

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA



# ACI

## ALIMENTOS, CIENCIA E INGENIERÍA

[revista.fcial@uta.edu.ec](mailto:revista.fcial@uta.edu.ec)

VOLÚMEN 28 - 2

DICIEMBRE - 2021

ISSN: 1390-2130

# **ALIMENTOS**

## **CIENCIA E INGENIERÍA**

**Revista de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología**  
**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**Vol. 28-2 - 2021**

## EDITORIAL

Uno de los grandes retos que afronta la industria es ser competitiva e innovadora, la implementación de la tecnología ha permitido la creación de nuevos productos basados principalmente en conservar las materias primas su estado natural durante más tiempo, con el objetivo fundamental de contribuir a una mejor calidad de vida de la población. La industria requiere el desarrollo de productos innovadores para alcanzar una amplia gama de productos con el objetivo de obtener beneficios sociales, económicos y ambientales. Los avances científicos permiten crear productos con propiedades más saludables y nutricionales, de modo que los alimentos que consumimos mejoran drásticamente en aspecto, color y sabor.

La economía mundial está dirigiéndose hacia el desarrollo sostenible, lo que se va plasmando en nuevas y diversas aplicaciones en medicina, agricultura, alimentación, medio ambiente y también en nuevos descubrimientos científicos. La academia y la industria deben empezar el camino hacia el desarrollo integral de la población, la academia dentro de una de sus actividades debe realizar procesos investigativos cuyos productos finales beneficien a la sociedad y la industria realizar procesos productivos con responsabilidad social empresarial. En este número de la revista “Alimentos Ciencia e Ingeniería”, se reúnen expertos que comparten sus experiencias investigativas en las áreas de la ciencia de los alimentos y biotecnología. Enfocados en ampliar y enriquecer esta revista para fortalecer los vínculos entre la ciencia, tecnología y sociedad..

***Ing. Alex Valencia Silva***

*Subdecano de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.*

## TABLA DE CONTENIDO

---

### DESCRIPCIÓN

La revista ALIMENTOS CIENCIA E INGENIERÍA (ACI) es una publicación semestral de artículos técnicos de Tesis de Grado, Trabajos Estructurados de Manera Independiente, Trabajos de Investigación realizados en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (FCIAB) de la Universidad Técnica de Ambato (UTA), así como contribuciones de otras Universidades e Instituciones con las cuales la Facultad mantiene convenios de cooperación mediante el intercambio científico y cultural con el propósito de contribuir en la búsqueda de respuestas adecuadas a las necesidades teórico-prácticas en materia de investigación, creación e innovación tecnológica.

### AUDIENCIA

---

La revista ACI cubre una amplia temática enmarcada en los ámbitos de la Ingeniería de Alimentos y la Biotecnología, especialmente en su aspecto aplicado, orientándose a una audiencia compuesta por científicos del área de la química, bioquímica, microbiología y tecnología alimentaria, así como relacionados con la nutrición, empendimiento e innovación.

### INDEXACIÓN

---

Latindex (en Catálogo desde Diciembre 2014)

### DIRECTORIO

---

**Dr. Galo Naranjo López,**

Rector, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

**Dra. Mary Elizabeth Cruz Lascano,**

Vicerrectora Académica, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

**Dra. Elsa de los Ángeles Hernández Chérrez,**

Vicerrectora de Investigación, Innovación y Vinculación, Universidad Técnica de Ambato(Ecuador)

**Ing. Edison Fernando Viera Alulema,**

Vicerrector Administrativo, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

**Dra. Mirari Yosune Arancibia Soria,**

Decana FCIAB, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

**Ing. Alex Fabián Valencia Silva,**

Subdecano FCIAB, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

**Dra. Lizette Elena Leiva Suero,**

Directora DIDE, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

### COMITÉ EDITORIAL

---

#### Editor

Dr. Christian Franco Crespo, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

#### Revisores estilo

Dr. Esteban Fuentes Pérez, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

Dr. Irvin Tubón Usca, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

---

**Revisores internos**

---

Dra. Liliana Cerda Mejía, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)  
Dr. William Calero Cáceres, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)  
Dr. Mario García Solís, Universidad Técnica de Ambato (Ecuador)

---

**Revisores Externos**

---

Dra. María Fernanda la Torre Barragán, UNIANDES (Ecuador)  
Dr. Alberto Alejandro Aguirre Bravo, Universidad SEK (Ecuador)  
Dra. Verónica Alejandra García Ibarra, Universidad Santiago de Compostela (España)

---

**ISSN**

---

1390-2180 (Edición impresa)  
2737-6338 (Edición electrónica)

---

**TIRAJE**

---

50 ejemplares impresos en papel

---

**PERIODICIDAD**

---

Semestral (dos números al año)

---

**AÑO DE INICIO DE PUBLICACIÓN**

---

1992 (34 Volúmenes editados hasta la fecha)

---

**REVISTA ELECTRÓNICA**

---

Accesible a través de:

- Sitio web FCIAL: [http://fcial.uta.edu.ec/fcial3/index.htm#xl\\_xr\\_page\\_revistaaci](http://fcial.uta.edu.ec/fcial3/index.htm#xl_xr_page_revistaaci)
- Plataforma OJS: <http://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/aci/index>

---

**CONVOCATORIA PRÓXIMOS NÚMEROS**

---

Fechas límite (deadlines) para entrega de manuscritos:

- Para publicación en JUNIO 2022:  
Recepción de manuscritos hasta: 30 Abril 2022
- Para publicación en DICIEMBRE 2022:  
Recepción de manuscritos hasta: 15 OCTUBRE 2022.

---

**Dirección postal:**

---

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato, Av. Los Chasquis y Río Payamino, casilla 18-01-0334, Ambato (Ecuador).

Dirección electrónica (Editor): [revista.fcial@uta.edu.ec](mailto:revista.fcial@uta.edu.ec)

Teléfono: +593 (03) 2400 987 Ext. 103.

## **CONTENIDOS**

<b>Desarrollo tecnológico de un destilado de agave adicionado con arándano y manzana como mezcladores.....</b>	<b>7</b>
<b>Elaboración de películas biodegradables con policaprolactona y almidón-celulosa de la cáscara de plátano verde (musa paradisíaca).....</b>	<b>20</b>
<b>Lepidópteroscomestibles: pasado, presente y futuro.....</b>	<b>36</b>
<b>Perfiles aromáticos de aceites esenciales de cuatro variedades de albahaca en taiwán y estudio preliminar de su sensación aromaterapéutica.....</b>	<b>47</b>
<b>Efecto de la temperatura en la cristalización de películas de perovskita-<math>\text{ch}_3\text{nh}_3\text{pbi}_3\text{-xcl}_x</math>.....</b>	<b>65</b>

**Desarrollo tecnológico de un destilado de agave adicionado con arándano y manzana como mezcladores**

**Technological development of an agave distillate added with blueberry and apple as mixers**

María Fernanda Ruiz<sup>1</sup>; Carla Patricia Plazola<sup>2</sup>; Mario Márquez<sup>3</sup>; Gabriela Pineda<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, C.P. 07738 Ciudad de México, México.

\*Autor para correspondencia: 5574599272; e-mail: gpinedac@ipn.mx

Recibido: 30 de octubre de 2021

Aceptado: 03 de enero de 2022

**Resumen**

El tequila es la bebida “representativa de México por excelencia”, proveniente del Agave tequilana Weber variedad Azul. ¿Es benéfico para la salud el uso de mezcladores naturales en una bebida? El agave es la materia prima principal utilizada en este proyecto, el objetivo primordial fue el desarrollo de un destilado de agave, adicionado con frutos de arándano y manzana para degustar la bebida sin el uso de mezcladores comunes ofreciendo al consumidor una bebida agradable al paladar. El producto obtenido fue un destilado de agave adicionado con ambos frutos macerados. La levadura utilizada fue de panificación fresca a pH 4.7. Las condiciones de cocción fueron 15 psi, 121 °C durante 8 h en un autoclave. La molienda se realizó en un molino mecánico obteniendo un rendimiento del 30%. La fermentación se llevó a cabo en recipientes de plástico. Al término de las destilaciones se adicionó agua y los frutos macerados hasta una concentración final de 35°GL que es lo establecido por la NOM-006-SCFI-2012. El costo por litro del producto final fue de \$326.00 MX, se considera este producto como una alternativa en la disminución de la cantidad de azúcares y por ende benéfico en la salud del ser humano.

**Palabras clave:** tequila, frutos, destilación, fermentación, bebida.



## **Abstract**

Tequila is a “representative of Mexico par excellence” drink, coming from the Agave tequilana Weber variety Azul. ¿Is the use of natural mixers in a drink beneficial for health? Agave is the main raw material used in this project, the main objective was the development of an agave distillate, added with blueberry and apple fruits to taste the drink without the use of common mixers, offering the consumer a pleasant drink on the palate. The product obtained was an agave distillate added with both macerated fruits. The yeast used was fresh baking at pH 4.7. Cooking conditions were 15 psi, 121°C for 8 h in an autoclave. The grinding was carried out in a mechanical mill obtaining a yield of 30%. Fermentation was carried out in plastic containers. At the end of the distillations, water and the macerated fruits were added to a final concentration of 35°GL, which is established by NOM-006-SCFI-2012. The cost per liter of the final product was \$ 326.00 MX, this product is considered as an alternative in reducing the amount of sugars and therefore beneficial to human health.

**Keywords:** tequila, fruits, distillation, fermentation, drink.



## 1. INTRODUCTION

Tequila (Mexican product) is obtained from the fermented of sugars and the distillation of Agave juice (Agave tequilana Weber blue variety) [16]. Agave tequilana Weber is a xerophilous plant with blue-greenish, thin, and almost flat leaves; it is approximately 125 cm long and 10 cm wide and has a 2 cm dark red terminal spine [18]. To be called Tequila, this beverage must be produced in a specific area well established, when it is not produced in that territory, the beverage is not considered as Tequila.

Since 1619 there is a history of small wineries in Western Mexico, where the tradition of making agave distillates arises [7]. In particular “mezcal de tequila” quickly gained a reputation as it emerged in a period marked by capital investments and the prosperous growth of the local industry. Thus, at the end of the XIX century the mezcal of the area was already called by the inhabitants and visitors as “tequila” [14, 15]. Currently, tequila can be consumed mixed with high sugar beverages known as mixers, increasing the sugar consumption, which can lead to health issues as overweight and obesity. These health problems are some of the most important widely, being the fifth risk factor into the death causes. It has been reported that two-thirds of the world’s population lives in places where obesity is related to other diseases that cause death, and it has been reported that 44% of mortality from diabetes is associated with obesity, 23% with ischemic heart disease, while 41% is related to different types of cancer [33].

Fruits juices have 70 – 95% of humidity, sugars, vitamins, and some

enzymes, the recent interest in fruit juices consumption derives from the high content of natural vegetables antioxidants [4]. Recently, red fruits and berries are consumed due to their high content of polyphenols compounds, mainly flavonoids which show antioxidant properties, and are capable of prevent some degenerative diseases incidence [24].

In the present work, two fruits were used, Cranberry and Red Delicious Apple. Cranberry is a fruit that is widely recognized for its potential health benefits, the protective effect is largely associated with the antioxidant capacity of different photo chemicals capable of preventing or slowing down the oxidative processes involved in numerous pathologies [1]. Chihuahua is the main apple (*Malus domestica* Borkh) producer in Mexico, with 70% of the national production, the two varieties most produced are “Golden Delicious” and “Red Delicious”, with 54 and 37% respectively. Apple quality characteristics includes sensory attributes as size, color, freshness, taste, and texture [29].

The aim of the present work was the development of a pilot plant level technology to obtain an agave distillate incorporated with blueberry and apple juice to reduce the use of mixers.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1. Plant material

Agave tequilana Weber var. Azul Agave hearts were purchased with producers from El Arenal, Jalisco and transferred to the Research Laboratory I and to the Pilot Plant of Fruits and Vegetables both at the National School of Biological Sciences of the National Polytechnic Institute. Agave distillate

was obtained from three Agave tequilana Weber var. Azul hearts with average weight of 11.66 kg.

Red Delicious apple and blueberry (*Vaccinium macrocarpon*).

## 2.2. Chemical reagents

Fresh yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), distilled water, HCl concentrated, Fehling A ( $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) and Fehling B ( $\text{NaOH}$  y  $\text{KNaC}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ),  $\text{NaOH}$  1N, blue methylene, phenolphthalein,  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

## 2.3. pH and acidity determination

Both were measured using a digital pH meter (OAKTON, Acorn model, Series pH 6), according with the AOAC (1996) method [2].

## 2.4. Soluble solids determination

Was measured with a digital refractometer (HI 96801, Hanna Instruments) calibrated with water before each measure according with NMX-F-527-1992 [9].

## 2.5 Reducing sugars determination

Reducing sugars were measure following the Fehling method according with NMX-F-495-SCFI-2012 [10].

## 2.6 Alcoholometer method (% Alc. Vol.).

Breathalyzer method. This measurement is since the density (or specific weight) of a hydroalcoholic solution decreases inversely proportional to the amount of alcohol it contains [10].

## 2.7 Agave pineapple cooking

Cooking was carried out in an autoclave (POLINOX S.A.) at a pressure of 15 psi (lb/in<sup>2</sup>) and 121 °C of temperature during 8 h.

## 2.8 Agave pineapple grind

The agave hearts were milling in a mechanical roller mill, collecting the must obtained for its subsequent fermentation and the fiber and skin obtained was discarded [11].

## 2.9 Fermentation

The wort obtain after milling was adjusted to a pH between 4.5–5. Some nutrients as  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , and  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  were added to unbalance the medium. Two grams of fresh yeast were added to 1 L of wort, sterile aeration was maintained for 1 h. After this time this wort with yeast was mixed with the rest of the wort. A kinetic fermentation was performed taking samples every 24 h for 7 days, samples were taking by triplicate and kept refrigerated.

## 2.10 Distillation

A double distillation was carried out on the volume obtained in the fermentation stage. The distillation process was carried out in two stages. The first distillation is called destruction, which is done at 45 or 50% alcohol, in this first stage a part of the condensate (heads) was removed, and the second distillation is called rectification, which is done at 75% alcohol. According to NOM006SCF2012, the sample it should not contain less than 35% alcohol by volume [10].

## 2.11 Juice extraction method

Apple and blueberry were scalded before the juice extraction. The juice was obtained with a juice extractor, juice was sieved through 2 mm mesh and after through 1 mm mesh to eliminate pulp residues. Soluble solids were quantified as mentioned in section 2.4 [23].

## 2.12 Sensory evaluation

Three formulations of distilled from

agave added with blueberry and apple juice were prepared. Sensory evaluation test was designed to evaluate consumer acceptance to select the sample with highest acceptance. The evaluated sensory characteristics were color, smell, flavor, and consistency. To this purpose hedonic scale of five points was used, each point in the hedonic scale had a numerical value as follow: 2 = Like very much, 1= Like moderately, 0= neither like or dislike, -1= Dislike moderately, and -2= Dislike very much. The sensory evaluation was performed with 32 untrained judges. Samples were presented to un-trained judges in aleatory order, each sample was codified with 3 aleatoric numbers [22].

### 2.13 Statistical analysis

All the results were expressed as the mean values of three replicates  $\pm$  the standard deviation. The analysis of the results among samples were analyzed with an ANOVA test, significant differences were determined at 95% confidence. Sigma Plot V.12 software to this purpose was used.

## 3. RESULTS Y DISCUSSION

### 3.1 Agave hearts cooking

At this stage it is very important to control the variables of temperature and acidity. If the temperature is lower than necessary, consequently, inulin is not degraded and therefore ethanol is not produced. At high temperatures Maillard reactions or caramelization can occur, lowering the reducing sugars concentration, inducing formation of degradation compounds such as enols, furfural, and hydroxymethylfurfural, which can affect the fermentation efficiency. During cooking, in addition to hydrolyzing the inulin, some sugars are caramelized, and compounds that contribute to the characteristic tequila

aroma and flavor are developed [34].

The agave process was made in triplicate, the average weight of the agave hearts before cooking was 11.66 kg. Few works report the dimensions and weights of the Agave tequilana Weber; however, these characteristics allowed us to compare, corroborate or contrast differences or similarities [30]. The agave hearts cooking was carried out as it mentioned in section 2.7. Cooking is a critical step in the tequila production process because, in addition to carrying out the hydrolysis of the inulin present in the agave, a series of chemical reactions is carried out that give rise to the formation of a great variety of organoleptic compounds that influence in the aroma and taste of tequila [21]. Agave hearts contain an acidic juice, rich in carbohydrates, which through cooking becomes a juice with a high concentration of fermentable sugars. The residue that remains at the end is known as “bitter honey” and is used for farmland [19, 28].

Grinding is a critical point in the mezcal production process, due to its influence on the finished product yield [12]. Grinding is a complicated process due to grinding conditions and equipment must be selected according with material characteristics such as size, shape, hardness, moisture, fracture strength, compression strength, modulus of elasticity, and others [11]. The grinding of the cooked agave hearts was carried out with a mechanical roller mill. The juice obtained is called “wort”. The quantity of wort obtained was 3.5 kg, which corresponds to a yield of 30%.

