraciones mínimas bactericidas rondaron los 40 ppm de LAE para *E. coli* y 70 ppm para *L. innocua*, con halos de inhibición de 0,89 a 2,19 milímetros. El aporte relevante fue comprobar que encapsular el LAE en nanofibras modula su liberación sin sacrificar eficacia frente a microorganismos formadores de biopelículas.

El aprovechamiento de subproductos agrícolas se abordó mediante la caracterización de películas biodegradables obtenidas por solvent casting a partir de almidón residual de papa con aditivos naturales (Castañón-Vilca et al., 2023). El trabajo incluyó la caracterización mecánica y de barrera al vapor de agua, así como la estandarización espectrofotométrica de los inóculos a 600 nanómetros antes de las pruebas de inhibición contra *S. aureus* y *E. coli*. Se reportó actividad antibacteriana frente a ambas especies con halos discretos y una correlación estable entre la absorbancia y las unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL). La conclusión fue que valorizar residuos del cultivo de papa hace posible obtener envases funcionales, biodegradables y de bajo costo.

El control de *Salmonella* spp. se abordó con películas biodegradables de almidón y poli (butilén adipato-co-tereftalato) (PBAT) reforzadas con nanopartículas biogénicas de plata (bio-AgNPs) sintetizadas con *Fusarium oxysporum* (das Neves et al., 2023). La evaluación antibacteriana se realizó por recuento en placa a partir de densidades de 10^8 a 10^9 UFC/mL. Las muestras tratadas mostraron reducciones cercanas a 1 ciclo logarítmico e inhibición de hasta 10 UFC/cm² de *Salmonella*. Se sostuvo que la síntesis biogénica de plata es una ruta sostenible para dotar de actividad antimicrobiana a películas de origen renovable.

En una línea cercana se sintetizaron películas nanocompuestas biodegradables y antimicrobianas con nanopartículas biogénicas de plata (AgNPs) obtenidas por reducción verde dentro de matrices poliméricas (Nguyen et al., 2023). Las películas se conformaron por solvent casting y se midió su acción frente a *E. coli* y *S. aureus*, sin dejar de lado ensayos de biodegradación en condiciones controladas. Se obtuvieron halos de hasta 21,7 milímetros contra los patógenos evaluados y una biodegradación cercana al 85 % a los 120 días. Estos nanocompuestos reúnen una actividad antibacteriana notable y una degradabilidad adecuada, lo que los hace candidatos para el envasado sostenible.

Con una arquitectura multicapa se desarrollaron películas antimicrobianas de almidón y ácido poliláctico (PLA) funcionalizadas con ácido cinámico como agente activo (Ordoñez et al., 2023). Las capas se obtuvieron por solvent casting y se siguió la liberación del compuesto junto con la actividad antibacteriana por contacto frente a *Listeria innocua*, usada como modelo Gram positivo. Se registraron reducciones de hasta 7,3 ciclos logarítmicos, vinculadas a la disrupción enzimática y de membrana que provoca el ácido cinámico. Se concluyó que los sistemas multicapa de almidón y PLA con compuestos fenólicos son una vía eficaz para controlar patógenos en alimentos refrigerados.

De particular interés para este trabajo resulta el material de envase sostenible y antibacteriano basado en un sistema multicapa biopolimérico de ácido poliláctico (PLA), quitosano, nanocristales de celulosa y etil lauroil arginato (LAE) en concentraciones de 5 a 10 % (Patiño-Vidal et al., 2023). La estructura trilaminar se conformó combinando electrohilado y solvent casting, y se evaluó su actividad por contacto frente a *Listeria innocua* y *Salmonella enterica* a 4 °C y por difusión en medio sólido. Se documentó la reducción total de ambos patógenos entre las 6 y 24 horas, halos de 3,0 y 2,7 milímetros y una desintegración por compostaje próxima al 90 % en 21 días. Por reunir eficacia

antimicrobiana y biodegradabilidad, este sistema constituye el referente metodológico directo de la presente investigación.

El efecto de distintas concentraciones de polímeros cuaternarios metilados, de carácter catiónico, se analizó sobre películas de gelatina y almidón obtenidas por solvent casting (Cottet et al., 2024). Los polímeros se incorporaron en proporciones crecientes y se evaluó la actividad antibacteriana por contacto dinámico frente a *E. coli* y *S. aureus*. Las reducciones bacterianas superaron el 70 % y dependieron de la concentración del agente activo, factor que gobernó la variabilidad estadística registrada. La conclusión fue que la funcionalización de matrices biodegradables con polímeros y surfactantes catiónicos representa una estrategia eficaz y reproducible para el envasado activo.

En cuanto a materiales multifuncionales, se formularon películas activas de ácido poliláctico (PLA) y policaprolactona (PCL) con quitosano como agente antibacteriano y extracto de semilla de *Syzygium cumini* como antioxidante, obtenidas por solvent casting (Nasution et al., 2024). Se midió simultáneamente la actividad antibacteriana frente a *S. aureus* y *E. coli* y la capacidad antioxidante. Se encontró inhibición efectiva tanto en Gram positivas como en Gram negativas, acompañada de una elevada captación de radicales libres atribuida al extracto vegetal. Se sostuvo que la mezcla PLA/PCL con quitosano y extractos naturales origina materiales multifuncionales que protegen al alimento del deterioro microbiano y oxidativo.

En el ámbito de la panificación se incorporó aceite esencial de *Trachyspermum ammi*, en proporciones de hasta 50 %, a películas de ácido poliláctico (PLA) obtenidas por solvent casting (Singh et al., 2024). Durante el almacenamiento se monitoreó la liberación de compuestos volátiles y la actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* y *E. coli*. Las reducciones alcanzaron 5 ciclos logarítmicos y la vida útil de los waffles se extendió cerca de 30 días. Se planteó que los aceites esenciales vehiculizados en PLA son una alternativa natural eficaz para conservar alimentos de baja humedad.

Finalmente, se desarrollaron envases a partir de mezclas de ácido poliláctico (PLA) y policaprolactona (PCL) en proporciones 85/15 y 70/30, con ácido tánico al 5 % como agente antibacteriano (Moraczewski et al., 2025). La evaluación de la actividad por contacto frente a *E. coli* y *S. aureus* arrojó reducciones de entre 2 y 5 ciclos logarítmicos, condicionadas por la concentración del agente activo y por la relación entre polímeros. El aporte confirmó que las mezclas PLA/PCL son una matriz versátil para fabricar envases biodegradables con propiedades antibacterianas reforzadas.

Marco Teórico

Contaminación de alimentos

La contaminación de los alimentos se define como la presencia no deseada de agentes biológicos, químicos o físicos capaces de alterar la composición original del producto y comprometer su inocuidad (FAO, 2022). La contaminación biológica corresponde a la presencia de microorganismos patógenos: bacterias, virus, parásitos y hongos, siendo las bacterias la causa más frecuente de los brotes alimentarios; entre ellas destacan *E. coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *S. aureus*, cuyo crecimiento se favorece por malas prácticas de manufactura, rupturas de la cadena de frío o deficiencias en el envasado (Patiño-Vidal et al., 2023). La de tipo químico abarca residuos de plaguicidas, metales pesados, micotoxinas y sustancias que migran desde el envase, en tanto que la física corresponde a cuerpos extraños como fragmentos de metal, vidrio o plástico (INEN, 2014). Su control exige un abordaje integrado que reúna buenas prácticas de manufactura, el análisis de peligros y puntos críticos de control y el uso de envases con funciones activas (Shi et al., 2025).

Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son afecciones infecciosas o tóxicas causadas por la ingestión de alimentos o agua contaminados con agentes biológicos o químicos (OMS, 2022). Entre las bacterias de mayor relevancia epidemiológica se encuentran *S. aureus* y *E. coli*, por su amplia presencia en las matrices alimentarias y su capacidad para generar toxinas o cuadros clínicos de gravedad variable. *S. aureus* se asocia a la producción de enterotoxinas termoestables en productos lácteos, cárnicos y de panadería, con síntomas que aparecen entre una y seis horas tras el consumo (Castañón-Vilca et al., 2023), mientras que las cepas patógenas de *E. coli*, en particular *E. coli* O157:H7, producen toxinas Shiga capaces de provocar colitis hemorrágica (OMS, 2022).

Microorganismos patógenos

Los microorganismos patógenos son aquellos capaces de causar enfermedad en un hospedero susceptible, ya sea mediante invasión directa, producción de toxinas o alteración metabólica del alimento (FAO, 2022). En este trabajo se recurrió a dos especies bacterianas que actúan como variables independientes de tipo biológico: *S. aureus*, en representación de las Gram positivas, y *E. coli*, en representación de las Gram negativas.

S. aureus (Gram positiva)

S. aureus es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo y no formador de esporas, que se desarrolla entre 7 y 48 °C, con un óptimo de 37 °C. Habita comúnmente en la piel y las mucosas y se caracteriza por su tolerancia a elevadas concentraciones de sal, lo que favorece su presencia en productos cárnicos y lácteos (das Neves et al., 2023). Su capacidad de producir enterotoxinas termoestables lo convierte en un agente responsable de

intoxicaciones alimentarias con periodos de incubación cortos y sintomatología gastrointestinal.

***E. coli* (Gram negativa)**

E. coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, de la familia *Enterobacteriaceae*. La mayoría de sus cepas integran el microbiota intestinal normal, pero existen grupos patógenos (enterohemorrágico, enterotoxigénico, enteropatógeno e invasivo) que producen cuadros diarreicos de distinta severidad (OMS, 2022). Su presencia en los alimentos se asocia a contaminación fecal, manejo inadecuado del agua o deficiencias en los procesos de pasteurización y cocción (FAO, 2022).

Materiales de envase

Un material de envase es la estructura física que contiene, protege, transporta y comunica información relevante sobre el producto alimenticio a lo largo de la cadena de distribución (Nicosia y Licciardello, 2025). Su función no se limita a la contención, sino que abarca la preservación de la calidad nutricional y microbiológica del alimento mediante una barrera frente al oxígeno, la humedad y la luz (Shi et al., 2025). Los envases plásticos convencionales, como el polietileno de tereftalato (PET), el polietileno de alta densidad (PEAD), el polietileno de baja densidad (PEBD), el polipropileno (PP) y el poliestireno (PS), predominan por su bajo costo y versatilidad; no obstante, su persistencia ambiental y la generación de microplásticos impulsan la búsqueda de alternativas biodegradables (PNUMA, 2023).

Películas biodegradables

Las películas biodegradables son materiales poliméricos de bajo espesor que se descomponen por acción enzimática, microbiana o ambiental hasta convertirse en compuestos inocuos (Babaei-Ghazvini et al., 2021).

En el envasado activo se desarrollan a partir de biopolímeros como almidones, proteínas, polisacáridos y poliésteres renovables como el PLA y la PCL, y permiten incorporar agentes antimicrobianos que prolongan la vida útil de los alimentos (Moraczewski et al., 2025). El quitosano, polisacárido catiónico derivado de la desacetilación de la quitina, se utiliza con frecuencia por sus propiedades antimicrobianas intrínsecas y su compatibilidad con matrices biodegradables (Babaei-Ghazvini et al., 2021).

Polímeros biodegradables

Los polímeros biodegradables son macromoléculas que, mediante procesos enzimáticos, microbianos o ambientales, terminan convertidas en dióxido de carbono (CO₂), agua y biomasa (Babaei-Ghazvini et al., 2021).

En el envasado de alimentos se obtienen a partir de fuentes renovables como almidones, proteínas, polisacáridos y poliésteres, entre los que destacan el ácido poliláctico

(PLA) y la policaprolactona (PCL) por su origen renovable, su procesabilidad y sus propiedades mecánicas (Moraczewski et al., 2025).

Ácido poliláctico (PLA)

El ácido poliláctico (PLA) es un poliéster termoplástico que se sintetiza por polimerización del ácido láctico obtenido a partir de la fermentación de azúcares vegetales, como los del maíz o la caña de azúcar (Patiño-Vidal et al., 2023). Ofrece buenas propiedades mecánicas, transparencia y biodegradabilidad en compostaje industrial; no obstante, su rigidez y fragilidad restringen su empleo allí donde se requiere flexibilidad. Por esta razón, el PLA se combina con polímeros más flexibles para ajustar su desempeño en el envasado activo de alimentos.

Policaprolactona (PCL)

La policaprolactona (PCL) es un poliéster semicristalino que se caracteriza por su alta flexibilidad, su baja temperatura de transición vítrea y su buena procesabilidad (Moraczewski et al., 2025). Estas propiedades favorecen su uso como agente flexibilizante en mezclas con PLA, ya que compensa la rigidez de este último. La combinación de ambos poliésteres genera películas con propiedades mecánicas equilibradas, adecuadas para su aplicación como material de envase.

Mezclas poliméricas PLA/PCL

Las mezclas poliméricas de PLA y PCL presentan una compatibilidad limitada debido a la diferencia entre sus parámetros de solubilidad, por lo que se recurre a estrategias de compatibilización mediante plastificantes, compatibilizadores reactivos y agentes de acoplamiento (Moraczewski et al., 2025). Las proporciones 75/25, 50/50 y 25/75 son las más estudiadas porque permiten ajustar las propiedades mecánicas y de barrera al uso buscado. Sumar PCL al PLA baja el módulo de Young y eleva la elongación a la rotura, con lo que las películas se vuelven más flexibles y resistentes a la manipulación (Nasution et al., 2023). El inconveniente más común es la separación de fases entre el PLA, más rígido y polar, y la PCL, más flexible y menos polar, que genera dominios visibles y pérdida de homogeneidad; este efecto se contiene con plastificantes que bajan la tensión interfacial (Cottet et al., 2024; Hanafy et al., 2021). Además, la matriz PLA/PCL ofrece un soporte adecuado para la incorporación de agentes activos como el LAE, ya que permite su liberación controlada y sostenida (Patiño-Vidal et al., 2023).

Plastificante polietilenglicol (PEG)

El polietilenglicol (PEG) es un polímero sintético soluble en agua, considerado seguro para uso alimentario y farmacéutico por las agencias regulatorias internacionales. En la elaboración de películas biodegradables actúa como plastificante, pues reduce las fuerzas intermoleculares entre las cadenas poliméricas y, con ello, eleva la flexibilidad, la elasticidad y la elongación de la película y disminuye su fragilidad (Cottet et al., 2024). Asimismo, el

PEG favorece la dispersión homogénea de los agentes activos en la matriz, lo que mejora su liberación controlada y la eficacia antimicrobiana del sistema (Hanafy et al., 2021). Sus cadenas oxietilénicas se insertan entre los segmentos del PLA y de la PCL, reducen la tensión interfacial y mejoran la miscibilidad parcial de la mezcla (Cottet et al., 2024; Hanafy et al., 2021).

Agentes antimicrobianos

Los agentes antimicrobianos son sustancias capaces de inhibir el crecimiento o eliminar microorganismos en un sistema biológico o alimentario. En el envasado activo se utilizan compuestos de origen natural, sintético y mixto, sobre todo aceites esenciales, polifenoles, nanopartículas metálicas, las bacteriocinas y los surfactantes catiónicos (Nasution et al., 2023; Singh et al., 2024). Su desempeño depende de la estabilidad química, de la compatibilidad con la matriz polimérica, de la capacidad de liberación controlada y del espectro de acción frente a Gram positivas y Gram negativas.

Surfactante catiónico y agente antimicrobiano LAE

El etil lauroil arginato (LAE) es un surfactante catiónico derivado del aminoácido L-arginina, el ácido láurico y el etanol, que posee actividad antimicrobiana de amplio espectro (Ma et al., 2023). Su mecanismo de acción se basa en la interacción electrostática entre la carga positiva del grupo guanidinio del LAE y los componentes negativamente cargados de la membrana celular bacteriana, lo que provoca la desestabilización de la bicapa lipídica, la pérdida de integridad de la membrana y la muerte celular (Ma et al., 2023; Nicosia y Licciardello, 2025). Tras la perturbación de la membrana, la pérdida de selectividad iónica conlleva la salida de potasio, magnesio y aminoácidos hacia el medio extracelular, mientras que el ingreso descontrolado de agua eleva la presión osmótica interna y produce el hinchamiento y la lisis del microorganismo (Ma et al., 2023; Nicosia y Licciardello, 2025). Este doble efecto, físico y osmótico explica la rapidez con que el LAE inactiva poblaciones bacterianas en concentraciones reducidas, y muestra eficacia frente a bacterias Gram positivas, como *S. aureus*, y Gram negativas, como *E. coli* (Patiño-Vidal et al., 2023).

Curvas de crecimiento bacteriano

La curva de crecimiento bacteriano representa la variación de la población microbiana en función del tiempo bajo condiciones de cultivo controladas, y comprende cuatro fases: latencia, crecimiento exponencial, estacionaria y muerte (Castañón-Vilca et al., 2023). Durante la latencia las células se adaptan al medio; en la fase exponencial se multiplican a velocidad máxima; en la fase estacionaria el crecimiento se estabiliza por agotamiento de nutrientes o acumulación de metabolitos; y en la fase de muerte predominan los procesos de autólisis. La elaboración de curvas de crecimiento resulta esencial para estandarizar los inóculos empleados en los ensayos antimicrobianos, ya que permite determinar la concentración celular correspondiente a una absorbancia dada y garantizar la reproducibilidad de los resultados (Patiño-Vidal et al., 2023).

Evaluación de propiedades antibacterianas en materiales de envase

La evaluación de las propiedades antibacterianas de los materiales de envase se realiza mediante métodos estandarizados que cuantifican la reducción de la población microbiana o estiman la zona de inhibición del crecimiento en condiciones controladas (ASTM International, 2013). Los ensayos más utilizados son la difusión en disco, la concentración mínima inhibitoria, el contacto directo en condiciones estáticas y el contacto dinámico en suspensión líquida. La elección del método depende de la naturaleza del material, del tipo de agente antimicrobiano y del objetivo de la investigación, y la combinación de técnicas estáticas y dinámicas ofrece una visión completa del comportamiento del material (Cottet et al., 2024).

Técnica de difusión en disco o método sólido

La técnica de difusión en disco, también conocida como método de Kirby-Bauer modificado, consiste en colocar un disco del material activo sobre una placa de agar previamente inoculada con la bacteria de interés. Durante la incubación, el agente antimicrobiano difunde en el agar y genera una zona de inhibición alrededor del disco cuyo diámetro, expresado en centímetros (cm), refleja la sensibilidad de la bacteria al material (ASTM International, 2013; Castañón-Vilca et al., 2023). El diámetro del halo de inhibición constituye la variable dependiente del método sólido y permite una comparación rápida entre formulaciones.

Técnica de contacto dinámico o método líquido

El contacto dinámico corresponde al procedimiento descrito en la norma ASTM E2149-13 (Sociedad Americana para Pruebas y Materiales), que coloca el material a evaluar dentro de un recipiente con una suspensión bacteriana sometida a agitación constante y temperatura controlada (ASTM International, 2013). Luego se realizan diluciones seriadas y siembras en agar para cuantificar la reducción de la población, expresada como el recuento logarítmico de unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL), que aquí funciona como variable dependiente del método líquido. La técnica se ajusta especialmente bien a materiales con agentes antimicrobianos inmovilizados, pues reproduce las condiciones dinámicas que enfrenta un envase durante su uso.

METODOLOGÍA

Enfoque

La investigación tiene un enfoque cuantitativo, ya que la evaluación de las propiedades antibacterianas del material PLA/PCL/LAE requiere la cuantificación precisa de variables observables tales como el diámetro del halo de inhibición, expresado en centímetros, y la concentración celular residual, expresada en unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL) y en logaritmos decimales de reducción (Reducción log). Estas mediciones permitieron el análisis estadístico y la comparación entre las distintas formulaciones evaluadas.

Tipo de investigación

La investigación fue de tipo experimental ya que se sustentó en la manipulación controlada de variables independientes que correspondieron al tipo de material, con tres niveles (PLA, PCL y PLA/PCL 75/25 con LAE), y al tipo de bacteria, con dos niveles (*S. aureus* y *E. coli*). Las variables dependientes fueron el diámetro del halo de inhibición, en centímetros, para el método sólido, y el recuento logarítmico de unidades formadoras de colonia por mililitro para el método líquido.

La fase experimental se desarrolló en la Universidad Nacional de Chimborazo en el laboratorio del grupo de investigación de Inocuidad y Valorización de Recursos para la Agroindustria (INVAGRO) de la carrera de Agroindustria, cumpliendo con los protocolos de bioseguridad y los lineamientos de calidad establecidos por la institución.

Diseño de la investigación

En esta investigación se trabajó con un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial 3×2 , ya que permitió evaluar simultáneamente el efecto del tipo de material y del tipo de bacteria sobre la actividad antibacteriana. El primer factor fue el material, con tres niveles: película de PLA, película de PCL y película activa PLA/PCL 75/25 con LAE. El segundo factor fue la bacteria, con dos niveles: *S. aureus* y *E. coli*. La combinación de ambos factores generó seis tratamientos, cada uno evaluado por triplicado, para un total de 18 unidades experimentales por cada método. Los seis tratamientos resultantes fueron: T1 = PLA / *S. aureus*; T2 = PLA / *E. coli*; T3 = PCL / *S. aureus*; T4 = PCL / *E. coli*; T5 = PLA/PCL/LAE / *S. aureus*, y T6 = PLA/PCL/LAE / *E. coli*. Cada tratamiento se ejecutó por triplicado y se acompañó de un control bacteriano sin película (CNT) para cada especie.

Técnicas e instrumentos para la recolección de datos e información

Preparación del material de envase biodegradable

Antes de fabricar el material activo se realizó una etapa preliminar para escoger la proporción polimérica más adecuada. Se procesaron por solvent casting tres relaciones PLA/PCL representativas de las reportadas en la literatura, 25/75, 50/50 y 75/25 peso/peso,

todas bajo idénticas condiciones de secado de los polímeros, concentración de cloroformo, temperatura de evaporación, tiempo de agitación y volumen de vaciado en placa Petri; cada una se preparó por triplicado para asegurar la repetibilidad y descartar la subjetividad de una sola observación. La comparación se basó en cinco criterios técnicos ligados al desempeño de un envase alimentario: homogeneidad superficial, ausencia de grietas o microfisuras tras evaporar el cloroformo, flexibilidad comprobada con la prueba de doblez manual sin fractura, integridad estructural a las 24 h de secado y facilidad de desmolde íntegro desde la placa Petri. La relación 75/25 peso/peso fue la de mejor comportamiento y quedó fijada como matriz base del material activo. Partiendo de ella, y mediante solvent casting, se elaboraron los tres tipos de película que requería el diseño experimental: control de PLA puro, control de PCL puro y película activa de PLA/PCL 75/25 con etil lauroil arginato.

En todos los casos, los polímeros se secaron previamente en estufa a 60 °C durante 48 h para eliminar la humedad residual y luego se disolvieron en cloroformo al 2% peso/volumen, con agitación constante a temperatura ambiente (25 °C) en un agitador magnético HS334-04 hasta lograr una solución homogénea. Para la película activa, el LAE se sumó a la solución PLA/PCL 75/25 en una concentración fija del 15 % peso/peso respecto a la masa total de polímeros; esta dosis se tomó de los rangos descritos para sistemas PLA/PCL sin co-aditivos y se comprobó en pruebas preliminares, donde mantuvo la integridad estructural de la película sin exudación del aditivo. Se añadió, asimismo, polietilenglicol (PEG) al 2,8 % peso/peso como plastificante para mejorar la maleabilidad de la matriz. La mezcla se agitó 30 min adicionales para distribuir de manera uniforme el agente activo; luego, las soluciones se vertieron en placas Petri de vidrio (50 mL por placa) y el cloroformo se evaporó en una estufa tipo bandeja a 40 °C durante 24 h, tras lo cual las películas se desmoldaron.

Los criterios de selección de las concentraciones de ambos aditivos fueron los siguientes. Para el LAE, el 15 % p/p corresponde al límite superior del rango descrito para matrices de base PLA: los sistemas multicapa con nanocristales de celulosa y quitosano operan entre 5 y 10 % porque el componente hidrofílico facilita la difusión del surfactante (Patiño-Vidal et al., 2023), mientras que en una matriz exclusivamente poliéster, sin coacarreador hidrofílico, la liberación es más lenta y exige una carga mayor (Nicosia y Licciardello, 2025). En las pruebas preliminares, el 15 % fue la dosis máxima que conservó la integridad estructural de la película sin exudación ni cristalización del aditivo en la superficie. Para el PEG, el 2,8 % p/p es la dosis mínima que eliminó la fragilidad característica del PLA sin inducir separación de fases ni pegajosidad superficial, dentro del rango descrito para plastificantes hidrofílicos en matrices biodegradables (Barahona Toscano, 2024). Ambas concentraciones se mantuvieron fijas en todas las réplicas, por lo que no constituyen factores del diseño experimental.