### 3.2 Fermentation process standardization

The yeast used in a fermentation process is very relevant.

Yeast production has several products, such as yeast cells, cellular compounds, and the products of their metabolism. Yeast can carry out two chemorganotrophic metabolisms: respiration and fermentation. Under aerobic conditions yeast can grow using sugar producing biomass. However, under anaerobic conditions, fermentation process occurs, the yeasts produce less biomass and high quantities of alcohol and CO<sub>2</sub> [8].

Two different yeasts were used for fermentation standardization, lyophilized brewer yeast and fresh bakery yeast. For both yeasts, the same fermentation process conditions were used. The temperature was controlled at 25 °C during all the fermentation time. The fermentation process was standardized with a sucrose solution and after a solution of piconillo dissolved in water. Temperature during alcoholic fermentation needs to be the one that allows and adequate fermentation process, right development of the aromatic compounds, obtaining a product with the desired characteristics. Yeast growth optimal temperature is around 25 °C. Lower temperatures cause a slower fermentative process, due to a reduction of the viable yeast population [31]. The use of specific inoculum of *Saccharomyces* makes it possible to reduce the variations due to the development of uncontrolled indigenous populations and to ensure a good development of alcoholic fermentation [27].

In addition to temperature, pH is an important factor that needs to be controlled in alcoholic fermentation, because it allows the control of bacterial contamination as well as the effect on yeast growth, fermentation rate and alcohol formation. In different industries, specific

flavor compounds are produced through the fermentation process. Optimal pH values for bioprocess are between the range of 4 to 5. At this pH value it is possible to obtain optimal yeast development. The pH value for the growth medium of lyophilized and fresh yeasts was 4.75 and 4.87 respectively [5].

The fermentation time for both yeasts was 160 h, and the growth medium was prepared with the same nutrients at the same concentrations (ammonium sulfate (0.3 g L<sup>-1</sup>), dibasic ammonium phosphate (0.24 g L<sup>-1</sup>), magnesium sulfate heptahydrate (0.024 g L<sup>-1</sup>). In Figure 1, the Brix degrees obtained are shown as a function of time for both yeasts.

In Figure 1 it is possible to observe that during the fermentation time, the fresh bakery yeast initially consumes the substrate almost immediately, while the lyophilized brewer yeast does not significantly consume the substrate, even when the process parameters were adjusted and controlled all the time, this may be because the freeze-dried yeast was inactive and therefore the fermentation process was not carried out correctly. Therefore, the selected yeast to carry out the fermentation process at the established conditions was the bakery yeast.

### 3.3 Fermentation process

The material of the containers in which the fermentation is carried out plays an important role in the flavor of the mezcaval. In this work were used 5 L plastic containers for the wort fermentation.

During the fermentation process, the sugars are transformed into CO<sub>2</sub> and alcohol. This operation lasts from 2 to 7 days at a temperature of 25 to 30 °C and is concluded when the sugars have been spent.

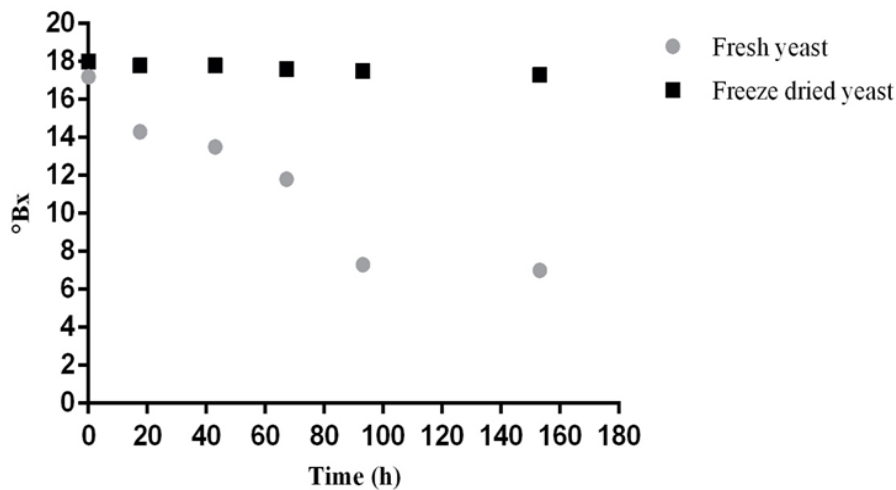


Figure 1. Behavior of soluble solids as a function of time of lyophilized brewer yeast and fresh bakery yeast.

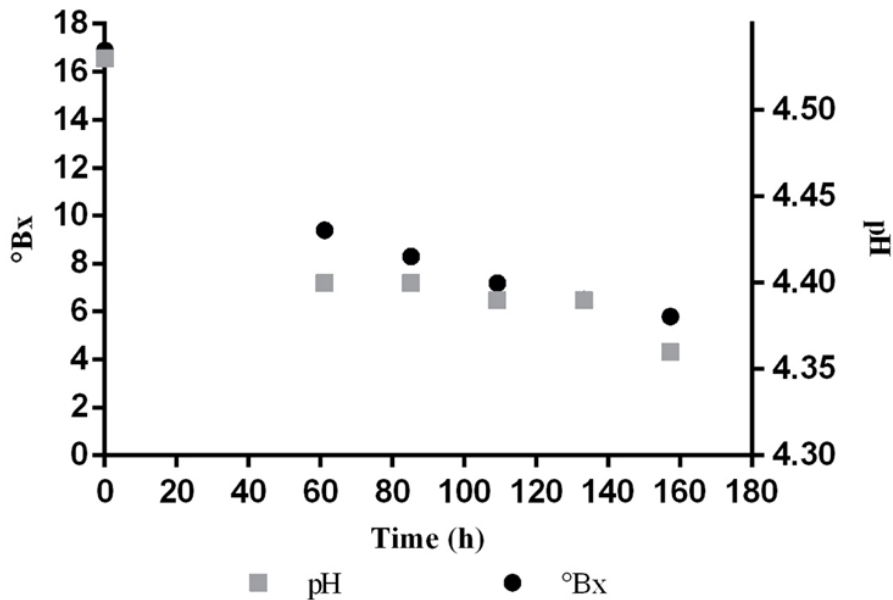


Figure 2. Soluble solids and pH behavior as a function of time

The Embden-Meyerhof pathway is the metabolic route used by the yeasts to the fermentation of sugars of agave syrup [5].

Figures 2 and 3 show that the sugar content in the medium (Brix degrees) and the pH decrease. The slight variation of pH prevents contamination of the medium as well as the development of undesirable metabolites in the process that affect the final characteristics

of the product. The yeast consumes the substrate and ethanol is produced; after 60 h the consumption of substrate begins to be slower. As ethanol concentration increase, the cellular concentration in the medium decreases. This behavior can be explained with the Crabtree effect.

According with Peña and Arango in 2009 [26], when *Saccharomyces cerevisiae* is under



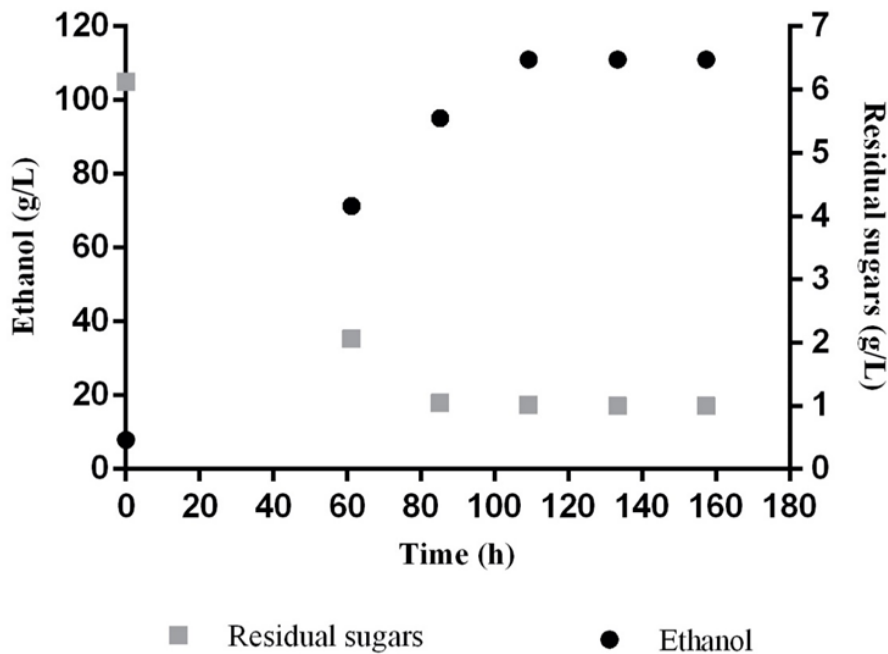


Figure 3. Residual sugar content and ethanol production as a function of time.

high dissolved oxygen concentration conditions and sugar concentration exceeds 0.16 g L<sup>-1</sup> or 9 g L<sup>-1</sup>, the yeast converts its oxidative metabolism to oxide reductive or fermentative one, increasing the production of ethanol. At the beginning of fermentation, strong alcoholic and sweet odors are perceived, which diminishes over time until they have a vinegary odor and a liquid with dark brown color. The end of fermentation is established at a point of equilibrium between the amount of produced yeast biomass, the sugar content, and the production of alcohol [19, 28]. After the fermentation process, the wort was left to rest to promote the generation of important aromatic compounds in the product.

### 3.4 Distillation

Tequila composition is very complex, several compounds have been reported as responsible for taste and aroma; these compounds include alcohols, fatty acids, esters,

aldehydes, terpenes, phenols, sulfur compounds, and others. Some of these compounds come directly from the agave and suffer chemical transformations during the different stages of the process. However, others are developed because of cooking, fermentation distillation, and maturation processes [20].

Distillation is the process by which ferments are separated in two groups by heat and steam pressure. The first groups are alcoholic richness products (tequila), and the second group is called vinasses or fermentation sludges which includes waste products as water and yeast. Distillation is carried out in copper or stainless-steel pot stills, or in continuous distillation towers [20]. In the present work, distillation process was carried out in distillation apparatus. After fermentation, the wort is distilled twice. The first distillation is known as smashing; during this distillation, 3480 g of wort were introduced into the rotary evaporator, of which a 10% cut of the

so-called heads (higher alcohols) was made, followed by obtaining the ordinary distillate (65%) and finally a cut of the 25% of vinasses (medium depleted in alcohol, dead yeasts, non-fermentable sugars, and minerals). In this distillation stage, an ordinary 14°GL distillate was obtained. The second distillation, known as rectification, was carried out by differential distillation to obtain a higher alcohol concentration. During this second distillation, 25% heads cut was made. Distillation was continued until reach 40-60% of alcohol volume. Then a 20% of tails cut was carried out. The final distillate contains 55°GL. After the addition of the fruit juices, the alcohol content was diluted to 35°GL, as is established by NOM-006-SCFI-2012 [10].

During the distillate agave process obtaining, the yields in each of its stages were calculated. From 3480 g of wort during the smashing distillation, 348 g of heads (10%), 2262 g of ordinary distillate (65%), and 870 g of vinasse (25%) were obtained. During the rectification stage, from 2262 g of ordinary distillate, 565.5 g of heads (25%), 1244 g of white distillate (55%), and 452.4 g of tails (20%) were obtained. According to the producers who provided the agave heart, 1 L of tequila is obtained by processing approximately 7 kg of agave. The theoretical yield from the agave heart used in this work showed that is possible to obtained 1.668 L of agave distillate. However, only 1,569 L of distillate was obtained, the difference was due to the losses during agave heart cooking and grinding. The agave distillate yield was 94.23%.

After the agave distillate was obtained, were developed formulations of agave distillate added with blueberry and apple juice.

The fruit juices were added, as replacers from mixers, due to the high sucrose content of mixers. Fruit juices are perceived by the population and health professionals as healthier beverages because they come from natural sources. Also, the adding of these juices gave the agave distillate special organoleptic characteristics derived from the added fruits [17].

### 3.5 Formulations of agave distillate added with fruit juices

A percentage of the weight of blueberry and apple was lost during the scalding process. This loss was less in apple than in the blueberry, probably due to the higher water content present in the apple. Different formulations of agave distillate added with fruit juices were developed, also was developed a formulation contained agave distillate and macerated fruits. The following formulations were proposed: Formulation 1: 20 mL of blueberry juice and 20 mL of apple juice; Formulation 2: 30 mL of blueberry juice and 20 mL of apple juice; Formulation 3: 20 g of macerated blueberry and 20 g of macerated apple. Each formulation was added with 100 mL of agave distillate.

### 3.6 Sensory evaluation

Sensory evaluation measures and quantified products or ingredients characteristics, which can be perceived by the human senses, using their organs and their integrative capacity [25]. The persons who carried out the evaluation are called judges [13]. In this study, consumer judges were used; the person who participates as a consumer must be, precisely, a consumer of the product under study. Judges must communicate to the researcher his point of view about his acceptance or rejection, the order of his



preference when confronting several samples, and the level of satisfaction of the samples presented to them [25]. The judges evaluated the following characteristics: color, aroma, flavor, and consistency. The results obtained for each evaluated and weighted attribute for each of the three formulations are shown in Table 1

As it can see in Table 1, there is no significant difference between the attributes of Formulations 2 and 3 as aroma, flavor, and consistency. To the color attribute, the judges indicate that reddish is an unusual color of distillate products. However, 50% of the total judges liked the color of formulation 3, obtaining a significant

Attribute	Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3
Color	28 <sup>b</sup>	28 <sup>b</sup>	36 <sup>a</sup>
Aroma	44 <sup>b</sup>	34 <sup>a</sup>	34 <sup>a</sup>
Flavor	18 <sup>b</sup>	22 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>
Consistence	-12 <sup>b</sup>	24 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>
Weighted	78 <sup>c</sup>	108 <sup>b</sup>	116 <sup>a</sup>
n=32, different letters in the same row indicates significant difference (p≤ 0.05) by Tukey's test			

Table 1. Sensory evaluation results to the different formulations.

difference with formulations 1 and 2. For formulation 3, the judges indicates that the presence of fruit solids is not an attractive characteristic. Formulation 3 of agave distillate with macerated blueberry and apple, obtained the highest value of the weighted, being perceived as the most accepted among the judges.

### 3.6 Costs projection

In this analysis only variable costs were considered, which refer to: raw material and packaging material, these costs are a function of the production volume. The costs of each of the raw materials were according to the supplier. The cost to produce 1 L of agave distillate with blueberry and apple juice is \$326.00 MX, it is observed that this cost is like agave distilled commercial drinks. The elimination of commonly used mixers presents a remarkable advantage from

the point of view of human health.

## 4. CONCLUSION

A distillate of agave added with macerated blueberry and apple was obtained, as well as the biotechnological development at the Pilot Plant level. The developed product in this work is considered agave distillate, although it was developed with the raw material and with parameters established by NOM-006-SCFI-2012, it is not considered Tequila because it was not made within the territory established by the statement.

The Agave distillate developed comes from musts of vegetable origin, the water used to make this product was for human consumption to comply with regulations. The product contains 12 Bx, this value is like commercial products (mixers), however; the additional benefits is the qualities offered by

cranberry and apple macerates due to their antioxidant capacity as well as the contribution of vitamins, minerals, and enzymes. For this reason, the Agave distillate with notes of blueberry and apple developed presents a consumption alternative for the elimination of mixers and provides additional benefits.

## 5. ACKNOWLEDGMENTS

The author Gabriela Pineda Camacho is grateful to IPN for financial support provided through COFAA and EDD programs. The author Mario Márquez Lemus is grateful also for the EDD grant of IPN. The authors appreciate and thank the support of Escuela Nacional de Ciencias Biológicas of the Instituto Politécnico Nacional, for the facilities provided to carry out this project. We would like to thank Carla Patricia Plazola Jacinto and Andrea Aguilar Arce for the translation into English.

## Referencias bibliográficas

- Arteaga, A. y Arteaga, H. (2016). Optimización de la capacidad antioxidante, contenido de antocianinas y capacidad de rehidratación en polvo de arándano (*Vaccinium corymbosum*) microencapsulado con mezclas de hidrocoloides. *Scientia Agropecuaria*, 7, 191-200. DOI: 10.17268/sci.agropecu.2016.03.05
- Association of Official Analytical Chemist, (2019). *Official Methods of Analysis*, 21st ed. AOAC International, Washington DC
- Avello, M., y Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismo de protección. *Revista Atenea* 494, 161-172. DOI: 10.4067/S0718-04622006000200010
- Ávila, R., y Bullón, J. (2013). La concentración de jugos de fruta: aspectos básicos de los procesos sin y con membrana. *Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V.* 28(3), 65-76
- Bautista, M., García, L., Barboza, J.E. y Parra, L.A. (2001). El agave tequilana Weber y laproducción de tequila. *Acta Universitaria* 11(2), 26-34.
- Beltran, G., Torija, M.J., Novo, M., Ferrer, N., Poblet, M., Guillamón, J.M., Rozès, N. and Mas, A. (2002). Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation: a six-year follow-up study. *Systematic and Applied Microbiology* 25(2), 287-293.
- Camelo, J.O. y Rodríguez, J.J. (2018). "Why Tequila is Named Tequila? An approach from the Regional Economic History". *ECORFAN Journal-México* 9(20): 15-28.
- Curia, M., D'Alessandro, O. y Briand, L. (2010). La Enseñanza de Conceptos en Biotecnología a través de un Experimento Sencillo y Económico. *Formación Universitaria* 3(1), 27-30. DOI: 10.4067/S0718-50062010000100005
- Dirección General de Normas. NMX-F-527-1992. Alimentos. Determinación de sólidos totales, sólidos disueltos y sólidos en suspensión en agua. *Foods. Determination of total residue, filtrable residues and suspended matter in water. Normas mexicanas.* Dirección General de Normas. <http://www.colpos.mx/bancodenomas/mexicanas/NMX-F-527-1992.PDF>
- Dirección General de Normas. NOM-006-SCFI-2012, Bebidas alcohólicas-Tequila. *Diario Oficial de la Federación*, Ciudad de México, México, 13 de diciembre 2012. [http://www.diariooficial.gvamundial.com.mx/historico/2012/Diciembre/seccol3\\_1.pdf](http://www.diariooficial.gvamundial.com.mx/historico/2012/Diciembre/seccol3_1.pdf). Accedid: Enero 7, 2021.
- Durán M., y Pulido L. (2007). Análisis de la Molienda en el Proceso de Elaboración de Mezcal. *Información Tecnológica*. Vol 18(1):47-52. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7308282>
- Duran G., Rossel D. y Aguirre J. (2002). Procesos de cocción en las mezcaleras potosinas. En: *Memoria del XII Congreso Nacional de Ingeniería Agrícola y II Foro de la Agroindustria del Mezcal.* Oaxaca. México.

- <https://es.slideshare.net/GUSTAVOCURIELAVILES/nalisis-y-propuesta-de-molino-para-palenes> Accessed: Diciembre 4, 2020.
- Espinoza, M. (2007). Evaluación sensorial de los alimentos. Universidad de la Habana Cuba. Editorial Universitaria. <https://idoc.pub/documents/2007espinoza-evaluacinsensorial-gen5omex05lo> Accessed: Enero 15, 2021.
- Gaytan, M.S. (2014). "The transformation of Tequila: from Hangover to High-brow". *Journal of Consumer Culture*. 17(1): 62-84.
- Gómez I. (2018). El paisaje agavero y las antiguas instalaciones industriales de Tequila, México. México, D.F., Instituto Nacional de Antropología e Historia.
- Gómez-Cuevas, K., Delgado-Cruz, A., y Palmas-Castrejón, Y. D. (2020). Origenidad del tequila como símbolo de identidad mexicana. Percepción del turista-consumidor a partir de su exportación. *RIVAR (Santiago)*, 7(21), 59-80. DOI: 10.35588/rivar.v7i21.4638
- Gill, J.M.R. y Sattar, N. (2014). Fruit juice: just another sugary drink?. *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 2(6), 444-446. DOI: 10.1016/S2213-8587(14)70013-0
- Granados, S.D. (1993). Los Agaves en México. Universidad Autónoma de Chapin-go. México pp. 102, 108, 112 y 113.
- Guzmán, P.M. (1997). Aguardientes de México: Tequila, Mezcal, Charanda, Ba-canora, Sotol. *Bebidas Mexicanas* 6(4), 37-40.
- Juárez, R. del C. (2007). El tequila: una bebida emblemática. *Hospitalidad ESDAI* 11, 135-154.
- Larsson, S., Palmquist, E., Hahn-Hagerdal, B., Tengborg, C., Stenberg, K., Zacchi, G. y Nivelbrant, N.O. (1999). The generation of fermentation inhibitors during dilute acid of softwood. *Enzym. Microb. Technol.* 24, 151-159. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(98\)00101-x](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(98)00101-x)
- Lesschaeve, I. (2007). Sensory evaluation of wine and commercial realities: Review of current practices and perspectives. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58, 252-258.
- Márquez, M., Valadez, L., García, J.C., Ortiz, A., Vázquez, A., Alamilla, L. y Mora, R. (2019). Assessment of the variation of the volatile compound composition and antioxidant activity in *Opuntia* fruits liquors during the maceration process. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 501-508, DOI: 10.1080/19476337.2019.1595158
- Nohynek, L., Alakomi, H., Kahkonen, M., Heinonen, M., Helander, I., Oksman, K., y Puupponen, R. (2009). Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and Cancer* 54, 18-32. [https://doi.org/10.1207/s15327914nc5401\\_4](https://doi.org/10.1207/s15327914nc5401_4)
- Pedrero, D.L. y Pangborn, R.M. (1989). Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos. Alambra Mexicana.
- Peña, C., y Arango, R. (2009). Evaluación de la producción de etanol utilizando cepas recombinantes de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de melaza de caña de azúcar. *Dina* 159. Accessed: Enero 8, 2021. <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v76n159/a16v76n159.pdf>. Accessed: Marzo 15, 2021.
- Raynal, C., Wardrop, F., Oillet, O., Languet, P., Heras, J., Dumont, A. y Ortiz-Julien, A. (2011). Fermentación controlada mediante la inoculación secuencial de una levadura no - *Saccharomyces* y de una levadura *Saccharomyces cerevisiae*, una herramienta innovadora para el enólogo. *Revista de tecnología e higiene de los alimentos* 428, 83-92.
- Rico, F. (1995). El Tequila, una Bebida Mexicana de Fama Internacional. *Bebidas Mexicanas* 8(1) 15-20.
- Salas, S., Molina, C., Berlanga, R., Romo, Ch., Olivas. (2011). La fecha de cosecha y la síntesis de compuestos volátiles en frutos almacenados de manzanos "Golden delicious" y "Red delicious". *Rev. Fitotec. Mex.* 34(4), 257-267.
- Saldaña, M., Serwatwoski, J., Saldaña, N., Gutierrez, C., Cabrera, M. y García, S. (2012). Determinación de algunas propiedades físicas de Agave tequilana Weber para mecanizar la

- cosecha. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 3(3).
- Santamaría, M., López, M., Gutiérrez, V. y García-Escudero, D. (1995). Influencia de la temperatura en la fermentación alcohólica. Universidad de La Rioja. ZU-BIA Monográfico 7, 137-149. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=110328>
- Schroeter, H., Heiss, C., Balzer, J., Kleinbongard, P., Keen, C., Hollenberg, N., Sies, H., Kwk-Urbe, C. Schmitz, H. y Klem, M. (2006). Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol rich cocoa on vascular function in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(4), 1024-1029. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510168103>
- Shaman L., Amaya C., Cuevas N. (2015). Desnutrición y obesidad: doble carga en México. *Revista Digital Universitaria* 16 (5).
- Téllez, P. (1998). El cocimiento, una Etapa Importante en la Producción del Tequila. *Bebidas Mexicanas* 7(1), 19-20.
- Vázquez, J. y Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ing. inv. y tecnol. (online)* 8(4), 249-259.

**Elaboración de películas biodegradables con policaprolactona y almidón-celulosa de la cáscara de plátano verde (*Musa paradisiaca*).**

**Elaboration of biodegradable films with polycaprolactone and starch-cellulose of the green banana peel (*Musa paradisiaca*).**

Fátima Gómez Sierra<sup>\*</sup>, Augusta Jiménez-Sánchez<sup>\*</sup>.

Universidad de Guayaquil, 090514, Guayaquil, Ecuador,

<sup>\*</sup> email: fatima.gomezs@ug.edu.ec

Recibido: 31 de octubre de 2021

Aceptado: 02 de enero de 2022

**Resumen**

El presente trabajo buscó elaborar películas biodegradables con policaprolactona y almidón-celulosa de la cáscara de plátano verde (*Musa paradisiaca*) como posible alternativa para la sustitución de fundas plásticas. Para esto, se extrajo el almidón-celulosa mediante hidrólisis básica. Se usó una fórmula base para las películas de almidón-celulosa y se plantearon 12 formulaciones en las que se modificó la cantidad de glicerina y policaprolactona. Las películas se caracterizaron en sus propiedades físicas, mecánicas, ópticas, funcional y biodegradabilidad. Las películas presentaron diferentes resultados. Las formulaciones 1, 5 y 9 presentaron diferencias significativas en la solubilidad, pero no en la opacidad y absorción de agua; la tensión y permeabilidad dependen del tipo de formulación. Se proyecta una degradación en un máximo de 30 días. Se concluye que las películas con mayor cantidad de PCL presentan una mejora en las propiedades mecánicas, funcionales, físicas y biodegradables y presentan una biodegradabilidad superior en comparación a los plásticos convencionales.

**Palabras clave:** películas biodegradables, almidón-celulosa, PCL, caracterización.

## **Abstract**

The present paper sought to produce biodegradable films with polyaprolactone and starch-cellulose from the green banana shell (*Musa paradisiaca*) as a possible alternative for the replacement of plastic sleeves. For this purpose, starch-cellulose was extracted by basic hydrolysis. A base formula was used for starch-cellulose films and 12 formulations were proposed modifying the amount of glycerin and polyaprolactone. The films were characterized in their physical, mechanical, optical, functional and biodegradable properties. The films presented different results. Formulations 1, 5 and 9 showed significant differences in solubility, but not in water opacity and absorption; tension and permeability depend on the type of formulation. Degradation is projected to be up to 30 days. It is concluded that films with the highest quantity of PCL have an improvement in mechanical, functional, physical and biodegradable properties and have superior biodegradability compared to conventional plastics.

**Keywords:** biodegradable films, starch-cellulose, PCL, characterization.



## **1. Introducción**

Ecuador es considerado uno de los mayores países exportadores de plátano verde a nivel mundial, liderando con un 29 % lo que a su vez produce un residuo que fluctúa entre el 8 % a 20 %. La mayoría de estos residuos lignocelulósicos originados por este fruto son en ciertos casos, destinados como alimento para animales; en otras ocasiones son arrojados a vertederos a cielo abierto generando gases que contribuyen al tal nombrado efecto invernadero [1].

La policaprolactona o PCL es un polímero que se adquiere de fuentes petroquímicas con propiedades atractivas como su biodegradabilidad, resultando ventajoso al combinarlo con fibras naturales [2]. Entre las tantas aplicaciones del PCL es conocido por formar parte en la composición de bolsas plásticas biodegradables y en el campo biomédico por intervenir como matriz en liberación de medicinas; el origen de su degradabilidad está dado por el grupo éster, que al ser apto para hidrolizarse y transformarse en oligómeros de bajo peso promoviendo su fácil biodegradación [3]. Cabe destacar que entre las propiedades del PCL se encuentra su temperatura de transición vítrea ( $-60^{\circ}\text{C}$ ), su cristalinidad ( $50^{\circ}\text{C}$ ), fácil miscibilidad y su punto bajo de fusión ( $60^{\circ}\text{C}$ ) que al combinarse con otros polímeros degradables tiene como finalidad mejorar sus propiedades [2].

Actualmente es innovador el uso de biopolímeros con PCL por ser considerado alifático, sintético y biodegradable [4] teniendo afinidad con formulaciones de almidón-celulosa mejorando así sus propiedades físicas, mecánicas, funcionales, biodegradables y que adicionando sustancias con cualidades

antimicrobianas y antioxidativas, dan lugar a la elaboración de recubrimientos comestibles o películas biodegradables proyectando suplir a los polímeros sintéticos para una mejora continua en la industria alimenticia [5].

Tomando en cuenta lo expuesto, en este trabajo se busca elaborar películas biodegradables con PCL y almidón-celulosa de la cáscara de plátano verde a través de la evaluación de 12 formulaciones con PCL y glicerina. y evaluar cómo influyen estos cambios en el biopolímero. Adicional, se realizarán pruebas físicas, mecánicas, ópticas, funcionales y biodegradables a escala de laboratorio.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. Ubicación**

Los plátanos verdes (*Musa paradisiaca*) se adquirieron en un mercado al sur-oeste de la ciudad de Guayaquil; el PCL fue adquirido por la empresa Perstorp Holding AB UK Limited de Inglaterra. La gran mayoría de los análisis se realizaron en la Universidad de Guayaquil- Ecuador en el Laboratorio de Química Analítica en la Facultad de Ingeniería Química. El análisis FTIR en la Escuela Superior Politécnica del Litoral y las pruebas de tensión se realizaron en el Centro de Fomento Productivo Metalmecánico Carrocero en la ciudad de Ambato. Adicional a esto, se estableció un diseño de experimentación factorial de dos factores entre la glicerina y el PCL de 3 y 4 niveles respectivamente. Para esto, se usó el software estadístico Minitab Inc 2016 y se expusieron los criterios de respuesta para las pruebas físicas (espesor y solubilidad), mecánicas (permeabilidad y fuerza de tracción), ópticas (FTIR y opacidad), biodegradable (pérdida de peso) y funcionales (absorción



de agua y prueba de la gota de agua).

## **2.2. Elaboración de la película a base de almidón-celulosa**

### **2.2.1. Procedimiento para la extracción del almidón-celulosa de la cáscara de plátano verde**

El almidón-celulosa se obtuvo a través del método de Jiménez y col [11] mediante hidrólisis alcalina. Los plátanos (*Musa paradisiaca*) se lavaron con una salvauñas para cocina y 200 mL de jabón líquido neutro. Posterior se pesaron en una balanza digital CAMRY modelo EI-02H/EI-02HS y cortaron en tres partes quitando los extremos denominados pedúnculos. Las cáscaras de la fruta se separaron y molieron (molino Corona). La masa obtenida se sumergió en una solución de NaOH al 5% en una relación (m/v) 1 a 1 durante 24 h para la extracción de la lignina. Luego se lavó y separó con un lienzo el almidón-celulosa y seguidamente esta masa se blanqueó con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 2% durante 48 h. Se lavó con abundante agua eliminando por completo los residuos de NaClO. Para finalizar el procedimiento, la masa blanca se filtró, pesó, licuó, secó (a 35°C), envasó en un recipiente herméticamente cerrado y almacenó en un lugar fresco y seco hasta su uso.

### **2.2.2. Determinación de las formulaciones para la película biodegradable.**

Las formulaciones se establecieron de acuerdo con la Tabla 1. Cada una de estas se repitieron 6 veces, mientras que para los análisis, por triplicado.

### **2.2.3. Procedimiento para la elaboración de la película biodegradable (Método de moldeo) con recubrimiento de PCL**

La película se elaboró a través del método de moldeo, se consideraron diferentes aportes de autores como Jiménez y col., Contreras y col., Navarro, Averous y col., Anchundia y col., Collazo y col. [11-16]. Para ello, se pesó el almidón-celulosa y la glicerina en las proporciones indicadas. Se añadió agua y mezcló con un agitador magnético durante 4 min a una temperatura de  $\pm 70$  °C y 300 rpm. Posterior, se enfrió a  $\pm 40$  °C, se añadió glicerina y la mezcla se emulsionó con un agitador vertical durante 1 min y se trasladó en cajas Petri plásticas (1,5 cm x 8,5 cm). Estas se colocaron en una estufa de aire forzado a 50 °C durante 7 h. Después, se desmoldaron las películas y almacenaron en un desecador durante 72 h para estabilizarlas.

El recubrimiento de las películas consistió en la disolución y adición del PCL sobre las películas de almidón-celulosa. Para ello, según la formulación indicada en la Tabla 1, en un Erlenmeyer con tapón de vidrio se disolvió manualmente la PCL con cloroformo, esta disolución se vertió homogéneamente sobre la película de almidón-celulosa colocada en una caja Petri de vidrio (1,5 cm x 8,5 cm); se secó a temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C) durante 48 h, se desmoldó y almacenó en un desecador con sílica gel para estabilizarlas durante 72 h.

### **2.2.4. Pruebas físicas**

#### **Espesor**

La medición se realizó con un micrómetro digital marca Mitutoyo modelo TPM-H-2781 un total de 10 veces entre superficies lisas y rugosas, a continuación calcular un promedio entre las mismas [11].

#### **Solubilidad**

Empleando un agitador magnético se añadió 80 mL de agua en un vaso de precipitación y se colocó el film en dimensiones de 2 cm x 2 cm previamente pesados a 100 rpm durante 1 h. Posterior, se filtró en un tamiz N° 200 y el residuo se secó en una estufa a 60 °C durante 24 h. Se registró este nuevo peso para comprobar el porcentaje de solubilidad [17].

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{P - P_0}{P} * 100\%$$

Donde:

P = Peso inicial seco de la película biodegradable.

P<sub>0</sub> = peso seco final de la película biodegradable.