En cuanto a las dimensiones del material, el espesor no se controló como variable de diseño ni se midió con micrómetro, porque la película se conformó por vaciado de un volumen líquido constante de 50 mL de solución al 2 % p/v sobre placas Petri de vidrio de idéntico diámetro. Bajo esas condiciones, la relación entre la masa de polímero y el área de

vaciado se mantiene constante entre lotes y el espesor queda estandarizado de forma indirecta, lo que garantiza la comparabilidad entre tratamientos. La medición directa del espesor y su efecto sobre la cinética de liberación del LAE se plantean como trabajo posterior.

Construcción de curvas de crecimiento

De manera previa al ensayo antimicrobiano, se construyeron las curvas de crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* con la finalidad de determinar el tiempo y la concentración celular óptima para la preparación del inóculo. Se inició con un preinóculo, tomando una cepa de cada bacteria y colocándola en un tubo con caldo de soja Triptona incubado durante 24 h a 37 °C bajo agitación constante de 150 rpm (revoluciones por minuto). Posteriormente, en un matraz Erlenmeyer con 100 mL de caldo estéril se adicionó 1 mL del preinóculo y se midió la absorbancia cada 30 min a 600 nm (nanómetros) en un espectrofotómetro HACH, DR/2010 (USA) durante 4 h. En cada lectura se hicieron diluciones seriadas y se sembraron 100 µl (microlitros) en placas con Agar tripticasa de soja, de manera que pudiera determinarse el número de UFC/mL y relacionarlo con la absorbancia.

Preparación del inóculo

Establecida la relación entre absorbancia y concentración celular, se prepararon los inóculos para los ensayos antimicrobianos. Se colocaron 10 mL de caldo de soja Triptona estéril en un tubo de ensayo y mediante el uso de un asa bacteriológica previamente esterilizada se tomó una colonia de cada bacteria directamente desde la placa de reactivación, se agitó en un vortex con una barra magnética de agitación incubándose a 37 °C durante 24 h. Este procedimiento garantizó la obtención de inóculos estandarizados con concentraciones celulares comparables, condición indispensable para asegurar la reproducibilidad de los ensayos. Al día siguiente se preparó el inóculo, colocando 100 µL en 10 mL durante el tiempo determinado en las curvas de crecimiento.

Evaluación de la actividad antibacteriana del material de envase biodegradable

La actividad antibacteriana se evaluó frente a las bacterias Gram + *S. aureus* y Gram – *E. coli* en dos medios, sólido y líquido, por triplicado, siguiendo la metodología descrita por Patiño-Vidal et al. (2023) y la norma ASTM E2149-13.

En el ensayo en medio líquido, se inoculó una concentración celular de 10^5 UFC/mL de cada bacteria en tubos de ensayo con 10 mL de caldo TSB, y se colocaron en contacto con 6 cm² de material de envase PLA/PCL/LAE, con el propósito de mantener una relación área/volumen de 6 dm²/L, acorde con lo establecido en el Reglamento (UE) N.º 10/2011 sobre materiales en contacto con alimentos. Como controles se utilizaron tubos con inóculo sin película, así como tubos inoculados con películas de PLA puro y de PCL puro. Se

realizaron diluciones seriadas, se sembraron 100 μ L en agar TSA y se incubaron a 37 °C por 24 h, con la posterior cuantificación del crecimiento bacteriano. La actividad antibacteriana se expresó como porcentaje de reducción y como reducción de ciclos logarítmicos, calculados con las ecuaciones 1 y 2, respectivamente:

$$\text{Reducción (\%)} = [(B - A) / B] \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

$$\log_{10} \text{ reducción bacteriana} = \log_{10}(B) - \log_{10}(A) \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

A: concentración celular (UFC/mL) de la muestra tratada.

B: concentración celular (UFC/mL) de la muestra de control.

Nota. Cuando el material tratado no presenta crecimiento detectable ($A = 0$), la Ecuación 1 opera sin dificultad y arroja una reducción del 100 %. La Ecuación 2 no está definida, porque $\log_{10}(0)$ tiende a menos infinito; en esos casos el recuento se sustituye por el límite de detección del método, que para una siembra de 100 μ L en placa corresponde a 10 UFC/mL (1 log), y la reducción se informa como un valor mínimo ($\geq$). Bajo este criterio, las reducciones de 8,17 log para *S. aureus* y 7,59 log para *E. coli* deben leerse como valores iguales o superiores a los indicados.

En el ensayo en medio sólido, frente a las dos bacterias, se sembraron 300 μ L de una suspensión celular de 10^6 UFC/mL para cada bacteria en placas con agar TSA y se colocaron discos de 2,5 cm de diámetro de la película PLA/PCL/LAE sobre el agar. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h y el diámetro total del halo de inhibición se midió con una regla.

Como controles se emplearon placas inoculadas sin película y placas con discos de películas de PLA puro y PCL puro. Posteriormente, para determinar el tipo de efecto antibacteriano (bacteriostático o bactericida), se midió nuevamente el diámetro del halo luego de una segunda incubación sin el disco en condiciones estandarizadas. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Análisis de datos aplicados

La información experimental se tabuló y se representó gráficamente mediante el apoyo de programas informáticos. Microsoft Excel se empleó como herramienta de registro inicial para tabular las lecturas de absorbancia, las diluciones seriadas, los recuentos de unidades formadoras de colonia por mililitro y los diámetros de los halos de inhibición; en este software se calcularon también los promedios, desviaciones estándar, porcentajes de reducción y reducciones logarítmicas correspondientes a cada réplica.

El tratamiento estadístico se efectuó mediante un análisis de varianza (ANOVA) bifactorial, orientado a detectar diferencias significativas entre las muestras, cuyas medias se contrastaron con la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher a un nivel de confianza del 95 %, en el programa Statgraphics Centurion 16. Antes de cada análisis se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los residuos mediante la prueba de Shapiro-Wilk, la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene y la independencia de los errores experimentales.

Los resultados se presentaron como medias acompañadas de su desviación estándar y se asignaron grupos homogéneos cuando la prueba LSD de Fisher detectó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos.

Cumplimiento de principios éticos de la investigación científica

En lo relativo a la bioseguridad, el manejo de las cepas bacterianas *S. aureus* y *E. coli* clasificadas dentro del grupo de riesgo 2 según los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud se realizó en condiciones de laboratorio de nivel BSL-2, empleando equipos de protección personal, cabinas de bioseguridad clase II, técnicas asépticas y procedimientos de descontaminación por autoclave del material biológico residual, conforme con los protocolos institucionales del grupo INVAGRO.

En el ámbito de la propiedad intelectual y la difusión de resultados, se deja constancia de que, en concordancia con los lineamientos institucionales sobre patentes y publicaciones científicas, en el trabajo de titulación no se exponen la totalidad de los resultados experimentales obtenidos, debido a que la información generada se encuentra en proceso de protección intelectual y posterior publicación en revistas indexadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Elaboración del material

En la tabla 1, se muestran las cantidades calculadas para una placa Petri grande con un volumen final de 50 mL de solución polimérica. La proporción 75/25 (PLA/PCL) y el 15% de LAE se mantuvieron constantes en todas las réplicas para el análisis antimicrobiano. El criterio de selección del 75/25 (PLA/PCL) respondió a su comportamiento estable durante la etapa de evaporación, condición que en ensayos preliminares no se logró con relaciones más bajas en PLA, en las cuales se evidenciaron películas excesivamente blandas o con migración del aditivo a la superficie.

El PLA aportó estructura, resistencia y transparencia a la matriz, mientras que el PCL otorgó la flexibilidad necesaria para evitar la fragilidad típica del PLA puro. Como agente antimicrobiano el etil lauroil arginato (LAE) al 15%, el material mantuvo su integridad estructural sin presentar exudación del aditivo. Adicionalmente, se utilizó polietilenglicol (PEG) al 2,8% como plastificante, lo que mejoró la maleabilidad de la película. El cloroformo se empleó como solvente de trabajo en un volumen total de 50 mL por cada lote.

Tabla 1

Formulación de la película biodegradable PLA/PCL/LAE/PEG

Componente	Función	Proporción nominal	% real (masa total)	Masa (g)	Volumen
PLA (ácido poliláctico)	Polímero matriz	75 % (s/polímero)	63,7 %	0,750	—
PCL (policaprolactona)	Polímero flexibilizante	25 % (s/polímero)	21,2 %	0,250	—
LAE (etil lauroil arginato)	Agente antimicrobiano	15 % (s/polímero)	12,7 %	0,150	—
PEG (polietilenglicol)	Plastificante	2,8 % (s/polímero)	2,4 %	0,028	24 μ L
Total del material de envase	—	—	100 %	1,178	—
Cloroformo	Solvente (se evapora)	—	—	—	50 mL

Como se indica en la Tabla 1, la proporción PLA/PCL 75/25 seleccionada para la investigación se ubica dentro del rango estudiado por Moraczewski et al. (2025), quienes evaluaron mezclas 85/15 y 70/30 con ácido tánico al 5 % y obtuvieron películas trabajables con reducciones bacterianas de 2 a 5 log; no obstante, la matriz aquí desarrollada incrementó la fracción de PCL hasta el 25 % con el fin de compensar la fragilidad del PLA sin co-

aditivos celulósicos. La concentración del 15 % de LAE supera el rango de 10 a 20 % manejado por Tuapanta Macas (2025) en sistemas PLA-celulosa-LAE, así como el 5 a 10 % en multicapas reportado por Patiño-Vidal et al. (2023), debido a que la matriz monocapa de la investigación carece de quitosano y, por lo tanto, el LAE asume completamente la actividad antimicrobiana. La incorporación de PEG al 2,8 % se sustenta también en lo descrito por Hanafy et al. (2021) y Cottet et al. (2024), quienes confirmaron que esta proporción favorece la dispersión homogénea del agente activo y la flexibilidad de la matriz polimérica.

Los porcentajes reales del material de envase se muestran en la Tabla 1 en función de la masa total de los componentes (1,178 g), junto a la proporción nominal con la que se dosificó cada uno. La disminución aparente del PLA, del 75 % nominal al 63,7 % real, no constituye un error de cálculo: tanto el LAE como el PEG se dosificaron en función del peso del polímero, cuya suma ($\text{PLA} + \text{PCL} = 1,000 \text{ g}$) constituye el 100 % de la matriz base. El cloroformo se excluye del total porque se evapora íntegramente durante el secado y no forma parte del material final.

La obtención de una película continua, traslúcida y sin defectos visibles a partir de la mezcla PLA/PCL 75/25 con 15 % de LAE confirma la viabilidad de combinar dos polímeros biodegradables de polaridad distinta en una sola matriz funcional. Lo obtenido concuerda con Nasution et al. (2024), que describieron películas PLA-PCL con quitosano y extracto de *Syzygium cumini* de buena estabilidad estructural, y con Barahona Toscano (2024), que empleó plastificantes hidrofílicos en matrices semejantes. La acción conjunta del PEG y el LAE actúa como una interfase compatibilizante que reduce la separación de fases propia de las mezclas PLA/PCL, fenómeno que también señaló Nasution et al. (2023).

Conviene delimitar el alcance de estos resultados. En primer lugar, no se evaluó la estabilidad del LAE en almacenamiento prolongado: el surfactante es un éster susceptible de hidrólisis y la matriz PLA/PCL experimenta envejecimiento superficial que modifica con el tiempo la disponibilidad del agente activo (Fernández-Grajera et al., 2022), de modo que la eficacia documentada corresponde a película recién conformada y no puede extrapolarse sin más a la vida útil del envase. En segundo lugar, no se realizaron ensayos de migración específica ni de envejecimiento acelerado, necesarios para verificar el cumplimiento de los límites del Reglamento (UE) N.º 10/2011. En tercer lugar, el material se produjo en un único lote y a escala de laboratorio, por lo que no se dispone de datos de reproducibilidad entre lotes ni de comportamiento bajo procesamiento industrial. Por último, los ensayos se ejecutaron in vitro sobre medios de cultivo y no sobre matrices alimentarias reales, donde la carga de grasa, proteína y sal puede secuestrar al surfactante catiónico y reducir su actividad.

Curvas de crecimiento bacteriano

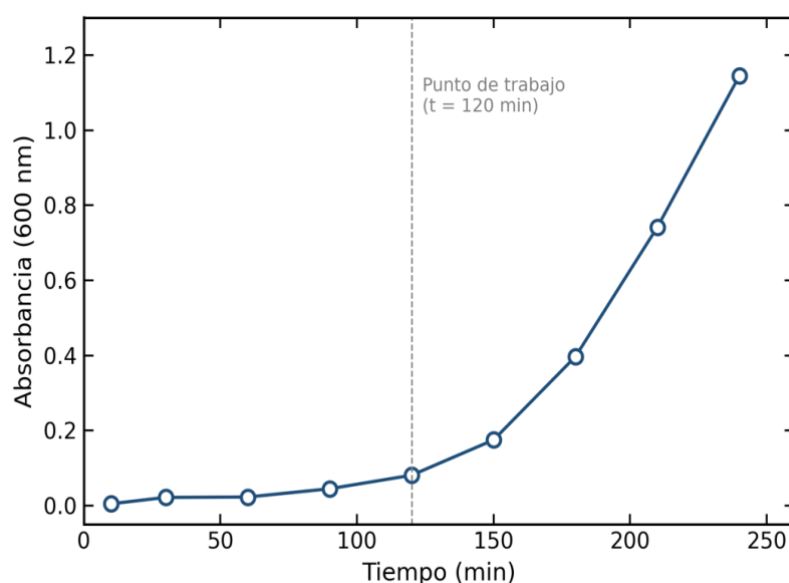
La elección de la fase exponencial como condición de trabajo en ambas cepas permitió asegurar una población metabólicamente activa y con alta sensibilidad frente a la acción antimicrobiana del material analizado, reduciendo la variabilidad experimental ocasionada por inóculos heterogéneos o células en fase estacionaria (ASTM International,

2013; Rodríguez-Rojas y Rolff, 2022). Este criterio fortalece la consistencia microbiológica del ensayo y garantiza que los porcentajes de inhibición obtenidos en las pruebas posteriores representen de manera más precisa el efecto del LAE sobre células viables y no sobre poblaciones con actividad metabólica reducida.

Para la curva de *S. aureus* los valores de absorbancia muestran un crecimiento lento durante los primeros 90 min (fase de adaptación o lag) seguido de un incremento marcado entre los 120 y 240 min, característico de la fase exponencial de esta bacteria. Para los ensayos antimicrobianos se seleccionó el tiempo de 120 min, momento en que la concentración celular alcanzó $\approx 10^5$ UFC/mL, valor recomendado por la norma ASTM E2149-13a (ASTM International, 2013).

Figura 1

Curva de crecimiento bacteriano de *S. aureus*



Como se detalla en la Figura 1, en la curva se identificaron las tres fases del crecimiento: adaptación (0–90 min), exponencial (120–240 min) y el inicio de la fase estacionaria evidenciado por la pequeña inflexión final, mientras que la línea segmentada vertical indica el tiempo seleccionado como punto de trabajo (120 min).

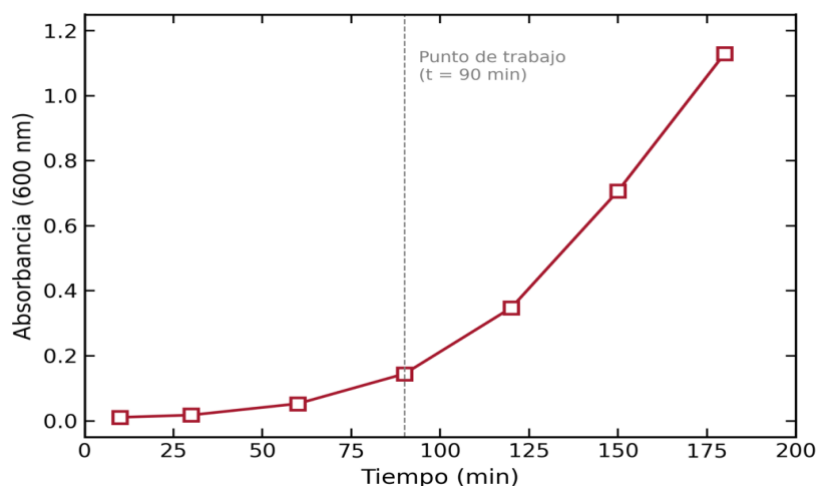
La selección del tiempo de 120 min como punto de trabajo para *S. aureus* garantizó una concentración celular cercana a $1,23 \times 10^7$ UFC/mL, valor que se alinea con la concentración exponencial de 10^7 UFC/ml exigido por la norma ASTM E2149-13a (ASTM International, 2013) y replicada por Patiño-Vidal et al. (2023) con un inóculo de partida de 10^5 UFC/mL en caldo Mueller Hinton. La cinética observada coincide con la descrita por Tuapanta Macas (2025), quien también alcanzó la fase exponencial de *S. aureus* a temperatura de 37 °C y agitación constante en caldo TSB, así como con la dinámica reportada por Castañón-Vilca et al. (2023) para cocos Gram positivos en presencia de aditivos naturales. Babaei-Ghazvini et al. (2021) advierten que una sobreestimación del inóculo conduce a falsos negativos en ensayos con películas activas; en consecuencia, la estandarización aquí realizada refuerza la validez interna del ensayo antimicrobiano, en

concordancia con lo planteado por Patiño-Vidal et al. (2021), quienes señalan que la fase exponencial maximiza la sensibilidad bacteriana a los surfactantes catiónicos.

En la Figura 2, en el caso de *E. coli*, el crecimiento fue notablemente más rápido. A los 90 min, la población alcanzó la concentración objetivo de $2,85 \times 10^7$ UFC/mL, por esta razón los ensayos con esta cepa se realizaron al cumplirse 1 h 30 min de incubación. Esta rapidez es característica de las bacterias Gram negativas, que poseen un metabolismo más acelerado y una fase de adaptación corta cuando se siembran en condiciones óptimas.

Figura 2

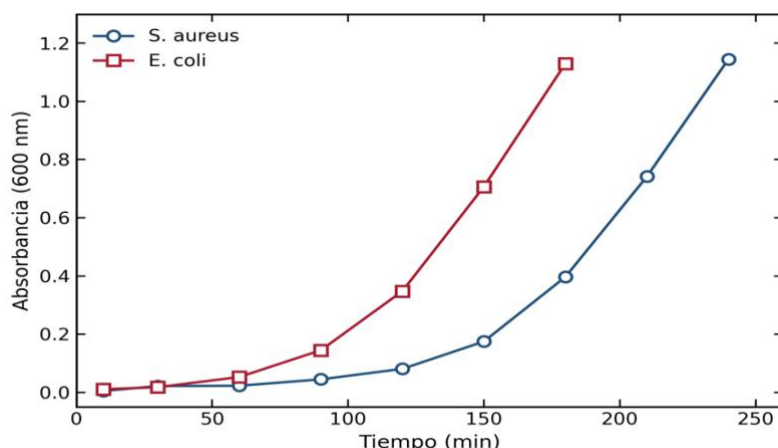
Curva de crecimiento bacteriano de E. coli



Como se ve en la Figura 2, la transición rápida de *E. coli* a la fase exponencial, alcanzando $2,85 \times 10^7$ UFC/mL en 90 min, es característica de las enterobacterias cultivadas a 37 °C con agitación constante. Cabe precisar que Patiño-Vidal et al. (2023) no construyeron curvas de crecimiento bacteriano, sino curvas de actividad antimicrobiana; por ello, su estudio no constituye un referente directo de la cinética de crecimiento aquí descrita, aunque sí de las condiciones de inoculación empleadas. La temperatura de 37 °C y la agitación de 150 rpm utilizadas en este trabajo aceleraron el metabolismo bacteriano, en línea con los resultados de das Neves et al. (2023), quienes reportaron densidades de 10^8 a 10^9 UFC/mL en menos de seis horas con ensayos en películas de almidón-PBAT. El menor tiempo experimental observado para *E. coli*, respecto a *S. aureus*, se justifica también por los hallazgos de Patiño-Vidal et al. (2021), quienes describieron concentraciones bactericidas mínimas para LAE de 40 ppm frente a *E. coli* y 70 ppm frente a *L. innocua*, lo que evidencia una mayor susceptibilidad metabólica de las enterobacterias en fase exponencial frente al surfactante catiónico.

Figura 3

Comparativa de las curvas de crecimiento de *S. aureus* y *E. coli*



Según se muestra en la Figura 3, la superposición de ambas curvas hace evidente la diferencia cinética entre las cepas. *E. coli* alcanzó valores de absorbancia altos en menos tiempo (1,130 a los min), mientras que *S. aureus* requirió casi el doble de incubación (210 min para llegar a 0,742) para alcanzar una densidad celular comparable. La estandarización de la concentración inicial en $\approx 10^7$ UFC/mL permitió garantizar comparabilidad entre los ensayos antimicrobianos.

La diferencia cinética observada entre ambas cepas justificó el uso de tiempos de trabajo diferenciados (120 min para *S. aureus* y 90 min para *E. coli*), respetando la fisiología propia de cada microorganismo y evitando imponer un mismo protocolo a especies con metabolismos diferentes, error frecuentemente reportado en estudios preliminares (Cottet et al., 2024). Este proceder es coherente con la norma ASTM E2149-13a (ASTM International, 2013) y con Tuapanta Macas (2025), que recalcó la importancia del control microbiológico previo para evitar artefactos. A diferencia de Patiño-Vidal et al. (2023), que partieron de inóculos de 10^5 UFC/mL en MHB con refrigeración a 4 °C, aquí se empleó 10^5 UFC/mL en TSB a 37 °C, una condición más exigente que potencia la actividad metabólica. Cabe insistir, por último, en que las curvas de Patiño-Vidal et al. (2023) correspondieron a la inhibición microbiana del material activo y no al crecimiento bacteriano; en este trabajo, en cambio, las curvas se construyeron para caracterizar el crecimiento y estandarizar el inóculo en fase exponencial.

La elección de 600 nm como longitud de onda para correlacionar absorbancia y UFC/mL coincide con Castañón-Vilca et al. (2023), quienes validaron este método espectrofotométrico para estandarizar inóculos antes de pruebas de inhibición.

Evaluación de la actividad antibacteriana mediante la técnica de contacto dinámico

La actividad antimicrobiana en medio líquido fue evaluada bajo la norma ASTM E2149-13a (ASTM International, 2013), considerada el referente internacional para la cuantificación de la actividad antibacteriana de superficies poliméricas en condiciones de

contacto dinámico. Esta técnica permitió determinar la capacidad bactericida de la película PLA/PCL/LAE en suspensión bacteriana en agitación constante por 24 h a 37 °C.

Así, en la Figura 4 se muestra que el control bacteriano (CNT) y los films de PLA y PCL puros presentaron una densidad considerable de colonias, en tanto que la placa del material PLA/PCL/LAE quedó libre de colonias visibles. La explicación reside en la acción directa del LAE sobre la membrana bacteriana, pues ni el PLA ni la PCL poseen actividad antimicrobiana propia. El patrón concuerda con Patiño-Vidal et al. (2023) en películas trilaminares PLA/quitosano/LAE y con Nicosia y Licciardello (2025) en películas con LAE. En términos al menos cualitativos, la inspección visual revela una ausencia detectable de crecimiento atribuible al surfactante catiónico presente en la matriz.

Figura 4

Placas resultantes del ensayo de contacto dinámico con S. aureus

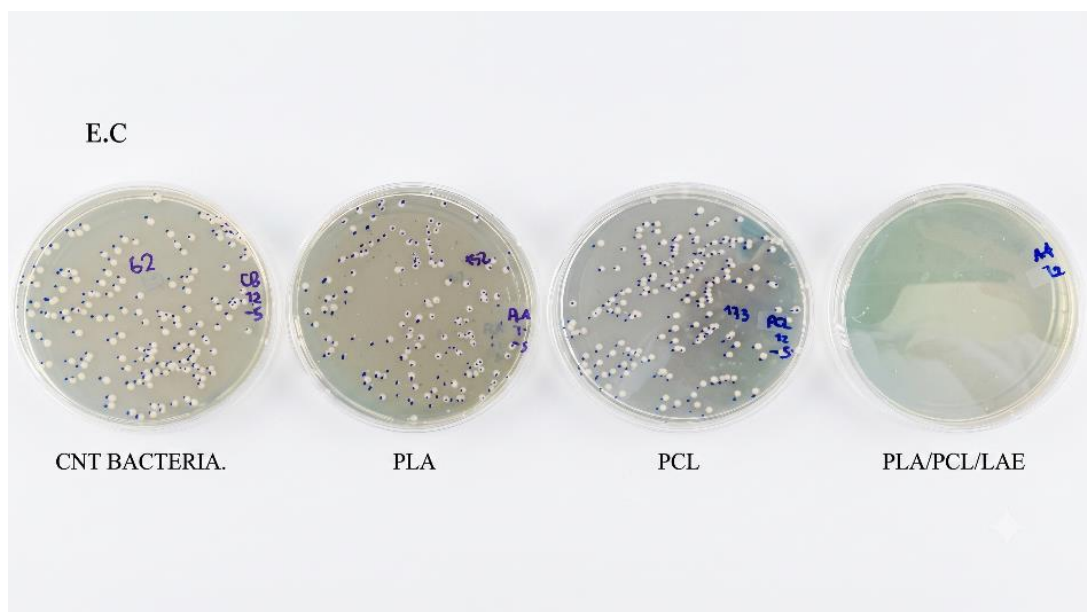


Nota. CNT = control bacteriano; PLA = ácido poliláctico; PCL = policaprolactona; PLA/PCL/LAE = mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona (75/25) incorporada con etil lauroil arginato al 15%.