### 2.2.5. Pruebas mecánicas

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

La PVA se realizó a partir de la norma E96-80ASTM con algunas modificaciones. Se recortó las películas en forma circular hasta obtener un diámetro de 4 cm, se adaptó un recipiente plástico como celda; en la parte superior (tapa) se formó un agujero el mismo que será cerrado con la película. Dentro del recipiente se colocaron 10 mL de agua y se lo ubicó en un desecador con un higrómetro y sílica gel con la finalidad de mantener la humedad controlada durante 24 h [18].

$$PVA = \frac{\Delta m - I}{A - \Delta t - \Delta p}$$

Donde:

$\Delta m / (\Delta t)$  = pérdida de humedad por unidad de tiempo (gs<sup>-1</sup>)

I = espesor de la película (m)

A = Área de la película que está expuesta a la humedad.

Para el cálculo de la variación de PVA entre las caras de la película se utiliza la siguiente ecuación:

$$\Delta p = \Delta RH / 100 * PVAP \text{ SAT}$$

Donde:

$\Delta RH$  = gradiente de humedad relativa entre el entorno y la celda.

$PVAP \text{ SAT}$  = presión del vapor de agua pura saturada que a 25 °C es de 3160 Pa.

#### Fuerza de tracción

Estas condiciones corresponden a la norma ASTM-D882-18. Para este procedimiento se recortó películas de 2,5 cm de ancho x 20 cm de largo colocándolas en una probeta y situándolas en una máquina universal marca Metrotec modelo MTE-50 aplicando una fuerza de 200 N y velocidad de 5 mm min<sup>-1</sup>.

### 2.2.6. Pruebas ópticas

#### Análisis FTIR

La caracterización estructural de la película biodegradable se realizó utilizando un espectrofotómetro infrarrojo FTIR de la marca PerkinElmer modelo Spectrum 100, manejando una espectroscopia de absorción ATR de diamante en un ancho de banda de 3800 a 1000 cm<sup>-1</sup> con una configuración de barrido con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup>. Estos valores fueron comparados para posterior lectura de los espectros obtenidos y así establecer los grupos funcionales presentes en la película [11].

#### Opacidad

Se recortó tiras rectangulares de la película biodegradable de 0,7 cm de ancho x 3,5 cm de largo y se determinó la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro visible GENESYS™ 20, Thermo Scientific [16].

Opacidad = A/E

Donde:

A= absorbancia.

E= espesor de la película en milímetros (mm).

### 2.2.7. Pruebas funcionales

#### Absorción de agua

Se cortó pedazos con dimensiones de 2 cm x 2 cm, se pesó cada una de las muestras de la película (M1) y se las colocó en un vaso de precipitación añadiendo 50 mL de agua y mediante un agitador magnético a 100 rpm durante 30 min. Posterior, se sacó la muestra y se la colocó en una luna de reloj y se anotó el nuevo peso (M2) [19].

Capacidad de absorción de agua= $(M2-M1)/M1*100\%$

Donde:

M1: Peso de la muestra seca.

M2: Peso de la muestra húmeda.

#### Prueba de la gota de agua

Se preparó una solución con agua y colorante alimenticio (con la finalidad de notar el ángulo a formarse) y con una micro pipeta y micro jeringa se dejó caer a la altura de 40 cm 10  $\mu$ L sobre la película. Al pasar 5 s con un goniómetro se observa el ángulo que se forma entre la gota y la superficie de la película [11].

### 2.2.8. Prueba de biodegradación mediante pérdida de peso

Para este procedimiento se adaptó un espacio con condiciones aerobias y se tomó tres muestras de las formulaciones de la Tabla 1. Para esto se seccionó y colocó tiras de 0,7 cm x 3,5 cm (previamente pesadas) un recipiente de una capacidad de 200 mL; se añadió 150 g de compost húmedo y a 5 cm se colocó la muestra, registrando el peso

cada 5 días y comparando con el peso inicial. Se evaluó su degradación durante 15 días [20].

% pérdida por degradación= $(P-P_0)/P*100\%$

Donde:

P = Peso inicial húmedo de la película biodegradable.

P\_0= peso seco final de la película biodegradable.

## 3. RESULTADOS

### 3.1. Análisis y discusión de resultados de las pruebas físicas de las películas biodegradables

#### Espesor

De acuerdo con la Norma 2636 (2012), menciona que las láminas delgadas o películas son aquellas que tienen un espesor inferior a 0,25 mm, por lo que todas las formulaciones cumplen con el espesor adecuado. En la Figura 1 se muestra como en las formulaciones F6, F7 y F11, presentan la misma respuesta, al igual que la F4, F9, F10 y F12 poseen valores similares, lo mismo ocurre con F3 y F8 por lo que no existe diferencia significativa entre estas formulaciones; por otra parte, entre F1, F2, F5 sí existe diferencia significativa por que la dosificación del PCL aplicada a en cada película fue variada.

#### Solubilidad

Para determinar estadísticamente los factores que tienen un efecto significativo en la solubilidad. Se elaboró un diagrama de Pareto de efectos estandarizados, tomando un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0.05$ ), como variable de respuesta los resultados del análisis de solubilidad obtenidos en el laboratorio, y como factores a estudiar la glicerina (A), PCL (B), y la combinación de ambos (AB). En la figura 2 se obser-

va que todos los factores exceden la línea de significancia, lo cual indica estadísticamente que los 3 factores afectan de manera significativa a la solubilidad de la película.

### 3.2. Análisis de resultados de las pruebas mecánicas de las películas biodegradables

#### Permeabilidad

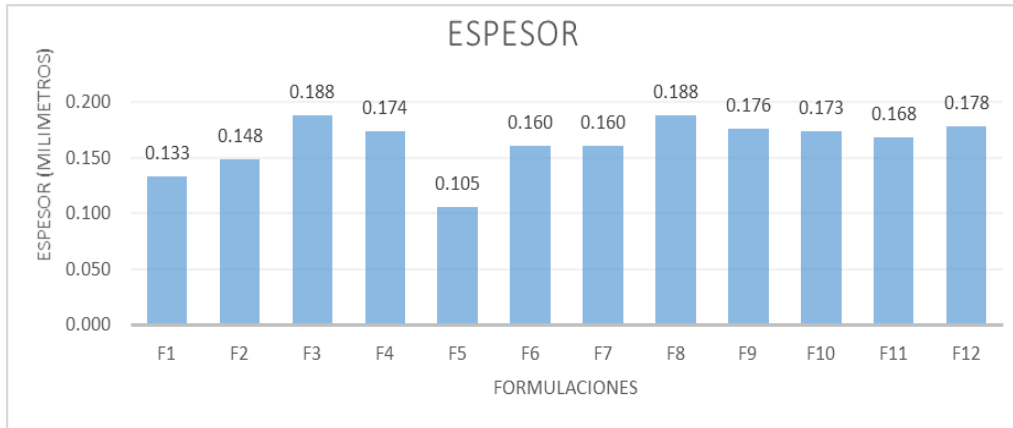


Figura 1: Espesor promedio con respecto al número de formulaciones [21].

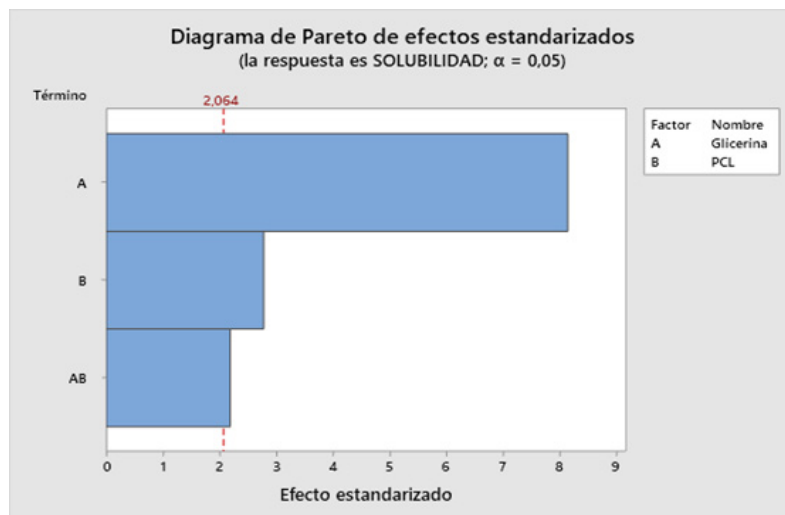


Figura 2: Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para la solubilidad.

Para determinar estadísticamente los factores que tienen un efecto significativo en la permeabilidad de vapor de agua (PVA). Se elaboró un diagrama de Pareto de efectos estandarizados, tomando un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0.05$ ), como variable de respuesta los resultados de los análisis realizados en el laboratorio, y como factores a estudiar la glicerina (A), PCL (B), y la combinación de ambos (AB). En la Figura 3 se observa que los factores de glicerina y PCL exceden la línea de

significancia, lo cual indica estadísticamente que solo estos 2 factores afectan de manera representativa a la PVA de la película, más no su combinación.

#### Tensión

Para las formulaciones F4, F8 y F12 se encontró una capacidad máxima de rotura de 7,15; 8,24; 9,26 MPa respectivamente aplicándose una fuerza máxima a cada una de las probetas de 42N. Datos que coinciden con Granda y col., [22]. La Figura 4 muestra la mayor

respuesta a la tensión dentro de las formulaciones evaluadas coincidiendo con la mayor cantidad de PCL aplicada a la película; donde la máxima fue de 9,26 MPa y 34% de alargamiento respectivamente.

### 3.3. Análisis de resultados de las pruebas funcionales de las películas biodegradables

#### Prueba de la gota de agua

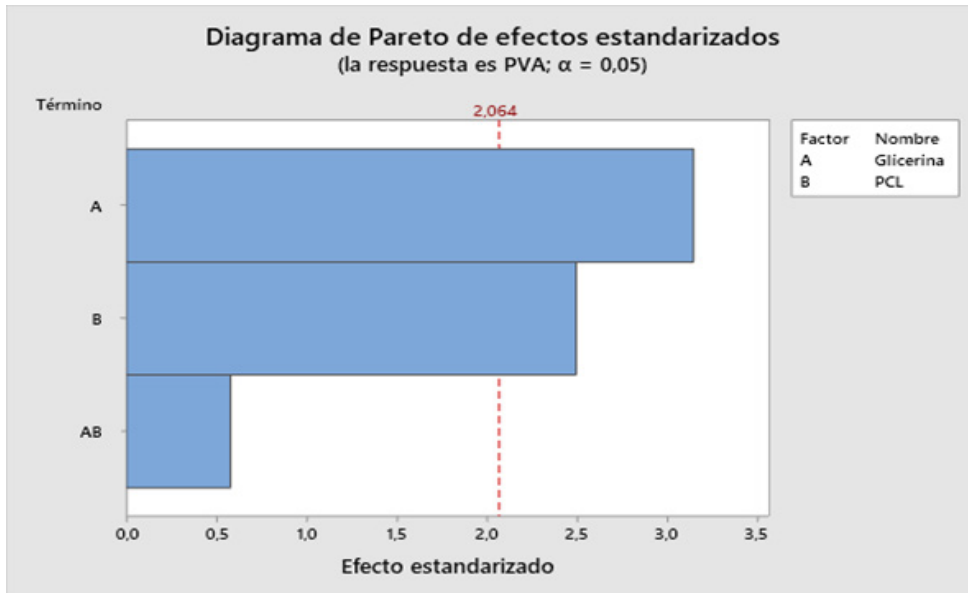


Figura 3: Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para PVA.

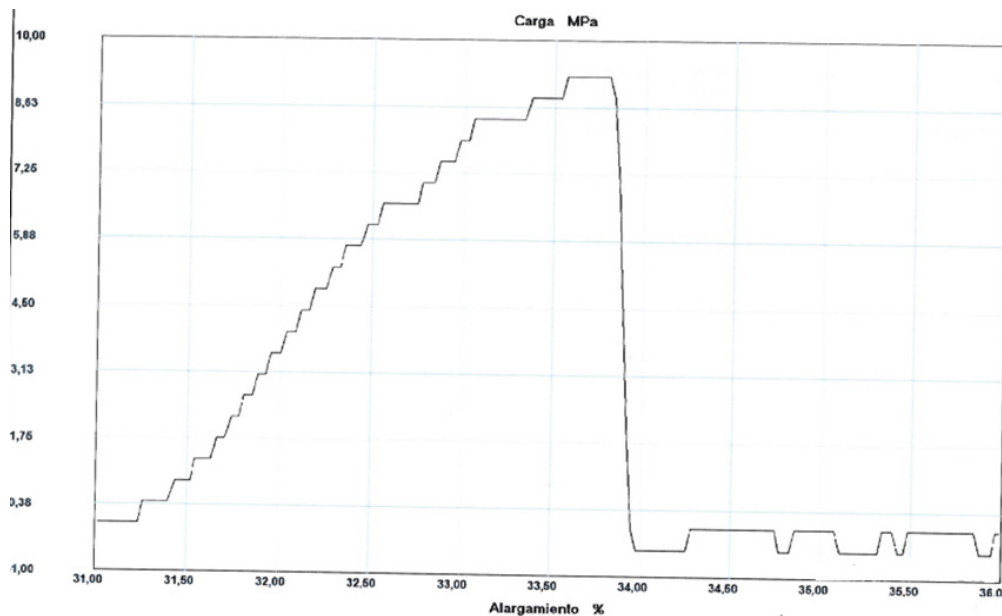


Figura 4: Prueba de tensión de la película biodegradable.

En el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, tomando un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0.05$ ), como variable de respuesta se tuvo los resultados de los análisis realizados en el laboratorio, y como factores

a estudiar la glicerina (A), PCL (B), y la combinación de ambos (AB). En la Figura 5 se observa que los factores de glicerina y PCL exceden la línea de significancia, lo cual indica estadísticamente que solo

estos 2 factores afectan de manera representativa a la hidrofobicidad de la película, más no su combinación.

**Prueba de absorción de agua**

En el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, tomando un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0.05$ ), como variable de respuesta los resultados de

los análisis realizados en el laboratorio los factores a estudiar fueron: glicerina (A), PCL (B), y la combinación de ambos (AB). En la Figura 6 se observa que ninguno de los factores excede la línea de significancia, lo cual indica estadísticamente que ninguno de los factores afecta de manera representativa a la absorción de agua de la película

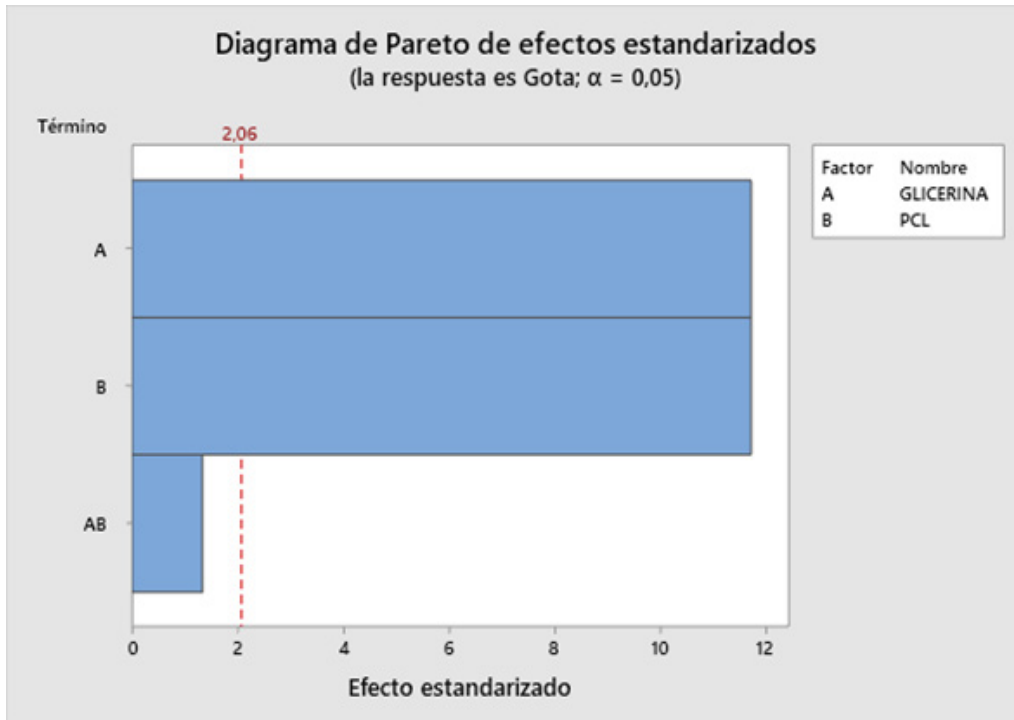


Figura 5: Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para la prueba de la gota de agua

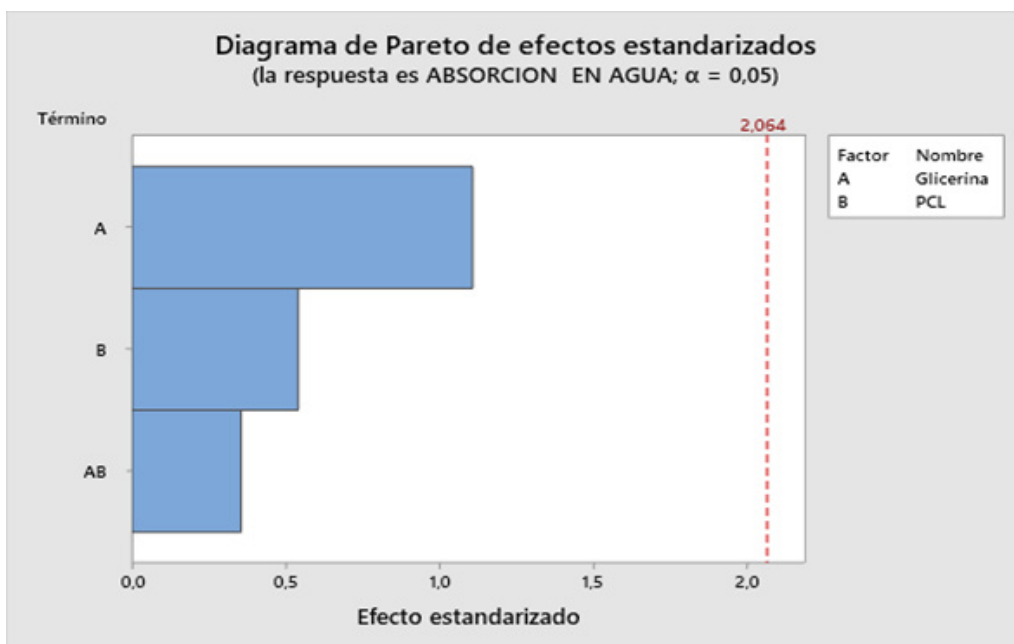


Figura 6: Diagrama de Pareto de efectos estandarizados para Absorción en agua



### 3.4. Análisis de resultados de las pruebas ópticas de la película biodegradable

#### Análisis de espectroscopia infrarroja

En la posición  $2940,6\text{cm}^{-1}$  presenta un estiramiento asimétrico del  $\text{CH}_2$ ; en la banda  $2869,5\text{ cm}^{-1}$  existe un estiramiento simétrico del  $\text{CH}_2$ . En la posición  $1745,9\text{cm}^{-1}$  está presente el cloroformo, a lado de esta banda está ubicada la  $1724,3\text{ cm}^{-1}$  donde muestra un estiramiento carbonílico propio del almidón-celulosa, así como en la posición  $1243,6\text{ cm}^{-1}$  un enlace C-O y C-C en la fase cristalina y  $1193,0\text{ cm}^{-1}$  un estiramiento asimétrico de COC en la posición  $1143,9\text{ cm}^{-1}$  y un estiramiento OC-C en el pico  $1171,7\text{ cm}^{-1}$ . Adicional a esto, se observó un pico de  $3382,5\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a una tensión ejercida por un grupo hidroxilo y en la posición  $1641,6\text{ cm}^{-1}$  que concierne a agua retenida en el proceso de obtención del almidón-celulosa. [23,24].

#### Opacidad

Para determinar estadísticamente los factores que tienen un efecto significativo en la opacidad de la película. Se elaboró un diagrama de Pareto de efectos

estandarizados, tomando un nivel de significancia del 5% ( $\alpha=0.05$ ), como variable de respuesta los resultados del análisis con espectrofotómetro obtenidos en el laboratorio, y como factores a estudiar la glicerina (A), PCL (B), y la combinación de ambos (AB). En la Figura 8 se observa que ninguno de los factores excede la línea de significancia, lo cual indica estadísticamente que ningún factor afecta de manera significativa a la opacidad de la película.

### 3.5. Análisis de resultados de las pruebas biodegradables de las películas biodegradables.

En la Figura 9 se observa la gráfica que relaciona el peso en gramos que tuvieron las 12 formulaciones en un periodo de 15 días. Se evidencia que existe una tendencia de degradación ya que pierde peso a medida que pasa el tiempo. Tomando en cuenta estos resultados, podemos suponer que la biodegradación continuará hasta llegar al punto de una descomposición completa de las películas.

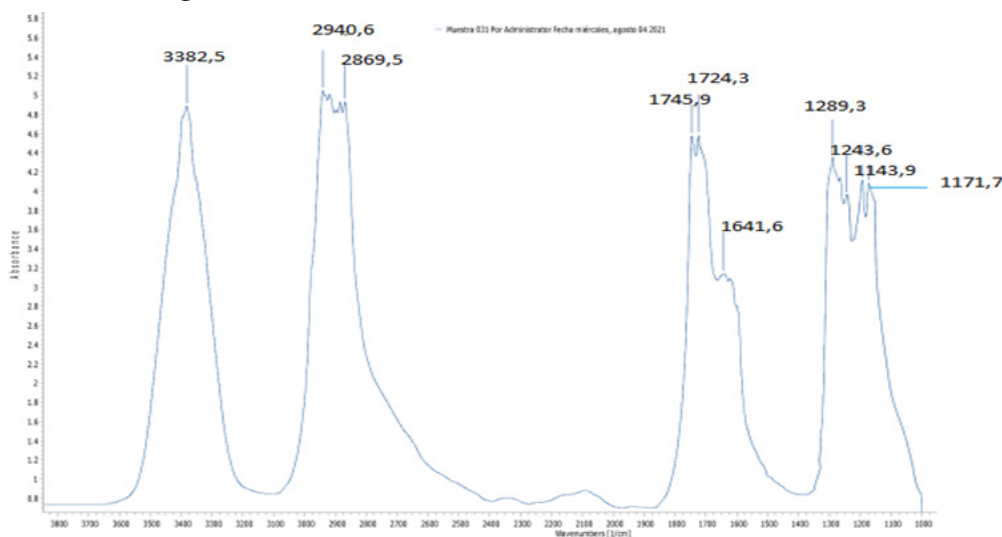


Figura 7: Análisis FTIR de la película biodegradable



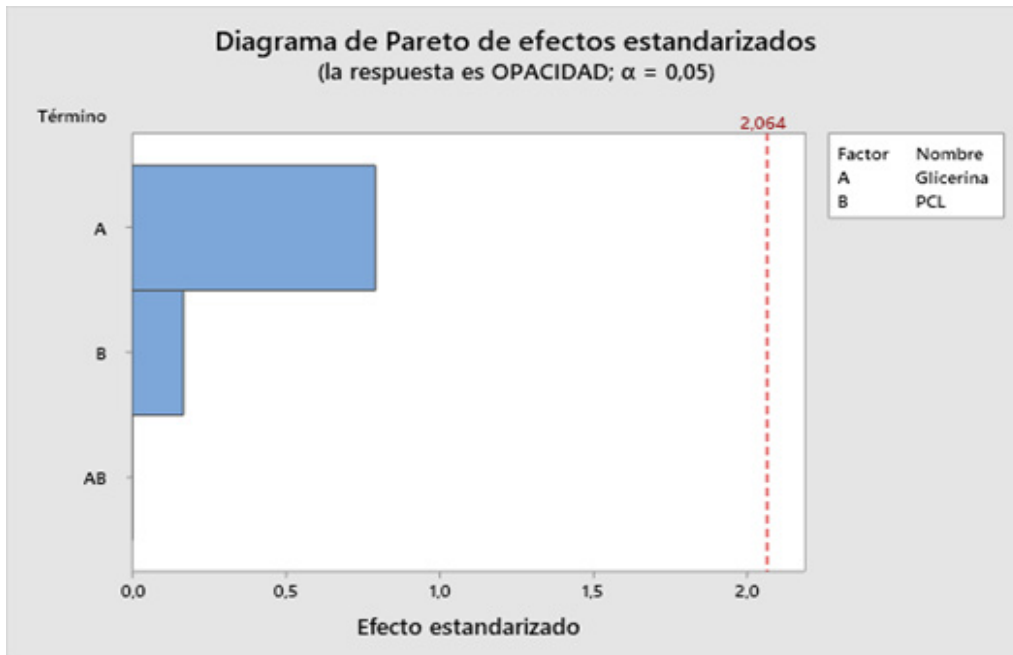


Figura 8: Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de la opacidad.

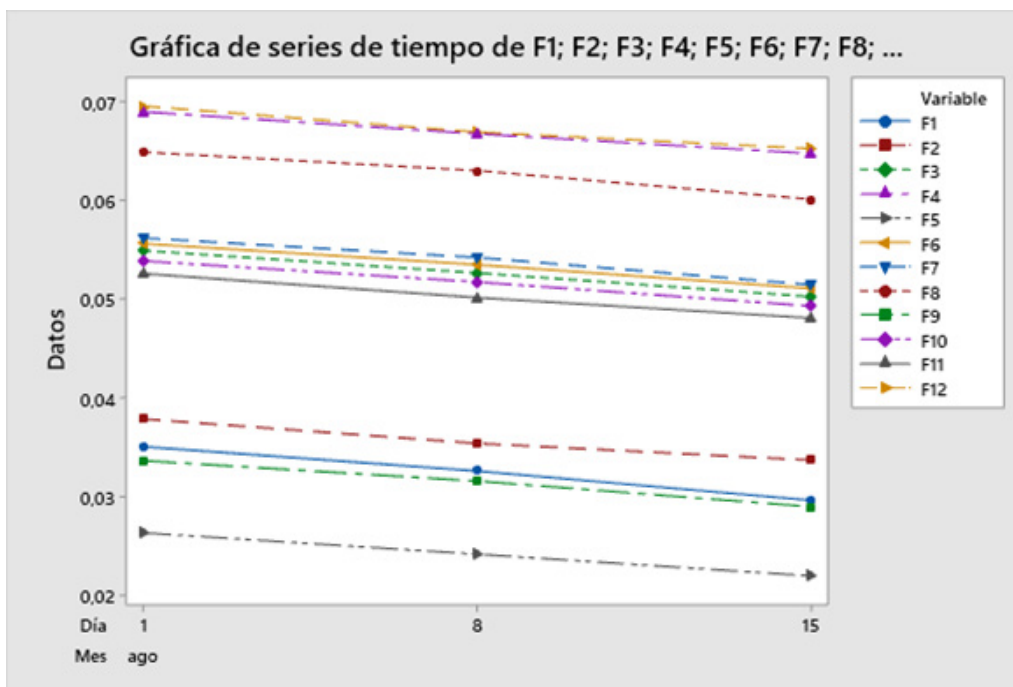


Figura 9: Análisis de degradación de la película biodegradable.

#### 4. DISCUSIÓN

Los espesores de las muestras, en la gran mayoría, correspondientes a las 12 formulaciones, no mostraron diferencias significativas en comparación al plátano macho [25] y a su vez se encuentra cierta similitud con respecto a las respuestas cuantitativas con todas las formulaciones a excepción de la F5

[15]. Por otro lado la solubilidad también muestra similitud con los obtenidos durante esta investigación García y col., [26] ya que a medida que aumenta la cantidad de glicerina se convierte en un factor decisivo en la solubilidad de la muestra y que afecta de manera significativa influyendo simultáneamente en la biodegradabilidad, señalando una

ventajosa oportunidad cuando se requiere como materiales de empaque [15].

La permeabilidad al vapor de agua o PVA en la gran mayoría de formulaciones en la que contenían la menor cantidad de PCL fueron mayores convirtiendo a la glicerina y PCL en factores determinantes para esta propiedad [15], sin embargo, las muestras que solamente tenían glicerina, fueron similares a las reportadas por Jiménez y col., [11]. Cabe recalcar que esta propiedad es de suma importancia en la elaboración de biopolímeros puesto que se busca avances significativos en las propiedades mecánicas por que permiten conservar en mejor forma cualquier tipo de alimento [26]. Teniendo presente como indicativo su hidrofobicidad, se realizó la prueba en las todas las formulaciones, observando así la cantidad de agua absorbida durante un periodo de tiempo de 5 s, dichos datos mostraron cierta similitud en cuanto a las formulaciones que contenían glicerina y PCL, por lo que se complementa que la cantidad de glicerina y PCL afecta en la hidrofobicidad reflejada por la prueba de la gota de agua [11]. Por otro lado, los datos referentes a la absorción en agua indican similitud, exponiendo que a medida que se incrementa el PCL la absorción en agua disminuye, sin embargo también interfiere en esta disminución la composición de la cáscara de plátano verde donde se ve involucrada la amilosa, por su capacidad de crear estructuras cristalinas y compactas y capas externas capaces de restringir el paso de agua [28]. Adicional, en cada una de las películas mostraron partículas de color blanco en su superficie lo que corresponde a la presencia de celulosa en la muestra, comprobando que interfiere

con la opacidad al igual que el PCL, siendo similares a los reportados en las películas biodegradables con almidón de plátano macho [11]. Con respecto a la biodegradabilidad, en cada una de las formulaciones, se observa la tendencia a la descomposición, siendo esta progresiva y en aumento mostrando similitud con Abarca y col., [17] y reconociendo que el hecho de poseer almidón-celulosa y PCL es un indicativo de biodegradabilidad [5].

## **5. CONCLUSIONES**

Debido a la gran cantidad de residuos de plátanos generados en Ecuador, se propuso un método para la extracción del almidón-celulosa como lo es la hidrólisis básica dando apertura a la elaboración de biopolímeros a partir de residuos no aprovechados y por ende convirtiéndose en una atrayente alternativa en la elaboración de bioplásticos.

En cuanto a las propiedades físicas, se cumplió con el espesor requerido por la norma NTE INEN 2636:2012 para considerarse película biodegradable y la solubilidad mostró efectos significativos en cada uno de sus factores. En las pruebas mecánicas, la PVA mostró un nivel de significancia en sus dos factores pero no en la combinación de ambos y la mejor tensión fue en la formulación 12 con 9,26 MPa. En las pruebas ópticas, la opacidad no reveló diferencias significativas en cada uno de los factores y en el análisis FTIR se observó la presencia de PCL, cloroformo y almidón-celulosa en los picos 1289; 1724,3 y 1745  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente. En las pruebas funcionales, la prueba de la gota de agua mostró un nivel de significancia en sus dos factores pero no en la combinación de ambos y la absorción de agua no refleja

muestras significativas en cuanto a sus factores; y en cuanto a su degradación se reflejó una pérdida de peso progresiva en un lapso de 15 días.

La mejor formulación dependerá de la aplicación a darse. En el caso de fundas plásticas conviene utilizar las formulaciones que más cantidad de PCL posean como lo son F4, F8 y F12 porque se comprobó un incremento significativo en alguna de sus propiedades mecánicas, funcionales y físicas.