Como se evidencia en la Figura 4, el comportamiento observado en *E. coli* fue similar al obtenido con *S. aureus*. El control y los polímeros sin LAE mostraron un crecimiento abundante, mientras que la placa del material con LAE no presentó colonias visibles. Este resultado confirma que la actividad antibacteriana se mantiene incluso frente a una bacteria Gram negativa, cuya membrana externa suele dificultar la acción de moléculas catiónicas

Figura 5

Placas resultantes del ensayo de contacto dinámico con *E. coli*



La ausencia visual de colonias en las placas del material PLA/PCL/LAE, contrastada con el crecimiento abundante de los controles y los polímeros sin aditivo, confirmó de manera cualitativa que no se detectaba crecimiento bacteriano ni para *S. aureus* ni para *E. coli*. El comportamiento coincide con Patiño-Vidal et al. (2023) en sus películas trilaminares PLA/quitosano/LAE, donde la inhibición visual se manifestó desde las primeras 6 h de contacto sobre *L. innocua* y después de 24 h sobre *S. enterica*. En la misma línea, Nicosia y Licciardello (2025) describieron un efecto antibacteriano sostenido en películas que liberan LAE desde la matriz polimérica hacia la superficie del alimento. La diferencia fundamental con este estudio radica en que la matriz monocapa PLA/PCL/LAE alcanzó la inhibición visual completa a 37 °C y 24 h, condición más exigente que la de refrigeración utilizada por Patiño-Vidal et al. (2023).

En la Tabla 2, se encuentran los valores corresponden al promedio de tres réplicas del material tratado $\pm$ desviación estándar.

Tabla 2

Concentración bacteriana residual y reducción logarítmica en medio líquido bajo contacto dinámico

Material	<i>S. aureus</i> (UFC/mL)	Reducción log	<i>E. coli</i> (UFC/mL)	Reducción log
CNT-Bacteria	$(3,90 \pm 0,96) \times 10^7$	—	$(1,47 \pm 1,32) \times 10^8$	—
PLA	$(1,60 \pm 0,28) \times 10^7$	0,39	$(1,13 \pm 0,39) \times 10^8$	0,13
PCL	$(4,80 \pm 2,76) \times 10^7$	0	$(2,02 \pm 0,70) \times 10^8$	0
PLA/PCL/LAE	0	7,59	0	8,17

El control bacteriano corroboró la viabilidad del inóculo a lo largo del ensayo. Los films de PLA y PCL puros apenas produjeron reducciones inferiores a 0,5 log, prácticamente despreciables, mientras que el material PLA/PCL/LAE llevó la población a 0 UFC/mL en todas las réplicas, equivalente a una reducción superior a 7,5 ciclos logarítmicos para *S. aureus* y a 8 para *E. coli*. Este descenso se debe al contacto directo del surfactante catiónico con la membrana bacteriana y a la rápida desorganización lipídica que induce el LAE.

La reducción de 0,39 log registrada por el control de PLA frente a *S. aureus* no proviene de un agente antimicrobiano añadido, sino de la propia naturaleza química del polímero. El PLA es un poliéster alifático lineal cuya unidad repetitiva $[-O-CH(CH_3)-CO]-$ contiene un enlace éster hidrolíticamente inestable. En contacto con el caldo TSB a 37 °C y bajo agitación constante durante 24 h, ese enlace se escinde por hidrólisis y libera oligómeros y monómeros de ácido láctico hacia el medio. El ácido láctico liberado acidifica la interfase película-caldo y, en su forma no disociada, atraviesa la membrana citoplasmática, se disocia en el interior celular y provoca un estrés ácido leve que ralentiza el metabolismo bacteriano. A ello se suma el carácter hidrofóbico y la baja energía superficial del PLA, que limitan la adhesión inicial de las células sobre la superficie del film. Ambos fenómenos explican por qué una matriz de PLA sin agente activo produce siempre una disminución pequeña pero medible del recuento, tal como lo describen Fernández-Grajera et al. (2022) y Patiño Vidal et al. (2026) para películas de PLA empleadas como control, y Moraczewski et al. (2025) para mezclas PLA/PCL.

Dicha reducción se considera despreciable por tres razones. En primer lugar, 0,39 log equivale a una disminución del 59% del recuento inicial, es decir, menos de un ciclo logarítmico, mientras que los criterios de evaluación de materiales antimicrobianos exigen al menos 1 log (90%) para hablar de inhibición apreciable, 3 log (99,9 %) para atribuir un efecto bactericida y 5 log para considerar una inhibición severa (ASTM International, 2013; Ma et al., 2023). En segundo lugar, la magnitud de 0,39 log queda comprendida dentro del intervalo de la desviación estándar de las réplicas del propio control bacteriano, por lo que no resulta distinguible de la variabilidad experimental. En tercer lugar, la prueba LSD de Fisher ubicó al PLA en el mismo grupo homogéneo (B) que el control de bacterias y que el PCL, lo que confirma estadísticamente la ausencia de diferencias significativas. En consecuencia, el PLA se comporta como un soporte inerte y la totalidad de la actividad antibacteriana observada en el material PLA/PCL/LAE debe atribuirse al LAE.

El comportamiento concuerda con Patiño-Vidal et al. (2023) y Nicosia y Licciardello (2025); además, supera las reducciones de 2 a 5 log de Moraczewski et al. (2025) con ácido tánico. Los resultados superan el umbral de 5 log que la literatura define como evidencia de inhibición severa y permiten posicionar al material como una tecnología con potencial tecnológico prometedor para envasado activo.

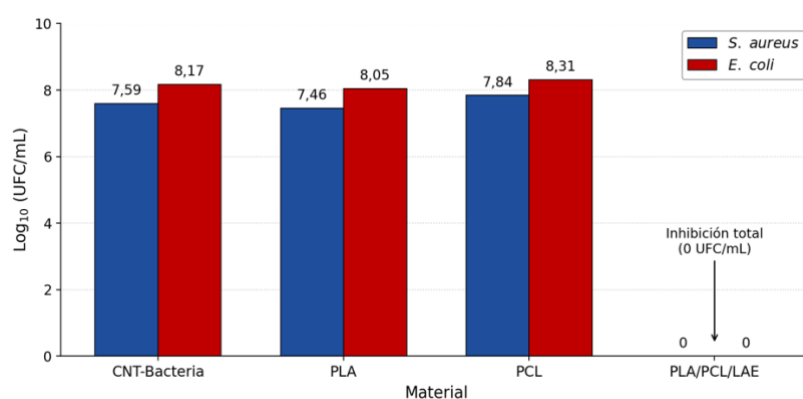
La reducción de 7,59 log frente a *S. aureus* y de 8,17 log frente a *E. coli* evidencia una ausencia detectable de crecimiento bacteriano y supera lo reportado por Patiño-Vidal et al. (2023), quienes obtuvieron reducciones de 7 log para *L. innocua* y de 7 log para *S. enterica* tras 6 a 24 h con un sistema trilaminar PLA/quitosano/LAE al 5–10 %. La magnitud

aquí alcanzada se explica por la mayor concentración de LAE empleada (15 %), por la configuración monocapa que permite una difusión directa y por la agitación constante a 37 °C durante 24 h. Estos valores son coherentes con la actividad antibacteriana descrita por Nicosia y Licciardello (2025) en películas que liberan LAE desde la matriz polimérica. Asimismo, los resultados superan ampliamente las reducciones de 2 a 5 log descritas por Moraczewski et al. (2025) con ácido tánico al 5 % en mezclas PLA/PCL 70/30.

Como se aprecia en la Figura 6, la representación en barras evidenció gráficamente la diferencia entre los tratamientos: las columnas correspondientes a CNT, PLA y PCL se mantuvieron entre 7,46 y 8,31 log UFC/mL, mientras que el material PLA/PCL/LAE registró un valor cero para ambas bacterias. Esta caída total respalda la observación de que no se detecta crecimiento en el material activo.

Figura 6

Concentración bacteriana residual por material en escala logarítmica – contacto dinámico



Nota. CNT = control bacteriano; PLA = ácido poliláctico; PCL = policaprolactona; PLA/PCL/LAE = mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona (75/25) incorporada con etil lauroil arginato al 15%.

Cabe precisar que la reducción logarítmica fue de 7,59 log para *S. aureus* y de 8,17 log para *E. coli*. Esta diferencia de 0,58 ciclos es despreciable y no debe interpretarse como una mayor susceptibilidad de *E. coli*, puesto que ambos recuentos descendieron a 0 UFC/mL, esto es, a una reducción del 100% en las dos cepas. La diferencia numérica refleja únicamente la concentración del control de partida, más alta en *E. coli* ($1,47 \times 10^8$ UFC/mL) que en *S. aureus* ($3,90 \times 10^7$ UFC/mL), ya que la Ecuación 2 se calcula respecto a ese valor. Por consiguiente, la técnica de contacto dinámico no permite discriminar susceptibilidades entre Gram positivas y Gram negativas cuando la inhibición es total; esa diferencia sí se aprecia en el ensayo de disco de difusión, donde el halo resultó mayor en *S. aureus* ($4,00 \pm 0,10$ cm) que en *E. coli* ($3,60 \pm 0,20$ cm), por efecto de la barrera adicional que constituye la membrana externa lipopolisacarádica de las Gram negativas.

El mecanismo de la actividad antimicrobiana del LAE explica este comportamiento. El etil lauroil arginato es un surfactante catiónico de carácter anfifílico sintetizado a partir de L-arginina, ácido láurico y etanol, en el que coexisten una cabeza polar con un grupo guanidinio permanentemente protonado y una cola apolar de doce átomos de carbono (Ma

et al., 2023; Nicosia y Licciardello, 2025). Su acción se desarrolla en cuatro etapas sucesivas. Primero, la carga positiva del guanidinio es atraída electrostáticamente hacia los componentes aniónicos de la envoltura bacteriana: los ácidos teicoicos y lipoteicoicos del peptidoglicano en las Gram positivas y los grupos fosfato del lipopolisacárido en las Gram negativas. Segundo, la cadena láurica se inserta entre los fosfolípidos de la membrana citoplasmática y desordena el empaquetamiento lipídico, con el consiguiente aumento de la fluidez y de la permeabilidad. Tercero, la pérdida de integridad de la bicapa disipa la fuerza protón motriz y la potencial transmembrana, de modo que se liberan hacia el medio iones potasio, ATP, proteínas y ácidos nucleicos. Cuarto, al quedar anulados el gradiente electroquímico y la regulación osmótica, la célula no logra sostener el transporte activo ni la síntesis de ATP y pierde la viabilidad (Ma et al., 2023; Patiño-Vidal et al., 2021; Rodríguez-Rojas y Rolff, 2022). Conviene señalar que el LAE no lisa la célula, sino que la inactiva alterando la funcionalidad de la membrana, razón por la cual el recuento en placa cae directamente a cero sin que se observen restos celulares.

El descenso a cero log UFC/mL del material PLA/PCL/LAE contrasta con das Neves et al. (2023), que obtuvieron reducciones cercanas a 1 log con películas de almidón-PBAT y nanopartículas biogénicas de plata, y con Singh et al. (2024), que registraron 5 log con aceite esencial de *Trachyspermum ammi* al 50 % en PLA. La explicación es que el LAE actúa por contacto directo y con cinética inmediata, mientras que las nanopartículas y los aceites esenciales dependen de mecanismos de liberación más lentos, sujetos a la difusión por la matriz. Ordoñez et al. (2023) sí alcanzaron reducciones de 7,3 log en *L. innocua* con ácido cinámico cercanas a las de este estudio, aunque por un mecanismo de disrupción enzimática. En conjunto, la cinética rápida del LAE en la matriz PLA/PCL/LAE sugiere un potencial tecnológico prometedor para formulaciones de liberación lenta, especialmente para alimentos altamente perecederos en condiciones de cadena de frío rota.