### Referencias bibliográficas

- Guerrero, A., Aguado, P., Sánchez, J., & Curt, M. (2016). Los residuos del cultivo de plátano en Ecuador podrían cubrir el 10% de su demanda de bioetanol. *Revista Técnica de Medio Ambiente RETEMA*, 2
- Amaya, J. B. (2019). Estudio de la dosificación del almidón extraído del banano en un polímero de tipo termoplástico. *Rev. Colomb. Quim.*, pp. 43-51. doi:<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v48n1.74469>
- Báez, J. (2006). Poli (e-caprolactona), un polímero degradable: síntesis por triisopropóxido de aluminio Al(OiPr)<sub>3</sub> como iniciador. *Educ. Quím.* pp. 458-463. doi:<https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2006.4.66028>.
- De Campos, A., Teodoro, K., Marconcini, J., Mattoso, L., & Martins, S. (2011). Efecto del tratamiento de fibras sobre las propiedades del biocompuesto termoplástico de almidón / policaprolactona / sisal. Efeito do tratamento das fibras nas propriedades do biocompósito de amido termoplástico/policaprolactona/sisal. *Laboratorio Nacional de Nanotecnología para Agronegocios, Embrapa - São Carlos, Brasil*. Obtenido de <https://www.scielo.br/j/po/a/47Z49d-VxKqJTwxDSxsFbjHM/?lang=pt>
- Chapuel, Y., & Reyes, X. (2019). OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA BIODEGRADABLE A PARTIR DE LOS ALMIDONES DE SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana* Mill) Y BANANO (*Musa acuminata* AAA) PARA EL RECUBRIMIENTO DE PAPAYA. OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA BIODEGRADABLE A PARTIR DE LOS ALMIDONES DE SEMILLA DE AGUACATE (*Persea americana* Mill) Y BANANO (*Musa acuminata* AAA) PARA EL RECUBRIMIENTO DE PAPAYA. *UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, GUAYAQUIL.. Cancer Res*, 70(6), 2406-2414. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3929.
- Montoya, J., Dumar, Q., & Lucas, J. (2013). Caracterización de harina y almidón de frutos de banano Gros Michel (*Musa acuminata* AAA). *Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ciencias Agroindustriales, Universidad del Quindío, Colombia.*, 11-21. doi:<http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n1.38814>
- Cárdenas, M. (2018). EXTRACCIÓN DE ALMIDON A PARTIR DE RESIDUOS DE BANANO (MUSA PARADISIACA) PARA LA ELABORACIÓN DE UN BIOPOLÍMERO. EXTRACCIÓN DE ALMIDON A PARTIR DE RESIDUOS DE BANANO (MUSA PARADISIACA) PARA LA ELABORACIÓN DE UN BIOPOLÍMERO. *UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA, Cuenca*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16241/1/UPS-CT007893.pdf>
- Santander, K. (2018). "INTRODUCCIÓN DE UN HIDROLIZADO

- LÍQUIDO DE GALLINAZA COMO FERTILIZANTE EDÁFICO Y ESTIMULADOR DEL CRECIMIENTO RADICULAR”. “INTRODUCCIÓN DE UN HIDROLIZADO LÍQUIDO DE GALLINAZA COMO FERTILIZANTE EDÁFICO Y ESTIMULADOR DEL CRECIMIENTO RADICULAR”. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA, Lima. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3549/santander-hidalgo-candia-kharolyn-elizabeth.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Guerrón, M. (2016 ). EVALUACIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE UN BIOPOLIMERO A PARTIR DEL HONGO *Ganoderma australe*. EVALUACIÓN DEL PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE UN BIOPOLIMERO A PARTIR DEL HONGO *Ganoderma australe*. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, Quito. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6860/1/TUCE-0017-0017-2016.pdf>
- Pozo, L. (2019). “Extracción y caracterización del almidón de plátano verde (*Musa paradisiaca*) producido en el sector Untal, parroquia El Chical, y su potencial uso como aditivo en la elaboración de pan blanco”. “Extracción y caracterización del almidón de plátano verde (*Musa paradisiaca*) producido en el sector Untal, parroquia El Chical, y su potencial uso como aditivo en la elaboración de pan blanco”. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI, Tulcán. Obtenido de <http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/869/1/001%20Extracci%20c%20b%20y%20caracterizaci%20del%20almid%20de%20pl%20c%20a%20l%20t%20a%20n%20o%20.pdf>
- Jiménez, A., Hernández, K., Collahuazo, Y., Avilés, R., Pino, J., & García, M. (2019). PELÍCULA COMESTIBLE A PARTIR DE CÁSCARA DE PLÁTANO MACHO (*MUSA PARADISIACA* L.). *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 49-57. Obtenido de <https://www.revcitecal.iiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/76/64>
- Contreras, J., & al., e. (2013). MEJORAS DE LAS PROPIEDADES DE FILMS BIODEGRADABLES A PARTIR DE ALMIDÓN POR MEZCLA CON POLICAPROLACTONA (PCL). MEJORAS DE LAS PROPIEDADES DE FILMS BIODEGRADABLES A PARTIR DE ALMIDÓN POR MEZCLA CON POLICAPROLACTONA (PCL). Universidad Politécnica de Valencia. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/33913/Tesina%20Jessica%20final.pdf;jsessionid=F5E12E0CC0631041F7B9B9D231DDF20B?sequence=1>
- Navarro, A. (2018). DESARROLLO DE PELÍCULAS BICAPA A BASE DE ALMIDÓN TERMOPLÁSTICO (TPS) Y POLÍMEROS HIDROFÓBICOS CON SORBATO DE POTASIO COMO AGENTE INTERFACIAL. DESARROLLO DE PELÍCULAS BICAPA A BASE DE ALMIDÓN TERMOPLÁSTICO (TPS) Y POLÍMEROS

- HIDROFÓBICOS CON SORBATO DE POTASIO COMO AGENTE INTERFACIAL. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Bogotá D.C. Obtenido de <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/4132/ESTUDIO%20DE%20PEL%C3%8DCULAS%20BICAPA%20CON%20ADHERENTE.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Averous, L., Moro, L., Dole, P., & Fringant, C. (2013). Properties of thermoplastic blends: starch-polycaprolactone. *Plastics Design Library*, 109-128. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-2834-3.00006-9>
- Anchundia, K., Santacruz, S., & Coloma, J. (2016). Caracterización física de películas comestibles a base de cáscara de plátano (*Musa Paradisiaca*). *Revista Chilena de Nutrición*. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182016000400009>
- Collazo, S., & et, a. (2013). FILMS BIODEGRADABLES A BASE DE ALMIDÓN DE MAÍZ Y POLICAPROLACTONA: EFECTO DEL ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE DE ENTRECruzAMIENTO. FILMS BIODEGRADABLES A BASE DE ALMIDÓN DE MAÍZ Y POLICAPROLACTONA: EFECTO DEL ÁCIDO CÍTRICO COMO AGENTE DE ENTRECruzAMIENTO. Departamento Tecnología de Alimentos-Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n 46022, Valencia, Spain, Valencia. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/33929/TFM%20Sofia%20Collazo.pdf;sequence=1>
- Abarca, F., & Hidalgo, D. (2021). OBTENCIÓN DE PELÍCULA BIODEGRADABLE A PARTIR DE COLÁGENO (*Gallus gallus domesticus*) Y ALMIDÓN (*Musa balbisiana*) PARA EL RECUBRIMIENTO DE FRUTAS. OBTENCIÓN DE PELÍCULA BIODEGRADABLE A PARTIR DE COLÁGENO (*Gallus gallus domesticus*) Y ALMIDÓN (*Musa balbisiana*) PARA EL RECUBRIMIENTO DE FRUTAS. Universidad de Guayaquil, Guayaquil. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/re-dug/53887/1/BINGQ-IQ-21P03.pdf>
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J., & Voilley, A. (1998). Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 299-313.
- Joaqui, D., & Villada, H. (2013). PROPIEDADES ÓPTICAS Y PERMEABILIDAD. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria*, 59-68. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11nspe/v11nespa07.pdf>
- Núñez, A. (2014). OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA DE BIOPLÁSTICO A PARTIR DEL COLÁGENO DE LAS PATAS DE POLLO. OBTENCIÓN DE UNA PELÍCULA DE BIOPLÁSTICO A PARTIR DEL COLÁGENO DE LAS PATAS DE POLLO. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, Quito. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2879/1/T-UCE-0017-90.pdf>
- Ponce, R. (2015). ELABORACIÓN DE PLACAS RÍGIDAS BIODEGRADABLES, POR MOLDEO EN PRENSA, A PARTIR DE CORTEZAS DE PALMITO (*BACTRIS GASIPAES*), CON ALMIDÓN ACETILADO DE YUCA (*Manihotesculenta*) IMPREGNADO. ELABORACIÓN DE PLACAS RÍGIDAS BIODEGRADABLES, POR MOLDEO EN PRENSA, A PARTIR



- DE CORTEZAS DE PALMITO (BACTRIS GASIPAES), CON ALMIDÓN ACETILADO DE YUCA (Manihotesculenta) IMPREGNADO. Escuela Politécnica Nacional, Quito DM. Obtenido de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/11956/1/CD-6603.pdf>
- Granda, J., & Ramos, Y. (2019). "ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A LA TRACCIÓN Y DEFORMACIÓN DE BIOPLÁSTICOS OBTENIDOS A PARTIR DE ALMIDÓN DE SOLANUM TUBEROSUM A DIFERENTES PORCENTAJES DE PLASTIFICANTE". "ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A LA TRACCIÓN Y DEFORMACIÓN DE BIOPLÁSTICOS OBTENIDOS A PARTIR DE ALMIDÓN DE SOLANUM TUBEROSUM A DIFERENTES PORCENTAJES DE PLASTIFICANTE". UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO, Trujillo. Obtenido de <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/13393/GRANDA%20S%20C%20Jorge%20Jeyson%20RAMOS%20CONTRERAS%20Yenny%20Merly.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Elzein, T., Nasser, M., Delaite, C., Bistac, S., & Dumas, P. (2003). FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 381–387. doi:10.1016/j.jcis.2004.02.001
- Nishida, J., Shigeto, S., Yabumoto, S., & Hamaguchi, H. (2012). Acoplamiento anarmónico de las vibraciones de CH-stretch y CH-bend del cloroformo según lo estudiado por espectroscopia de electroabsorción de infrarrojo cercano. *La Revista de Física Química*, 137. doi:DOI: 10.1063 / 1.4770264
- Zamudio-Flores, Vargas-Torres, Gutiérrez-Meraz, & Bello-Pérez. (2010). CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE ALMIDONES DOBLEMENTE MODIFICADOS DE PLÁTANO. *Agrociencia*, 283-295. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/302/30215552004.pdf>
- García, A., Pinzón, F., & Lucas, A. (2015). PROPIEDADES FÍSICAS Y ÓPTICAS DE PELÍCULAS A BASE DE ALMIDÓN DE PLÁTANO GUAYABO (*Musa paradisiaca* L.). *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 127- 132. Obtenido de <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/350/300>
- Seyed, H., Masoud, R., Mojgan, Z., & Farhid, G. (2013). Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *pubmed.gov*. doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.081.
- ARRIETA, A., DURANGO, L., & ARIZAL, E. (2018). Estudio de las propiedades absorbentes de un biopolímero a base de almidón de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Espacios*, 15. Obtenido de <http://www.revistaespacios.com/cited2017/cited2017-15.pdf>

## **Lepidópteros comestibles: pasado, presente y futuro**

### **Edible lepidopterans: past, present and future**

Angélica María Hernández-Ramírez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de EcoAlfabetización y Diálogo de Saberes, Universidad Veracruzana, 91060, Xalapa, México, angehernandez@uv.mx, 2288421700; angehernandez@uv.mx

Recibido: 16 de noviembre de 2021

Aceptado: 02 de enero de 2022

#### **Resumen**

Muchas especies de insectos han sido utilizados como comida tradicional por los pueblos locales, principalmente en la región tropical. En este estudio, los lepidópteros comestibles en México se utilizaron como estudio de caso que ejemplifica el progreso y los desafíos para incorporar a los insectos comestibles a la nutrición humana a gran escala. Se registraron un total de 68 lepidópteros comestibles pertenecientes a 16 familias taxonómicas. Estas especies se localizaron en 14 hábitats diferentes distribuidos a través del país. Los pobladores locales generalmente usan las larvas, pupas y adultos de los lepidópteros como alimento. Si bien los insectos comestibles han ganado un interés creciente como fuente alternativa de alimento para el futuro, se debe prestar atención a algunos aspectos relacionados con el manejo, la conservación y la reglamentación de los mismos. Este estudio destaca las oportunidades de investigación sobre la versatilidad de los lepidópteros como fuente de alimento del futuro.

**Palabras clave:** alimento; mariposas; polillas; diversidad.

#### **Abstract**

Many species of insects have been used as traditional food by local peoples, mainly in the tropical region. In this study, the edible lepidopterans in Mexico were used as study case in order to exemplify progress and challenges to incorporate edible insects to large scale human nutrition. It was recorded a total of 68 edible lepidopterans belonging to 16 taxonomic families. Those species were located in 14 different habitats distributed across the country. Local people usually use larva, pupa and adult of lepidopterans as food. Although edible insects have gained increasing interest as alternative food source for the future, caution must be paid to some aspects related to management, conservation, and regulation of them. This study highlights the research opportunities on versatility of lepidopterans as source of food for the future

**Keywords:** food; butterflies; moths; diversity.



## **1. Introducción**

El hambre constituye una realidad que vive uno de cada nueve personas a nivel mundial y se localiza principalmente en los países en desarrollo (FAO, 2019). La causa de esta crisis alimentaria es multifactorial, por lo que se ha posicionado el tema en las diferentes agendas políticas nacionales e internacionales. Derivado de esta crisis, se han realizado diversas acciones para combatir la falta de alimentos, incluido el intensificar la producción de alimentos, el empleo de subsidios a la agricultura, así como el empleo y desarrollo de programas sociales de apoyo para comunidades vulnerables (DOF, 1984, 1999, 2004, 2005, 2009, 2011). Dentro de estas propuestas destaca el retomar las formas alternativas de alimentación para combatir el hambre y que tienen que ver con el reconocimiento de los usos y costumbres de los pueblos originarios, así como de las prácticas de alimentación empleadas al principio de la humanidad.

### **Los insectos y su papel en la historia de la nutrición humana.**

Los insectos han constituido un recurso alimenticio básico en la historia de la humanidad. Se sabe que *Australopithecus robustus* consumía termitas a través del uso de herramientas de hueso localizado en los registros fósiles (Broom, 1938). En otros casos, se ha documentado la presencia de restos de insectos en las heces fosilizadas de grupos ancestros al ser humano, quienes habitaron la tierra en periodos anteriores al de la cacería y recolección de alimentos (Hardy et al., 2017; Govorushko, 2019). Aunado a esto, diversas investigaciones han documentado que el consumo de insectos es una práctica común y

estrechamente ligada a los pueblos originarios.

Al respecto, Jongema (2017) reconoció la presencia de 120 países que consumen insectos como parte de su cocina tradicional a través de los cinco continentes. Su listado incluye 2100 especies de insectos identificados como comestibles en 2017. La mayoría de esas especies se consumen en la regiones tropicales y subtropicales del mundo (México, China, Tailandia e India), mientras que el 88% de las especies de insectos comestibles se encuentran en ecosistemas terrestres y el 12% en ecosistemas acuáticos (Jongema, 2017).

### **Los insectos comestibles como parte de la gastronomía local.**

El valor de los insectos comestibles como parte del patrimonio culinario ha sido objeto de investigación en las últimas décadas. En estas investigaciones destaca la relación que se establece entre el uso de insectos como alimento asociado a los usos y costumbres de los pueblos originarios dentro del concepto de cocinas ancestrales (Garduño, 1993; Soto et al., 2008; Peña y Hernández, 2009; Román et al., 2012; Contreras et al., 2012). A estas investigaciones se suman trabajos especializados y dirigidos a incorporar a los insectos comestibles dentro de preparaciones gastronómicas (Pérez, 2017; Cabrera, 2019; Rangel, 2019). A su vez, se han planteado nuevas aproximaciones en las que se aborda el desarrollo de productos derivados del procesamiento de insectos comestibles para la elaboración de harinas, geles y como sustituto de carne para el consumo humano (Guevara, 2012; Granados et al., 2013; Losada, 2018; Padilla, 2018; Harmina et al., 2020; Tejeda 2021). Lo anterior promueve

la valoración de los saberes y conocimientos tradicionales que cada grupo socio-cultural posee con respecto al uso de insectos como parte de su alimentación. Aunado a la valoración de esta herencia culinaria, se suma el reconocimiento del valor que tienen estos insectos como insumos alterativos que permiten afrontar una crisis alimentaria presente y futura a nivel mundial. Con base en lo anterior, en este estudio se revisó el uso de los lepidópteros como fuente de alimento en el pasado y en el presente en México, así como su potencial uso en el futuro como estrategia para afrontar la crisis alimentaria presente y futura (FAO, 2019).

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

La presente investigación parte de una revisión del estado de conocimiento que se tiene con respecto al consumo de mariposas y polillas (lepidópteros) en México. Lo anterior se hizo con la finalidad de identificar las áreas de oportunidad presentes en el país dirigidas a incorporar el uso de insectos comestibles en programas estratégicos de investigación científica, tecnológica y gastronómica. Para ello, se realizó una búsqueda, sistematización, integración, revisión y análisis de la información publicada con respecto al tema de insectos comestibles. Lo anterior se hizo delimitando el estudio al caso de los lepidópteros en el país. Específicamente, se utilizaron los principales buscadores académicos para localizar la información publicada con respecto al tema de interés dentro del ámbito de Ciencias Sociales y Humanidades, así como dentro de las Ciencias Naturales y Exactas (i.e., Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, Latindex, ISI web of Knowledge). Lo anterior,

permitió filtrar la calidad de la información publicada, la cual fue generada y sustentada por una metodología y rigor de investigación avalada por el proceso de arbitraje a los que se somete cada publicación. La revisión de los estudios de caso en los cuales los insectos se utilizaron en gastronomía fue aquellos en los que se avaló la obtención de un grado académico en alguna Universidad dentro y fuera del país

En los buscadores se utilizaron las palabras clave de “anthropoentomofagia”, “edible insects”, “antropoentomofagia” y “insectos comestibles”. El criterio de selección e incorporación de los trabajos fue que los estudios incluyeran el uso de mariposas y polillas como fuente de alimento en México, ya sea a través de listados de especies o bien del estudio de los usos y costumbres de los pueblos originarios. A su vez, se incluyeron aquellos estudios que denotan los avances en el estado de conocimiento del valor nutricional de los insectos y mariposas como parte de la discusión y su aportación en el ámbito de la gastronomía. Aunado a lo anterior, se hizo una revisión del marco legislativo en México y su comparativo con la Unión Europea para identificar los vacíos y áreas de oportunidad con respecto al marco regulatorio para el aprovechamiento de los insectos como fuente de alimento.

## **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La búsqueda bibliográfica arrojó más de 5,000 publicaciones en los principales buscadores académicos. Con base en los criterios de selección, se trabajó con la revisión de 56 artículos que abordaron el tema de insectos comestibles en México ya sea desde su reconocimiento taxonómico o bien su valor nutricional.