Tabla 3

Análisis de varianza (ANOVA) para la concentración bacteriana en función del tipo de bacteria y del material

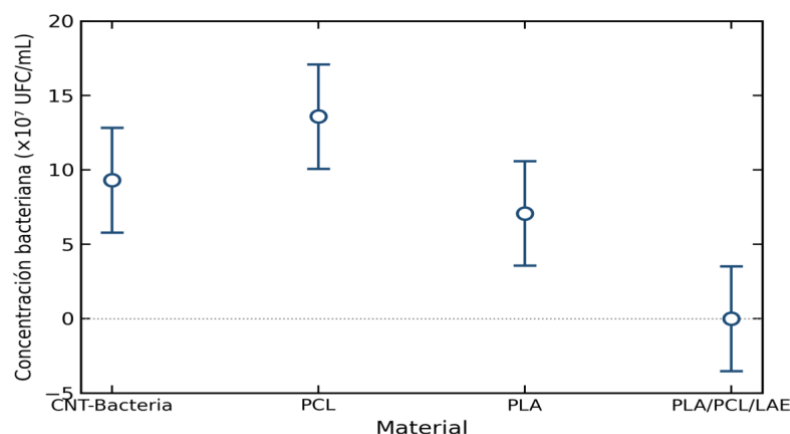
Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	p-valor
A: Bacteria	0,05	1	0,05	16,33	0,007*
B: Material	98,25	2	49,12	15.039,69	0,000*
Interacción A × B	0,02	2	0,01	2,34	0,178
Error total	0,02	6	0,00	—	—
Total (corr.)	98,34	11	—	—	—

Nota. SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM = cuadrado medio. El asterisco (*) indica significancia estadística ($\alpha = 0,05$). El factor Material ($F = 15.039,69$; $p < 0,001$) tiene un efecto altamente significativo sobre la concentración bacteriana, mientras que la interacción A × B no es significativa ($p = 0,178$), lo cual indica que el efecto del material es independiente del tipo de bacteria evaluado.

Como recoge la Tabla 3, el análisis de varianza confirma que el factor Material es altamente significativo ($F = 15.039,69$; $p < 0,001$), lo que indica que las diferencias en la concentración bacteriana residual nacen sobre todo de la composición del envase y no del azar experimental. El patrón coincide con el que describieron Cottet et al. (2024) para polímeros cuaternarios metilados, donde el efecto del agente activo dominó la variabilidad de los ensayos de contacto dinámico.

Figura 7

Medias y 95% de Fisher LSD para la concentración bacteriana en función del material

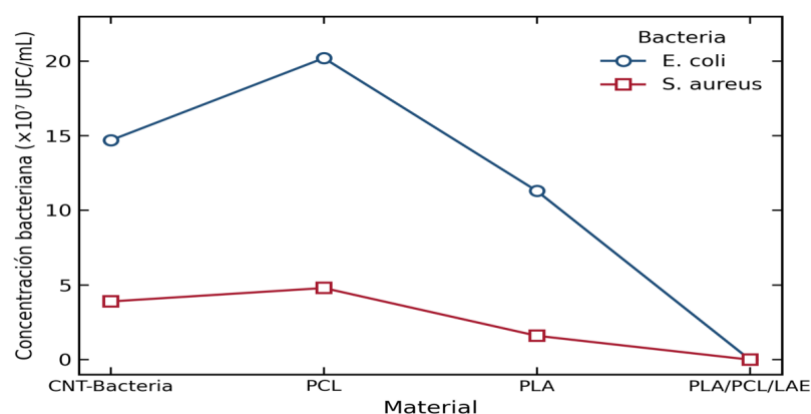


Nota. CNT = control bacteriano; PLA = ácido poliláctico; PCL = policaprolactona; PLA/PCL/LAE = mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona (75/25) incorporada con etil lauroil arginato al 15%.

Según se muestra en la Figura 7, cada punto representa la media estimada (mínimos cuadrados) por nivel del factor Material y las barras corresponden al intervalo de confianza del 95% (LSD de Fisher). Resulta evidente que la formulación PLA/PCL/LAE es la única cuyo intervalo se ubica en torno a cero, sin solapamiento con los demás tratamientos, lo que confirma estadísticamente la inhibición total del crecimiento bacteriano.

Figura 8

Gráfico de interacciones Material × Bacteria – ensayo de contacto dinámico



Como se evidencia en la Figura 8, la gráfica mostró que, aunque *E. coli* presentó concentraciones bacterianas absolutas más altas que *S. aureus* en los controles y en los polímeros sin aditivo, ambas curvas convergen en cero al evaluar el material PLA/PCL/LAE. Esta convergencia respalda la ausencia de interacción significativa observada en la Tabla 5 y demuestra que el LAE ejerce un efecto bactericida amplio, independientemente del tipo morfológico de la pared bacteriana.

La interacción Material $\times$ Bacteria no resultara significativa ($p = 0,1777$) demuestra que el efecto bactericida del PLA/PCL/LAE no depende del microorganismo evaluado, característica deseable en un envase activo de amplio espectro. Este comportamiento confirma la idoneidad del LAE como agente antimicrobiano universal frente a Gram positivas y Gram negativas, en coincidencia con Azarian et al. (2025) en películas PLA con vaterita $\text{CaCO}_3\text{-Ag}$ al 7 %.

Tabla 4
Pruebas de rangos múltiples (LSD de Fisher al 95 %) para la concentración bacteriana por material

Material	Casos	Media LS (UFC/mL)	Sigma LS	Grupo homogéneo
PLA/PCL/LAE	6	≈ 0	$2,34 \times 10^7$	A
PLA	6	$7,08 \times 10^7$	$2,34 \times 10^7$	B
CNT-Bacteria	6	$9,31 \times 10^7$	$2,34 \times 10^7$	B
PCL	6	$1,36 \times 10^8$	$2,34 \times 10^7$	B

Nota. Los grupos identificados con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0,05$). El material PLA/PCL/LAE constituye un grupo homogéneo independiente (A), confirmando que su efecto bactericida es estadísticamente distinto del resto. Se cumplieron los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk, $p > 0,05$), homogeneidad de varianzas (Levene, $p > 0,05$) e independencia de los residuos, lo que valida la robustez del análisis.

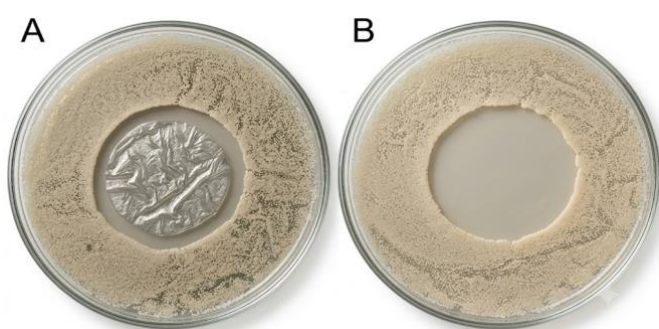
Como se indica en la Tabla 6, la separación del PLA/PCL/LAE en un grupo homogéneo independiente (A) confirmó estadísticamente que su efecto bactericida es distinto al de los demás tratamientos. Este resultado superó lo descrito por Tuapanta Macas (2025) y Barahona Toscano (2024), quienes alcanzaron reducciones moderadas con películas biodegradables sin agentes catiónicos. Cabe destacar que el control bacteria registró una media de $9,31 \times 10^7$ UFC/mL, valor congruente con el inóculo inicial de 10^5 UFC/mL utilizado en esta investigación y la fase exponencial obtenida a 37 °C, en línea con lo reportado por Patiño-Vidal et al. (2023) bajo el mismo protocolo de inoculación. Una reducción superior a 7 log frente a dos agentes etiológicos frecuentes de ETA en Ecuador (MSP, 2022) proyecta al material como una tecnología de barrera activa con potencial tecnológico prometedor para alimentos frescos, particularmente cárnicos, lácteos y panadería, donde *S. aureus* y *E. coli* son los principales contaminantes (ARCSA, 2022; FAO, 2022).

Evaluación de la actividad antibacteriana mediante la técnica de disco de difusión

Esta segunda técnica complementa la evaluación realizada en medio líquido. La actividad antimicrobiana en medio sólido se evaluó mediante la técnica de difusión en disco o método de Kirby-Bauer modificado. Esta técnica permitió determinar la capacidad bactericida basada en la difusión radial del compuesto activo desde el disco hacia el agar. El diámetro del halo de inhibición resulta una medida indirecta del poder bactericida y de la capacidad de migración del LAE desde la matriz polimérica.

Figura 9

Efecto bactericida del material PLA/PCL/LAE tras retirar el disco activo



Nota. A= tiene película activa, B = no tiene película activa

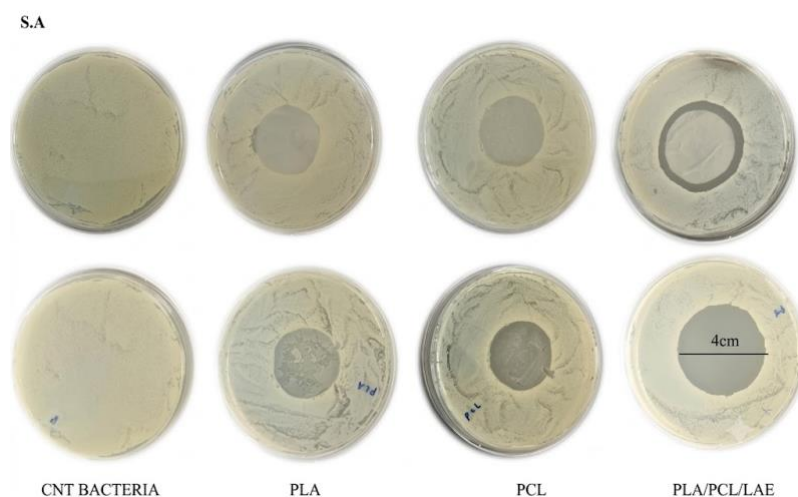
Como se aprecia en la Figura 9, la distinción entre un efecto bacteriostático y uno bactericida se comprobó experimentalmente retirando el disco de película activa de la placa y sometiendo la zona ya inhibida a una segunda incubación de 24 h a 37 °C en condiciones estandarizadas. La placa que estuvo en contacto con la película activa (A) conservó la zona clara sin colonias tras retirar el disco, mientras que la placa sin película activa (B) presentó crecimiento confluyente en toda la superficie. La ausencia de recrecimiento demuestra que en la zona de inhibición no quedaron células viables capaces de reanudar la multiplicación al desaparecer la fuente del agente activo; si el efecto hubiese sido bacteriostático, las células únicamente detenidas habrían reiniciado su división y la zona clara se habría colonizado durante la segunda incubación.

El efecto bactericida se explica por el blanco de acción del LAE. A diferencia de los antimicrobianos que inhiben rutas metabólicas o la síntesis proteica, cuyo efecto revierte al retirarse el compuesto, el LAE actúa sobre la membrana citoplasmática, una estructura que la célula no puede reparar una vez que su integridad se ha perdido: la disipación del potencial transmembrana y la fuga del contenido citoplasmático constituyen daños irreversibles que conducen a la muerte celular (Ma et al., 2023; Patiño Vidal et al., 2026). A ello se añade que la concentración local de LAE alcanzada en la zona de inhibición supera la concentración mínima bactericida descrita para este surfactante, del orden de 40 ppm frente a *E. coli* y de 70 ppm frente a *L. innocua* (Patiño-Vidal et al., 2021), de manera que el material no solo detiene el crecimiento, sino que elimina la población expuesta. Este resultado concuerda con

lo observado en el ensayo de contacto dinámico, donde el recuento descendió a 0 UFC/mL en todas las réplicas, y confirma que el material PLA/PCL/LAE ejerce un efecto bactericida y no meramente bacteriostático frente a *S. aureus* y *E. coli*.

Figura 10

Placas resultantes del ensayo de disco de difusión con *S. aureus*.

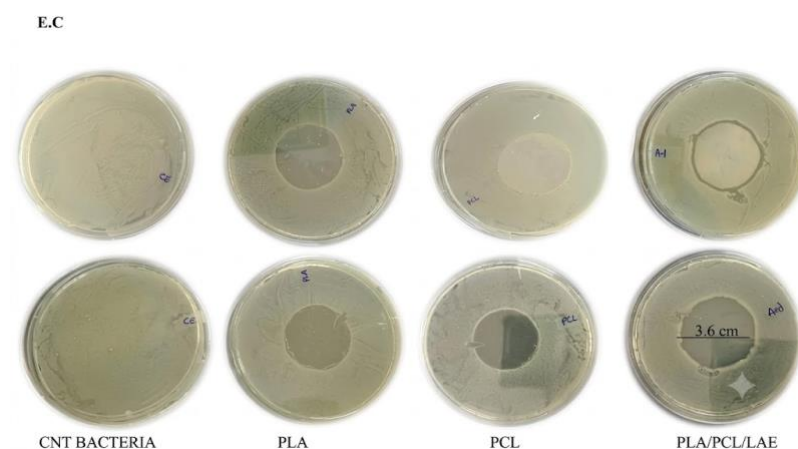


Nota. CNT = control bacteriano; PLA = ácido poliláctico; PCL = policaprolactona; PLA/PCL/LAE = mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona (75/25) incorporada con etil lauroil arginato al 15%.