Debido a que varias especies se utilizan en distintas regiones del país, el análisis incorporó la distribución de las especies a nivel de hábitat y las especies se incorporaron a las bases de datos previamente reportadas por los autores. Lo anterior permitió actualizar la información en los listados base y evitar la duplicidad de registros. Por su extensión, solo se reportan algunas especies representativas de lepidópteros por familia taxonómica y se citan a los principales autores que aportaron la información base (los registros duplicados no se citan, pero la información se consideró en el análisis de hábitat de las especies).

#### • El valor nutricional de los insectos para el ser humano

Si bien las distintas investigaciones iniciaron por conocer e identificar a las especies de insectos comestibles, se han desarrollado estudios paralelos con la finalidad de reconocer el estado nutricional de dichos organismos para la dieta humana. A la fecha, se sabe que el aporte nutricional del consumo de insectos es alto en su valor proteico (13-77%), con una gran cantidad de fibra (76-98%), baja proporción de grasa (10-50%) y gran cantidad de vitaminas (riboflavina, ácido fólico, ácido pantoténico) y minerales como calcio, hierro, fósforo, magnesio, selenio y zinc (Rumpold & Schlüter, 2013; Mlcek et al., 2014; Akhtar & Isman, 2017). Ramos-Elorduy y Moreno (2001) reportaron que los lepidópteros aportan en promedio de 300 a 410 Kcal (contenido calórico). Por ello, el consumo de insectos aporta menos calorías con respecto a la carne de puerco (706 Kcal), soya (466.00 kcal), carne de res (412 Kcal), lenteja (398 Kcal), pescado (397 Kcal), frijol (391 Kcal), maíz (370 Kcal) y trigo (344 Kcal). No

obstante, el aporte calórico del consumo de insectos es superior al de la carne de pollo (164 Kcal). En este sentido, se reconoce el gran aporte nutritivo del consumo de insectos y el bajo valor calórico del mismo en la dieta humana.

#### • Insectos comestibles en el México prehispánico

Históricamente, el consumo de insectos se ha relacionado con los grupos prehispánicos en México. En el Códice Florentino se describen más de 96 especies de insectos comestibles, incluidas langostas (acachapoli), abejas (pipiyoli), cucarachas de agua (anetztl), moscos (axayacatl) y gusanos de maguey (meocuulin).

Fray Bernardino de Sahagún (1988) describió: “...comían unas hormigas aludas con chiltécpitl. Comían también unas langostas que se llaman chapolin chichiahua; quiere decir “cazuela de unas langostas”, y es muy sabrosa comida. Comían también unos gusanos que se llaman meocuilti chitecpin mollo; quiere decir “gusanos que son de maguey y con chiltecpinmollo...”

El consumo de insectos en tiempos prehispánicos no se limitó a su valor nutricional, sino a su aporte en la medicina tradicional. En este sentido, Conconi y Moreno (1988) documentaron el uso de 43 especies de insectos para aliviar problemas estomacales, desórdenes del hígado y riñones, enfermedades urogenitales, inmunológicas y glandulares, así como crisis nerviosas descritos en el Códice Florentino. El uso de los insectos en la medicina tradicional se ha realizado a través de infusiones, pomadas y ungüentos (Conconi & Moreno, 1998). Por lo anterior, existen antecedentes históricos que demuestran el uso de insectos como fuente de alimento en el país.

• Las especies de lepidópteros comestibles en el México contemporáneo

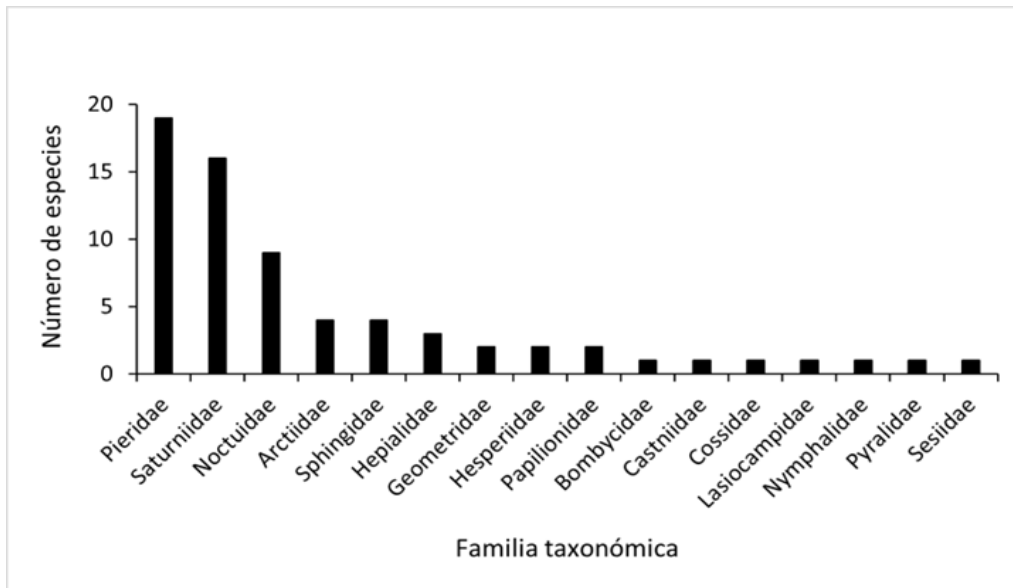


Figura 1. Número de lepidópteros comestibles por familia taxonómica con base en la literatura consultada y citada. Fuente propia

Familia	Especie	Tipo de consumo
Arctiidae	<i>Estigmene acrea</i> (Drury, 1773)	Adulto
Bombycidae	<i>Bombyx mori</i> (Linnaeus, 1758)	Larva
Castniidae	<i>Synpalamides chelone</i> (Hopffer 1856)	Larva
Cossidae	<i>Comadia redtenbacheri</i> (Hammerschmidt 1848)	Larva
Geometridae	<i>Acronyctodes mexicanaria</i> (Walker 1860)	Larva y pupa
Hepialidae	<i>Phassus triangularis</i> (Edwards, 1885)	Larva
Hesperidae	<i>Aegiale hesperiaris</i> (Walker 1856)	Larva
Lasiocampidae	<i>Eutachyptera psidii</i> (Sallé, 1857)	Larva
Noctuidae	<i>Helicoverpa zea</i> (Boddie, 1850)	Larva
Nymphalidae	<i>Anartia fatima</i> (Fabricius, 1793)	Larva
Papilionidae	<i>Protographium philolaus</i> (Boisduval, 1836)	Larva
Pieridae	<i>Eucheira socialis</i> (Westwood 1834)	Larva
Pyralidae	<i>Laniifera cyclades</i> (Druce 1895)	Larva
Saturniidae	<i>Arsenura armida</i> (Cramer, 1779)	Larva
Sesiidae	<i>Synanthedon cardinalis</i> (Dampf, 1930)	Larva
Sphingidae	<i>Manduca sexta</i> (Linnaeus, 1763)	Larva y adulto

Tabla 1. Especies representativas de lepidópteros por familia taxonómica y su tipo de consumo.

El consumo de insectos se ha transmitido de generación en generación, ya sea por imitación o instrucción. Dicho conocimiento incluye la distinción de las especies comestibles, su ubicación (dónde), su temporalidad (cuándo) y la técnica (cómo) para encontrarlas/recolectarlas y en su caso saber prepararlas (Ramos-Elorduy et al., 1988; Moreno & Reyes-Prado, 2020). En México se ha documentado el consumo de 68 especies de mariposas y polillas pertenecientes a 16 familias taxonómicas

(Ramos-Elorduy et al., 1998, 2011, 2008; Santos-Fita et al., 2006; López-Gómez et al., 2017; Moreno & Reyes-Prado, 2020) (Figura 1; Tabla 1). Las mariposas y polillas comestibles en México se distribuyen en 14 hábitats diferentes a lo largo de todo el país (Figura 2). De las 68 especies comestibles, el 41% se localizan en un único hábitat, mientras que el 9% se consideran generalistas al haberse reportado en 4 hábitats diferentes (Ramos-Elorduy et al., 1998, 2011, 2008; Moreno & Ramos-Elorduy, 2021).

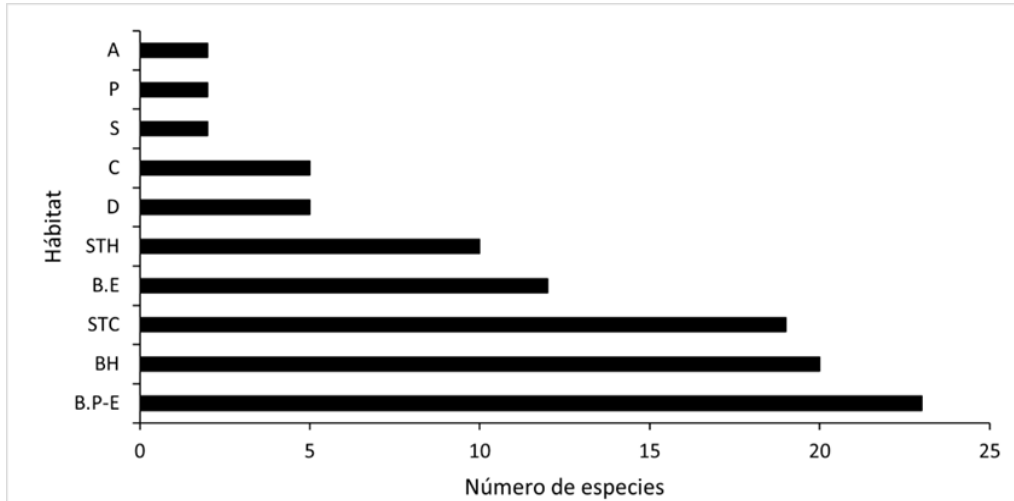


Figura 2. Distribución de los lepidópteros comestibles por tipo de hábitat con base en la literatura consultada y citada. A: Acahual, P: Palmar, S: Sabana, C: cultivo de alfalfa, coliflor, brócoli y maíz, D: Desierto, STH: Selva Tropical Húmeda, BE: Bosque espinoso, STC: Selva Tropical Caducifolia, BH: Bosque húmedo, BPE: Bosque de Pino-Encino. Fuente propia.

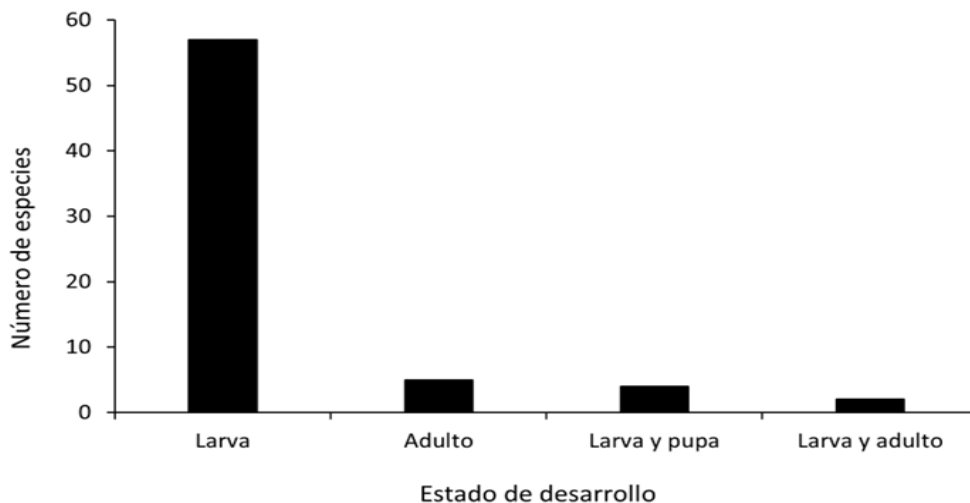


Figura 3. Estado de desarrollo en el cual se consumen los lepidópteros con base en la literatura consultada y citada. Fuente propia

Los pobladores locales consumen estos insectos principalmente es su estado larvario (Figura 3). No obstante, *Acronyctodes mexicanaria*, *Vanessa annabella*, *Vanessa virginiensis* y *Catantixia teutila* se consumen en estado larvario y pupa, mientras que *Manduca sexta* se consume como larva y adulto (Ramos-Elorduy et al., 1998, 2011, 2008).

• **Insectos comestibles como promesa de alimento del futuro**

En la última década se ha planteado que los insectos

podrían constituir uno de los pilares de la alimentación del futuro debido al incremento en la demanda de proteína en la dieta humana y la limitada superficie de tierra disponible para sostener a la ganadería extensiva a nivel mundial (FAO, 2019). En este sentido, Ooninx y Boer (2012) documentaron que los gusanos de harina requieren de aproximadamente el 10% de la tierra que utilizaría su equivalente bovino para producir 1 kg de proteína. Además, los insectos pueden prescindir de grandes



cantidades de agua que requiere el ganado para sobrevivir (Ooninx & de Boer, 2012). Aunado a esto, las poblaciones de insectos crecen rápidamente, por lo que aportan gran cantidad de biomasa en poco tiempo (Premalatha et al., 2011).

Por las características antes descritas, los insectos podrían incorporarse como fuente de proteína en la dieta humana con bajos impactos ecológicos, por lo que pueden contribuir a alcanzar la meta de seguridad alimentaria y vida sana para las generaciones presentes y futuras. No obstante, existen al menos tres aspectos importantes a considerar cuando se piensa en los insectos comestibles como fuente de alimento futuro para la humanidad.

Primero, los insectos comestibles son recolectados de su hábitat natural y son extraídos de sus poblaciones silvestres en escala local y de forma tradicional en la actualidad (Ramos-Elorduy et al., 1998, 2011, 2008; Moreno & Ramos-Elorduy, 2021). Para considerar a los insectos como fuente de alimento a gran escala, se requiere conocer la dinámica poblacional de los insectos comestibles. Del mismo modo, se requiere asegurar suministros continuos y confiables de esos insectos a través de crías masivas y controladas de insectos en cultivos específicos para ello. Lo anterior debe realizarse tomando en consideración los programas de manejo y conservación para preservar sus poblaciones originales en condiciones silvestres. Es importante recordar que los insectos comestibles proveen de servicios ecológicos, incluidos el control de plagas y polinización, además de servir como fuente de alimento para la vida silvestre (insectos depredadores, peces, anfibios, reptiles, aves y mamíferos pequeños/medianos)

(Ramos-Elorduy et al., 1998, 2011, 2008, Premalatha et al., 2011; Moreno & Ramos-Elorduy, 2021). De ahí su importancia en contar con dichos programas de aprovechamiento y conservación.

Segundo, la introducción de insectos en la dieta humana precisa conocer, monitorear y controlar las toxinas, macroorganismos nocivos, virus, parásitos, metales pesados y residuos de plaguicidas que podrían estar presentes en sus cuerpos (van der Fels-Klerx et al., 2018). Lo anterior con fines de producir alimentos sanos y seguros que puedan ser comercializados a gran escala.

Tercero, se requiere un marco normativo y legal que regule los procedimientos de extracción de insectos de las poblaciones silvestres y su incorporación como recurso alimenticio. En México, el marco normativo relacionado con los alimentos incluye; la Ley General de Salud (DOF, 1984), el Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (DOF, 1999), la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009 (DOF, 2009), la Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004 (DOF, 2004), la Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2002 (DOF, 2005) y la Norma Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009 (DOF, 2011). Dicho marco normativo se centra en el control sanitario de alimentos y está restringido a la producción de proteína proveniente de las actividades agropecuarias y de pesca. En contraste la Unión Europea cuenta con un Reglamento 2283/2015 sobre Nuevos Alimentos (DOUE, 2015) y sus Reglamentos de aplicación 2468/2017 (DOUE, 2017a, b) y 2469/2017 (DOUE, 2017a, b) que aclaran y armonizan las normas relativas a los insectos comestibles. Por lo

anterior, en México existe un retraso para incorporar a los insectos comestibles desde una perspectiva legal y requiere ser atendida antes de considerar incorporar a los insectos como parte de la alimentación a gran escala.

**• Uso de lepidópteros como campo emergente de investigación y de su aprovechamiento en la alimentación.**

El conocimiento que se tiene con respecto al uso de lepidópteros como alimento en México constituye una línea base importante para investigaciones futuras relacionadas con la industria alimentaria. Específicamente, las tecnologías y métodos que se han utilizado para generar productos procesados y derivados de chapulines y escarabajos pueden adaptarse y transformarse para poder ser utilizados con mariposas y polillas (Guevara, 2012; Granados et al., 2013; Losada, 2018; Padilla, 2018; Harmina et al., 2020; Tejeda 2021). A esta área de investigación se suma el desarrollo de patentes como tema inherente asociado a la innovación metodológica y tecnológica.

El uso de lepidópteros como fuente de alimento es versátil comparado con otros insectos, ya que se utilizan las especies de mariposas/polillas en distintos estados de desarrollo (larva/pupa/adulto). Esta versatilidad les confiere un potencial único que puede ser aprovechado en investigaciones dirigidas a conocer las características nutricionales asociadas a los distintos estados de desarrollo. De esta forma, el uso de lepidópteros como fuente de alimento se potencializa con base a el aporte nutricional que potencialmente pueda ser utilizado de forma eficiente como fuente primaria de alimentación, o bien como insumo o producto derivado/procesado.