En la Figura 10 se observa la formación de un halo de inhibición claramente definido alrededor del disco PLA/PCL/LAE ($\approx 4,0$ cm), mientras que los discos de PLA, PCL y los controles no generaron halo apreciable. La diferencia visual con respecto a los polímeros sin aditivo confirma que la actividad antibacteriana se debe exclusivamente al LAE incorporado en la matriz.

Figura 11

Placas resultantes del ensayo de disco de difusión con *E. coli*



Nota. CNT = control bacteriano; PLA = ácido poliláctico; PCL = policaprolactona; PLA/PCL/LAE = mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona (75/25) incorporada con etil lauroil arginato al 15%.

Como se aprecia en la Figura 11, en las placas con *E. coli* el halo de inhibición también es claramente visible alrededor del disco con LAE, aunque su diámetro es ligeramente menor ($\approx 3,6$ cm). Los discos de PLA y PCL puros no produjeron halo, confirmando que el efecto observado depende exclusivamente de la presencia del surfactante.

La formación de halos claramente definidos alrededor de los discos PLA/PCL/LAE tanto para *S. aureus* como para *E. coli*, mientras los discos de PLA y PCL puros no produjeron halo apreciable, evidenció que la actividad antibacteriana en medio sólido dependió exclusivamente del LAE incorporado en la matriz. Este patrón coincidió con el descrito por Patiño-Vidal et al. (2023), quienes reportaron halos de 3 mm para *L. innocua* y 2,7 mm para *S. enterica* con películas trilaminares PLA/electrospun/quitosano, y con Babaei-Ghazvini et al. (2021), que registraron halos visibles únicamente en películas funcionalizadas con nanopartículas metálicas.

Comparativamente, los halos obtenidos en la investigación superaron en un orden de magnitud a los descritos por Patiño-Vidal et al. (2023), lo que se atribuye al mayor contenido de LAE (15 %) y a la simplicidad estructural de la matriz monocapa, que facilitó una difusión radial más eficiente del surfactante hacia el agar TSA, según los argumentos planteados por Hanafy et al. (2021) sobre matrices simples y plastificadas.

Tabla 5

Diámetro del halo de inhibición (cm) en medio sólido para los distintos materiales evaluados

Film	<i>S. aureus</i> (cm)	<i>E. coli</i> (cm)
CNT-Bacteria	0	0
PLA	0	0
PCL	0	0
PLA/PCL/LAE	$4,00 \pm 0,10$	$3,60 \pm 0,20$

Como recoge la Tabla 5, los discos del material biodegradable se cortaron con un diámetro inicial de 2,5 cm. Tras la incubación, el halo creció hasta $4,0 \pm 0,1$ cm para *S. aureus* y hasta $3,6 \pm 0,2$ cm para *E. coli*, prueba de la migración efectiva del LAE desde la matriz polimérica hacia el medio sólido. Que el halo sea mayor en *S. aureus* que en *E. coli* concuerda con la distinta estructura de pared celular de los dos microorganismos: la capa de peptidoglicano de las Gram positivas resulta más accesible al surfactante catiónico que la membrana externa lipopolisacáridica de las Gram negativas.

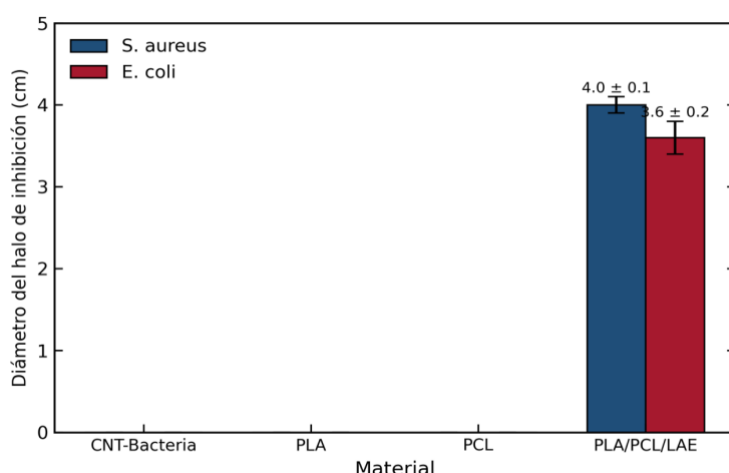
Los halos frente a las dos bacterias superaron los rangos de 1,5 a 1,9 cm reportados por Babaei-Ghazvini et al. (2021) en películas de quitosano con nanopartículas de óxido de zinc, así como los 2,17 cm máximos descritos por Nguyen et al. (2023) con nanopartículas biogénicas de plata. Asimismo, los valores duplicaron los rangos de 2,67 a 2,90 cm obtenidos por Tuapanta Macas (2025) con películas PLA-celulosa-LAE al 10 y 20 %, y se posicionaron

como un orden de magnitud superior a los 0,89 a 2,19 mm reportados por Patiño-Vidal et al. (2021) con nanofibras electrohiladas de PVOH-LAE/PLA en biofilms de Salmonella.

Tal diferencia se atribuye al reducido tamaño molecular del LAE (≈ 421 g/mol) y a su carácter anfifílico, que le otorgan una velocidad de difusión en agar superior a la de las nanopartículas inorgánicas, hecho compatible con lo descrito por Nicosia y Licciardello (2025) sobre la liberación del LAE desde matrices poliméricas

Figura 12

Comparación del diámetro del halo entre S. aureus y E. coli



Nota. CNT = control bacteriano; PLA = ácido poliláctico; PCL = policaprolactona; PLA/PCL/LAE = mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona (75/25) incorporada con etil lauroil arginato al 15 %.

Según se muestra en la Figura 12, el gráfico evidencia que *S. aureus* presenta una mayor susceptibilidad al material PLA/PCL/LAE en comparación con *E. coli* ($4,0 \pm 0,1$ cm vs. $3,6 \pm 0,2$ cm). Este comportamiento es congruente con la composición de la pared celular: en las Gram positivas la capa de peptidoglicano es directamente accesible al LAE catiónico, mientras que en las Gram negativas la membrana externa actúa como barrera adicional, atenuando ligeramente la difusión del surfactante.

La diferencia de 0,4 cm entre el halo de *S. aureus* y el de *E. coli* coincidió con Patiño-Vidal et al. (2023), quienes también reportaron mayor susceptibilidad para *L. innocua* (Gram positiva) frente a *S. enterica* (Gram negativa), y se explica desde la composición de la pared celular: en *S. aureus* el peptidoglicano se encuentra directamente expuesto, mientras que en *E. coli* la membrana externa rica en lipopolisacáridos actúa como barrera adicional al grupo guanidinio del LAE.

Este resultado difiere de los de Castañón-Vilca et al. (2023) en películas de almidón residual de papa con aditivos naturales, donde los halos fueron menores y la brecha entre Gram positivas y Gram negativas, menos marcada. La discrepancia se atribuye al carácter más hidrofóbico del propóleo y de los extractos vegetales, cuya difusión en agar es más lenta

que la del LAE, en concordancia con lo observado por Nicosia y Licciardello (2025) en películas con LAE.

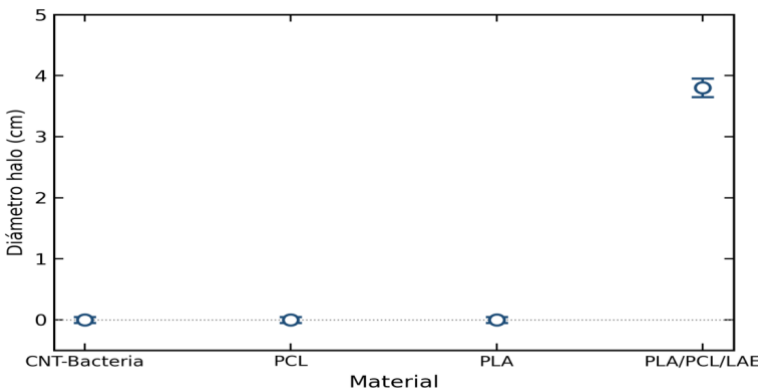
Tabla 6
Análisis de varianza para el diámetro del halo de inhibición (cm) – Suma de cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Material	23,40	3	7,80	—	—
B: Bacteria	0,01	1	0,01	—	—
Interacción A × B	0,03	3	0,01	—	—
Total (corregido)	23,45	7	—	—	—

Como se observa en la Tabla 8, en el análisis de varianza para el diámetro del halo, la mayor parte de la variabilidad (98,1 %) se explica por el factor Material, dado que únicamente el film con LAE generó halos cuantificables ($\approx 4,0$ y $3,6$ cm). Por esta razón, los residuos resultaron de magnitud despreciable y los valores-F no fueron calculables, comportamiento típico cuando la respuesta es categórica (presencia/ausencia de halo) en tres de los cuatro tratamientos.

El factor Material explica el 98,1 % de la variabilidad total, patrón típico de respuestas de tipo presencia/ausencia donde solo el material con LAE genera halo y los demás tratamientos se comportan como ceros homogéneos. Esta interpretación estadística respalda lo observado por Tuapanta Macas (2025), quien reportó halos discretos de 1 a 2 cm en sus películas a base de residuos de plátano, y por Barahona Toscano (2024), que registró halos de baja magnitud en formulaciones sin agente catiónico.

Figura 13
Medias y 95 % de Fisher LSD para el diámetro del halo de inhibición

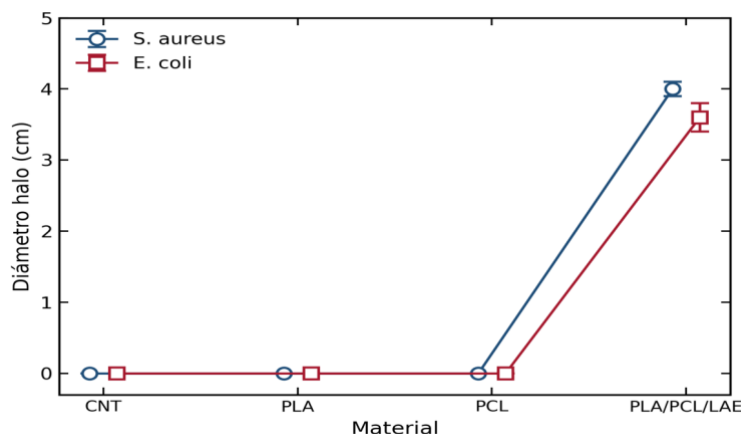


Nota. CNT = control bacteriano; PLA = ácido poliláctico; PCL = policaprolactona; PLA/PCL/LAE = mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona (75/25) incorporada con etil lauroil arginato al 15%.

Como se observa en la Figura 13, la gráfica confirma que CNT, PLA y PCL tienen medias estadísticamente equivalentes a cero, mientras que el material PLA/PCL/LAE se separa con un valor cercano a 3,8 cm. El intervalo de confianza estrecho refleja que el ensayo es altamente reproducible.

Figura 14

Gráfico de interacciones Material $\times$ Bacteria – ensayo de disco de difusión



Como se aprecia en la Figura 14, la gráfica permitió visualizar de forma directa la diferencia entre tratamientos. Los films sin aditivo y el control bacteriano se mantienen sobre cero, mientras que el material PLA/PCL/LAE alcanza valores cercanos a 4 cm. Las barras de error muestran la baja dispersión obtenida entre las réplicas ($\pm 0,1$ y $\pm 0,2$), lo que da consistencia a la lectura del halo.

La generación de halos superiores a 3 cm bajo dos metodologías independientes refuerza la validez del material y sugiere una zona de protección activa alrededor del alimento, especialmente útil en productos cárnicos, lácteos frescos y empacados al vacío (Nicosia y Licciardello, 2025; Singh et al., 2024). Estos resultados se alinean con los de Azarian et al. (2025) en películas PLA con vaterita $\text{CaCO}_3\text{-Ag}$ al 7 % y proyectan al PLA/PCL/LAE como una alternativa biodegradable viable bajo el marco regulatorio ecuatoriano (MAATE, 2022; ARCSA, 2022).

Estos resultados admiten una lectura directa para la agroindustria ecuatoriana. Una reducción superior a 7 log excede en más de cuatro órdenes de magnitud el umbral de 3 log que suele exigirse a un envase con función antimicrobiana, margen que da holgura frente a la pérdida de actividad esperable en una matriz alimentaria real. El destinatario natural son las pequeñas y medianas empresas de lácteos frescos, cárnicos y panadería de Chimborazo, donde el MSP (2022) registra brotes recurrentes por *E. coli* y *S. aureus* y donde predomina el envase inerte sin función activa. La incorporación del material a una línea productiva exige tres pasos en el orden práctico: validación de migración conforme al Reglamento (UE) N.º 10/2011, notificación sanitaria del envase ante la ARCSA (2022) y rotulado del producto según la NTE INEN 1334-2 (INEN, 2014). El costo del LAE, que representa el 12,7 % de la masa del material, es el factor que condiciona la viabilidad económica y debe contrastarse con el ahorro por reducción de devoluciones y por extensión de la vida útil.

En resumen, los resultados experimentales obtenidos para los cuatro tratamientos evaluados (CNT, PLA, PCL y PLA/PCL/LAE) permitieron caracterizar el material biodegradable propuesto en términos de su composición, comportamiento de crecimiento bacteriano y capacidad antimicrobiana. Integrar los ensayos de contacto dinámico y disco de difusión, con el respaldo del análisis estadístico en Statgraphics, ofrece una visión coherente del desempeño del material: las películas de PLA y PCL puros se comportan como los controles bacterianos, sin actividad inhibitoria apreciable, mientras que el film con LAE produce una ausencia detectable de crecimiento tanto en medio líquido (0 UFC/mL en todas las réplicas) como en medio sólido (halos de 4,0 y 3,6 cm para *S. aureus* y *E. coli*, respectivamente).

CONCLUSIONES

- Se elaboró por la técnica de casting un material de envase biodegradable a partir de la mezcla de ácido poliláctico y policaprolactona con etil lauroil arginato y polietilenglicol. La película resultó continua, translúcida y estructuralmente íntegra, sin migración del aditivo hacia la superficie, lo que confirma que ambos polímeros son compatibles con el agente activo en las condiciones de trabajo empleadas.
- Las curvas de crecimiento permitieron establecer el tiempo de incubación en el que cada bacteria alcanza la fase exponencial y estandarizar el inóculo de partida. Esta etapa previa aseguró que los ensayos antibacterianos se realizaran sobre poblaciones metabólicamente activas y comparables entre sí, condición que reduce la variabilidad experimental y respalda la reproducibilidad de los resultados obtenidos.
- El material con etil lauroil arginato presentó un efecto bactericida frente a la bacteria Gram positiva y a la Gram negativa, mientras que las películas de los polímeros puros se comportaron como el control. La técnica de disco de difusión mostró un mejor efecto antimicrobiano frente a la Gram positiva que frente a la Gram negativa, y esto se debió a la diferencia en la estructura de su envoltura celular.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de migración específicos del LAE desde la matriz PLA/PCL hacia sustitutos alimentarios, según las condiciones del Reglamento (UE) N.º 10/2011, para validar la inocuidad del material y tramitar ante la ARCSA la autorización sanitaria de uso en contacto con alimentos.
- Probar el material PLA/PCL/LAE en ensayos piloto sobre matrices alimentarias reales, como cárnicos frescos, lácteos y panadería, con el fin de cuantificar la extensión de la vida útil, contrastar su desempeño con el de los envases convencionales y consolidar la vinculación tecnológica universidad-industria que impulsa el grupo INVAGRO.
- Escalar la producción del material desde el solvent casting de laboratorio hacia procesos industriales continuos, como extrusión de película soplada o termoformado, verificando que el LAE conserve su actividad tras la exposición térmica propia de esos procesos (Srisa y Harnkarnsujarit, 2026) y estableciendo la reproducibilidad entre lotes.

BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria. (2022). *Normativa técnica sanitaria sustitutiva para alimentos procesados*. ARCSA.
<https://www.controlsanitario.gob.ec>
- ASTM International. (2013). *ASTM E2149-13: Standard test method for determining the antimicrobial activity of antimicrobial agents under dynamic contact conditions*. ASTM International. <https://www.astm.org/e2149-13.html>
- Azarian, M. H., Yuwawech, K., Tanthanuch, W., Junyusen, T., Wootthikanokkhan, J., & Sutapun, W. (2025). Biocompatible, biodegradable, and antimicrobial food packaging film from polylactic acid and biogenic vaterite CaCO₃-Ag hybrid. *Polymers*, 17(10), 1345. <https://doi.org/10.3390/polym17101345>
- Babaei-Ghazvini, A., Acharya, B., & Korber, D. R. (2021). Antimicrobial biodegradable food packaging based on chitosan and metal/metal-oxide bio-nanocomposites: A review. *Polymers*, 13(16), 2790. <https://doi.org/10.3390/polym13162790>
- Barahona Toscano, G. F. (2024). *Evaluación de plastificantes hidrofílicos en matrices biodegradables a base de polímeros biodegradables* [Trabajo de titulación, Universidad Nacional de Chimborazo]. Repositorio UNACH.
<http://dspace.unach.edu.ec>
- Castañón-Vilca, J. A., Ortiz-Quipe, B. S., Apaza-Cusiata, C. R., Medrano-de Jara, E., Quequezana-Bedregal, M. J., Gutiérrez-Oppe, E. E., & Pessoa-Filho, P. de A. (2023). Evaluation of the barrier and antimicrobial properties of biodegradable films based on potato waste starch containing natural additives. *SN Applied Sciences*, 5, 370. <https://doi.org/10.1007/s42452-023-05604-4>
- Cottet, C., Fernández-García, M., & Peltzer, M. A. (2024). Evaluation of different concentrations of antimicrobial quaternary polymers on the behavior of gelatin- and starch-based films. *Polymers*, 16(22), 3168.
<https://doi.org/10.3390/polym16223168>
- das Neves, M. da S., Scandorieiro, S., Pereira, G. N., Ribeiro, J. M., Seabra, A. B., Dias, A. P., Yamashita, F., Martinez, C. B. dos R., Kobayashi, R. K. T., & Nakazato, G. (2023). Antibacterial activity of biodegradable films incorporated with biologically-synthesized silver nanoparticles and the evaluation of their migration to chicken meat. *Antibiotics*, 12(1), 178.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12010178>
- Fernández-Grajera, M., Gallardo-Moreno, A. M., Luque-Agudo, V., González-Martín, M. L., & Hierro-Oliva, M. (2022). Bacterial response to the surface aging of PLA matrices loaded with active compounds. *Polymers*, 14(22), 4976.
<https://doi.org/10.3390/polym14224976>

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2022). *The state of food safety and foodborne diseases*. FAO. <https://www.fao.org/food-safety>
- Hanafy, M. S., Desoky, W. M., Hussein, E. M., El-Shaer, N. H., Gomaa, M., Gamal, A. A., Esawy, M. A., & Guirguis, O. W. (2021). Biological applications study of bio-nanocomposites based on chitosan/TiO₂ nanoparticles polymeric films modified by oleic acid. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 109(2), 232–247. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37019>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2014). *Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-2: Rotulado de productos alimenticios para consumo humano*. INEN. <https://www.normalizacion.gob.ec>
- Ma, Y., Ma, Y., Chi, L., Wang, S., Zhang, D., & Xiang, Q. (2023). Ethyl lauroyl arginate: An update on the antimicrobial potential and application in the food systems: A review. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1125808. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1125808>
- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2022). *Gaceta epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos*. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. <https://www.salud.gob.ec>
- Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica. (2022). *Ley Orgánica para la Racionalización, Reutilización y Reducción de Plásticos de un Solo Uso*. MAATE. <https://www.ambiente.gob.ec>
- Moraczewski, K., Stepczynska, M., Raszkowska-Kaczor, A., Szymanska, L., & Rytlewski, P. (2025). PLA/PCL polymer material for food packaging with enhanced antibacterial properties. *Polymers*, 17(9), 1134. <https://doi.org/10.3390/polym17091134>
- Nasution, H., Harahap, H., Julianti, E., Safitri, A., & Jaafar, M. (2023). Smart packaging based on polylactic acid: The effects of antibacterial and antioxidant agents from natural extracts on physical–mechanical properties, colony reduction, perishable food shelf life, and future prospective. *Polymers*, 15(20), 4103. <https://doi.org/10.3390/polym15204103>
- Nasution, H., Harahap, H., Julianti, E., Safitri, A., & Jaafar, M. (2024). Properties of active packaging of PLA-PCL film integrated with chitosan as an antibacterial agent and *Syzygium cumini* seed extract as an antioxidant agent. *Heliyon*, 10(1), e23952. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e23952>
- Nguyen, Q. L., Le, D. V., Phan, A. N., & Nguyen, V. D. (2023). Synthesis of biodegradable and antimicrobial nanocomposite films reinforced for coffee and agri-food product preservation. *ACS Omega*, 8(45), 42177–42185. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c04017>

- Nicosia, C., & Licciardello, F. (2025). The potential of ethyl lauroyl arginate (LAE)-based active packaging: Current status, technical challenges, and research gaps. *Trends in Food Science & Technology*, 163, 105172. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2025.105172>
- Ordoñez, R., Atarés, L., & Chiralt, A. (2023). Multilayer antimicrobial films based on starch and PLA with superficially incorporated ferulic or cinnamic acids for active food packaging purposes. *Food Chemistry Advances*, 2, 100250. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100250>
- Organización Mundial de la Salud. (2022). *Estimating the global burden of foodborne diseases*. OMS. <https://www.who.int/foodsafety>
- Patiño-Vidal, C., Luzi, F., Puglia, D., López-Carballo, G., Rojas, A., Galotto, M. J., & López de Dicastillo, C. (2023). Development of a sustainable and antibacterial food packaging material based in a biopolymeric multilayer system composed by polylactic acid, chitosan, cellulose nanocrystals and ethyl lauroyl arginate. *Food Packaging and Shelf Life*, 36, 101050. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101050>
- Patiño-Vidal, C., Velásquez, E., Galotto, M. J., & López de Dicastillo, C. (2021). Antimicrobial food packaging system based on ethyl lauroyl arginate-loaded core/shell electrospun structures by using hydrophilic and hydrophobic polymers. *Polymer Testing*, 93, 106937. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106937>
- Patiño Vidal, C., Tuapanta, C., Muñoz-Shugulí, C., Patiño Vidal, M., López-Polo, J., Guiver, M., & Galotto, M. J. (2026). Design of biodegradable and antimicrobial PLA-based films incorporating banana waste cellulose and LAE for active food packaging. *Journal of Plastic Film & Sheeting*. Publicación anticipada en línea. <https://doi.org/10.1177/87560879261419116>
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2021). *From pollution to solution: A global assessment of marine litter and plastic pollution*. PNUMA. <https://www.unep.org>
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. (2023). *Turning off the tap: How the world can end plastic pollution*. PNUMA. <https://www.unep.org>
- Rodríguez-Rojas, A., & Rolff, J. (2022). Antimicrobial activity of cationic antimicrobial peptides against stationary phase bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1029084. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1029084>
- Shi, X., Cui, L., Xu, C., & Wu, S. (2025). Next-generation bioplastics for food packaging: Sustainable materials and applications. *Materials*, 18(12), 2919. <https://doi.org/10.3390/ma18122919>

- Singh, A., Ahuja, A., Madan, M., Singh, D., & Rastogi, V. K. (2024). Active packaging film of poly(lactic acid) incorporated with plant-based essential oils of *Trachyspermum ammi* as an antimicrobial agent and vanilla as an aroma corrector for waffles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278, 135086. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135086>
- Srisa, A., & Harnkarnsujarit, N. (2026). Active PLA thermoformed trays incorporating EDTA, ethyl maltol and ethyl lauroyl arginate: Synergistic antimicrobial and antioxidant packaging for refrigerated meat products. *Journal of Food Engineering*, 404, 112750. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2025.112750>
- Tuapanta Macas, C. C. (2025). *Desarrollo de un material de envase con propiedades antimicrobianas partiendo de residuos del plátano del mercado Mayorista del cantón Riobamba* [Trabajo de titulación, Universidad Nacional de Chimborazo]. Repositorio UNACH. <http://dspace.unach.edu.ec>
- Unión Europea. (2011). Reglamento (UE) N.º 10/2011 de la Comisión, de 14 de enero de 2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L12, 1–89.

ANEXOS

Figura A1

Elaboración del material



Figura A2

Reactivación de bacterias y preparación de material para los ensayos



Figura A3

Elaboración de las curvas de crecimiento.



Figura A4

Técnica de contacto dinámico.



Figura A5

Técnica difusión de discos.



Figura A6
Gráficos de Probabilidad Normal, Residuos, Predichos
Gráfico de Probabilidad Normal