La incorporación de lepidópteros como innovación gastronómica representa un área de oportunidad dirigida a la creación de nuevas experiencias (sabores y texturas) para aquellos consumidores ávidos en explorar alimentos exóticos (Pérez, 2017; Cabrera, 2019; Rangel, 2019).

**4. CONCLUSIONES**

Con base en lo descrito con anterioridad, se reconoce que los lepidópteros constituyen un grupo diverso de insectos con un alto valor nutricional y con una larga trayectoria histórica de uso en la alimentación del pueblo mexicano. Es posible vislumbrar el uso potencial de los lepidópteros como alimento en los próximos años, pero se requiere trabajar en la generación del conocimiento ligado a la historia natural, biología y ecología de las especies, así como en las regulaciones relacionadas con su uso y manejo. Es importante destacar la importancia de contar con estudios que evalúen la seguridad que otorgan los lepidópteros como alimento y la proporción de alérgenos, toxinas, metales pesados, hormonas y residuos de plaguicidas que pudieran tener en sus cuerpos. Paralelamente, el uso de lepidópteros como alimento representa un campo emergente de investigación y aprovechamiento ligado a la versatilidad en su uso (larva/pupa/adulto) y a la diversidad de especies de las que actualmente se conoce su uso como alimento.

**Agradecimientos**

A Christian Franco Crespo y dos revisores anónimos, quienes con sus comentarios mejoraron la presentación del artículo.

**5. REFERENCIAS**



- Akhtar, Y., y Isman, M.B. (2017). 10- Insects as an Alternative Protein Source. In Yada, R.Y. Proteins in food processing (pp. 263-288). Woodhead Publishing.
- Broom, R. (1938). The Pleistocene Anthropoid Apes of South Africa. *Nature*, 142(1), 377-379. <https://doi.org/10.1038/142377a0>
- Cabrera, V.V. (2019). Menú de cinco tiempos a base de insectos comestibles de San Andrés Larráinzar. Tesis. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. México.
- Conconi, J.R-E., y Moreno, J.M.P. (1988). The utilization of insects in the empirical medicine of ancient Mexicans. *Journal of Ethnobiology*, 8(2), 195-202.
- Contreras, A.T.R., Vela, H.A.G., Santos, E.O., y Téllez, M.H. (2012). Patrimonio gastronómico y turismo como estrategias de desarrollo local en la cuenca alta del río Lerma, Toluca-México. *Revista Rosa dos Ventos*, 4(3), 397-415 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=473547090009>
- DOF, (1984). Ley General de Salud. Secretaría de Gobernación. Diario Oficial de la Federación. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4652777&fecha=07/02/1984](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4652777&fecha=07/02/1984)
- DOF, (1999). Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios. Secretaría de Gobernación. Diario Oficial de la Federación. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4952317&fecha=09/08/1999](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4952317&fecha=09/08/1999)
- DOF, (2004). Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004. Secretaría de Gobernación. Diario Oficial de la Federación. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=661587&fecha=18/09/2004](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=661587&fecha=18/09/2004)
- DOF, (2005). NOM-213-SSA1-2002. Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Secretaría de Gobernación. Diario Oficial de la Federación. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=2081721&fecha=11/07/2005](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=2081721&fecha=11/07/2005)
- DOF, (2009). Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Secretaría de Gobernación. Diario Oficial de la Federación. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm>
- DOF, (2011). NOM-242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados, y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. Secretaría de Gobernación. Diario Oficial de la Federación. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5177531&fecha=10/02/2011)
- DOUE, (2015). REGLAMENTO (UE) 2015/2283 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO. relativo a los nuevos alimentos, por el que se modifica el Reglamento (UE) no 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo y se derogan el Reglamento (CE) no 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo y el Reglamento (CE) no 1852/2001 de la Comisión. Diario Oficial de la Unión Europea.
- DOUE, (2017a). REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2017/2468 DE LA COMISIÓN por el que se establecen requisitos administrativos y científicos acerca de los alimentos tradicionales de terceros países de conformidad con el Reglamento (UE) 2015/2283 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a los nuevos alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea.
- DOUE, (2017b). Reglamento de Ejecución (UE) 2017/2469 de la Comisión, de 20 de diciembre de 2017, por el que se establecen los requisitos administrativos y científicos que deben cumplir las solicitudes mencionadas en el artículo 10 del Reglamento (UE) 2015/2283 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a los nuevos alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea.

- FAO, (2019). Seguimiento de los progresos relativos a los indicadores de los ODS relacionados con la alimentación y la agricultura correspondientes a 2020. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. <http://www.fao.org/sdg-progress-report/es/>
- Fray Bernardino de Sahagún, (1988). Historia General de las cosas de la Nueva España. Tomo 2, Cap.XIII, p. 514. Consejo Nacional Para la Cultura y las Artes, Alianza Editorial Mexicana.
- Garduño, L.C. (1993). Gastronomía mazahua y usos prácticos de los alimentos: el caso de El Calvario del Carmen, municipio de San Felipe del Progreso. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- Govorushko, S. (2019). Global status of insects as food and feed source: A review. *Trends Food Science Technology*, 91(1), 436-445. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.032>
- Granados, C.C., Acevedo, D.C., y Guzmán, L.E.C. (2013). Tostado y harina de la hormiga santandereana “*Atta laevigata*”. *Biocología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 68-74.
- Guevara, D.A.S. (2012). Evaluación de larvas de *Rhynchophorus palmarum* L., como materia prima en la elaboración de salchichas tipo vienesa. Tesis. Universidad Estatal Amazónica, Ecuador.
- Hardy, K.; Radini, A.; Buckley, S.; Blasco, R.; Copeland, L. y Francesc, B. (2017). Diet and environment 1.2 million years ago revealed through analysis of dental calculus from Europe’s oldest hominin at Sima del Elefante, Spain. *The Science and Nature*, 104(1-2), 2. <https://doi.org/10.1007/s00114-016-1420-x>
- Hermína, A.M., Santos, F.M., González, S.I.P., Ruíz, E.D. y Mora, I.R.H. (2020). Diseño y formulación de jamón de cerdo enriquecido con harina de chapulín y soja de alto valor proteico. En Gómez, D.A.O. Investigación para el desarrollo empresarial rural (176-190). Red Iberoamericana de Academias de Investigación AC, Xalapa, Veracruz, México.
- Jongema, Y. (2017). List of edible insects of the world. <http://www.wur.nl/en/Expertise-Services/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm>. (Consultada 14 mayo de 2020).
- López-Gómez, J.A., Méndez, R.M., Gómez, L.H., y Gómez, B.G. (2017). Cultural importance of entomofauna in a Tzeltal-Maya community in Chiapas, Mexico. *Estudio de Cultura Maya*, 1, 183-218. <https://doi.org/10.19130/iifl.ecm.2017.50.830>
- Losada, A.P. (2018). Desarrollo de un snack de pan incorporando harina de *Alphitobius diaperinus*. Tesis. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Pública de Navarra. España.
- Mlcek, J., Rop, O., Borkovcova, M., y Bednarova, M. (2014). A comprehensive look at the possibilities of edible insects as food in Europe – A review. *Polish Journal of Food Nutrition Sciences*, 64(3), 147-157. <https://doi.org/10.2478/v10222-012-0099-8>.
- Moreno, J.M.P., y Ramos-Elorduy, J. (2021). Taxonomic analysis of some edible insects from the state of Michoacán, México. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 1-10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.629194>
- Moreno, J.M.P., y Reyes-Prado, H. (2020). Commerce of edible insects in the state of Morelos, Mexico. *Journal of Insect Science*, 20, 1-17. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa106>
- Oonincx, D.G.A.B., y de Boer, I.J.M. (2012). Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans- a life cycle assessment. *PloS One*, 7(12), e51145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051145>
- Padilla, J.P.U. (2018). Evaluación de estabilidad reológica y fisicoquímica de geles proteicos

- aislados de grillo común (*Acheta domestica*) y tratados por altas presiones hidrostáticas. Tesis. Universidad de Valencia, España.
- Peña, Y., y Hernández, L. (2009), Olores y sabores de la cocina hñähñü. Valle del Mezquital. México. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México.
- Pérez, P.E.G. (2017). Patrimonio gastronómico local como elementos de identidad del municipio de Zacualpan, Estado de México. Tesis. Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- Premalatha, M., Abbasi, T., Abbasi, T., y Abbasi, S.A. (2011). Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: the use of edible insects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15, 4357-4360. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.115>
- Ramos-Elorduy, J., Landero-Torres, I., Murguía-González, J., y Pino, J.M. (2008). Biodiversidad antropointomofágica de la región de Zongolica, Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*, 56, 303-316. <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/5526>
- 1 0 . 1 5 5 1 7 / r b t . v 5 6 i 1 . 5 5 2 6
- Ramos-Elorduy, J., y Moreno, J.M.P. (2001). El consumo de insectos entre los lacandones de la comunidad Bethel y su valor nutritivo. *Etnobiología*, 1, 24-43.
- Ramos-Elorduy, J., Moreno, J.M.P., Vázquez, A., Landero, I., Oliva-Rivera, H., y Camacho V.H.M. (2011). Edible Lepidoptera in Mexico: Geographic distribution, ethnicity, economic and nutritional. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 7, 2-22. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-7-2>
- Ramos-Elorduy, J., Pino, J.M., y Correa, S.C. (1998). Insectos comestibles del Estado de México y determinación de su valor nutritivo. *Annales Instituto Biología Universidad Nacional Autónoma de México Ser Zool*, 69, 65-104.
- Rangel, J.S.B. (2019). Caracterización nutricional de las especies de hormiga culona (*Atta laevigata*) el gusano mojoy (*Ancognatha scarabaeoides*) y la del grillo común (*Acheta domestica*), en el Departamento de Santander para su implementación en preparaciones gastronómicas. Tesis. Universidad Autónoma de Bucaramanga, Colombia.
- Román, G.M., Salazar, B.Q., Rostrol, B.R., y Olguín-Arredondo, H.A. (2011). La recolección de insectos con fines alimenticios en la zona turística de Otumba y Teotihuacán, Estado de México. *Pasos Revista de Turismo y Patrimonio Cultural* 9(1), 81-100.
- Rumpold, B.A., y Schlüter, O.K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57, (5), 802-823. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200735>
- Santos-Fita, D., Sánchez-Salinas, S., Jiménez, A.F., y Costa-Neto, E.M. (2006). Etnoentomología en el municipio de San Antonio Cuaxomulco, Tlaxcala, México: un estudio de caso sobre los diferentes usos que se le dan a los "insectos". *Sitientibus Série Ciências Biológicas*, 6 (Etnobiología), 72-79.
- Soto, V.I., Maldonado, P.A., y Velázquez, T.L.A. (2008). Estrategia de desarrollo sustentable para generar alimento y empleo: el gusano cuchamá en Zapotitlán de Salinas, Puebla, México. *Argumentos (Mex)* 21(56), 119-135.
- Tejeda, V.E.B. (2021). Desarrollo de una salchicha más sostenible con sustitución de carne de res por harina de grillo (*Acheta domestica*). Tesis. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras.
- van der Fels-Klerx, H.J., Camenzuli, L., Belluco, S., Mijer, N., y Ricci, A. (2018). Food safety issues related to uses of insets for feeds and foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 1172-1183. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12385>

**Perfiles aromáticos de aceites esenciales de cuatro variedades de albahaca en taiwán y estudio preliminar de su sensación aromaterapéutica**

**Aroma profiles of essential oils of four basil varieties in taiwan, and the preliminary study of their aromatherapeutic sensation**

Yun-Ju Lu<sup>1</sup>; Chih-Ho Tai<sup>2</sup>; Roberto Andrés Alcívar Espín<sup>23\*</sup>

<sup>1</sup>ChingKuoInstituteofManagementandHealth,333FuHsinRd.,Keelung,Taiwan.

<sup>2</sup>National Taiwan University, Taipei 10617, Taiwan.

<sup>3</sup>Escuela Politécnica Nacional, Quito 170517, Ecuador.

\*Autor para correspondencia: Telf de contacto: (+593) 2976300; email: roberto.alcivar@epn.edu.ec

**Resumen**

La albahaca dulce (*Ocimum basilicum* L.), la albahaca verde (*Ocimum basilicum* L. cv. green), la albahaca morada (*Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens*) y la albahaca clavo (*Ocimum gratissimum* L.) presentan fragancias similares lo que ha ocasionado que las personas en general las consideren como la misma planta a pesar de que desde su taxonomía se establecen diferencias. Sin embargo, son ligeramente diferentes, al igual que sus aceites esenciales. Este estudio identifica las diferencias entre estos cuatro tipos de plantas en dos aspectos: primero, sus composiciones químicas; y segundo, su aroma. Los aceites esenciales de estos cuatro tipos de plantas se extrajeron mediante destilación al vapor. Los componentes de los aceites esenciales se analizaron y compararon mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS). Profesionales en aromaterapia también evaluaron los aceites esenciales en su aroma y llenaron un cuestionario de preguntas cerradas. El resultado muestra que la albahaca verde y la albahaca morada son muy similares en términos de composición química y olor y pueden considerarse la misma planta; el methyl chavicol es el principal componente presente entre sus aceites esenciales. Mientras tanto, la albahaca dulce, la albahaca verde, la albahaca morada y la albahaca clavo presentan en general diferentes componentes químicos y en algunos casos presentan componentes químicos similares que varían en el porcentaje de peso de sus aceites esenciales.

**Palabras clave:** *Ocimum basilicum*, *Ocimum gratissimum*, albahaca, aceites esenciales, GC-MS, composición química.

## **Abstract**

Sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), green basil (*Ocimum basilicum* L. cv. green), purple basil (*Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens*), and clove basil (*Ocimum gratissimum* L.) smell similarly and have been taken as the same plant by many for a long time. However, they are slightly different, and so are their essential oils. This study identifies the differences between these four types of plants in two aspects: first, their chemical compositions, and second, their aroma. Essential oils of these four types of plants are extracted by steam distillation. The components of the essential oils were analysed and compared using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Aromatherapists also evaluated the essential oils on their aroma and filled out a questionnaire of closed-ended questions. The result shows that green basil and purple basil are very similar in chemical composition and smell and can be considered the same plant; methyl chavicol is the main component present in its essential oils. Meanwhile, sweet basil, green basil, purple basil and clove basil generally have different chemical components and, in some cases, have similar chemical components that vary in the weight percentage of their essential oils.

**Keywords:** *Ocimum basilicum*, *Ocimum gratissimum*, basil, essential oils, GC-MS, chemical composition.

## 1. INTRODUCTION

The genus *Ocimum*, or its common name basil, is one of the most abundant genera of the Lamiaceae family (Sajjadi, 2006). Many cultivars of basil, which vary in size, colour and aroma are used as culinary or medicinal herbs (Dudai et al., 2020; Morales & Simon, 1996; Simon et al., 1999). The basil that is commonly used as a flavour is typically known as sweet basil, for example, in the Italian dish pesto (Formisano et al., 2021). In Taiwan, basil is a widely used herb. It is one of the essential spices in traditional cuisine (Erway, 2015). In kitchens, basil is also used for medicinal purposes and its essential oils (Evans, 1996; Patel et al., 2018). For example, Taiwan has seen the rise of growing herbs to extract essential oils; however, most farms lack understanding and experience in extracting essential oils (Zhang et al., 2010). After extraction, the content of the essential oils and their chemical composition might affect their usage (Ali et al., 2015). Thus, it is imperative to clarify the contents of those essential oils. Under the influence of planting conditions and environmental factors, the same type of plants growing in different places will have a varying chemical composition (Khalid, 2006; Da Silva et al., 2021).

In 5000 B.C., Indian discover a type of basil with a luxurious scent. They treated this plant as the avatar of the goddess Tulsi, and named that plant as such. The locals treated this basil as the god of grass and used it in the worship of their god Vishnu. They also use it in traditional Indian medicine Ayurveda (Javanmardi et al., 2002). Three thousand years ago, the Egyptian queen Cleopatra used essential oils for skin care and gave her body a pleasant

scent. It is known that the smell of essential oils can affect someone's mind and feelings (Oumeish, 2001). In 1922, when the tomb of Egyptian pharaoh Tutankhamun was excavated, archaeologists learned that the Egyptians used galbanum, cinnamon, frankincense and cedar to preserve the bodies. Today's science confirmed that mummies, after almost three thousand years, show the remarkable antimicrobial properties of essential oils (Balasubramanian, 2015). Ayurveda, which has been practised continuously in India for nearly five thousand years, also describes the many uses of aromatic plants for religious and medical purposes (Mukherjee et al., 2012). In 1910 scientist René-Maurice Gattefossé accidentally burned his hand in a laboratory experiment, and there happened to be lavender oil nearby. He immediately put his hand into it. He felt his pain relieved, and his wound recovered well without a scar (Gattefossé, 2012). René-Maurice Gattefossé conducted experiments in military hospitals during World War I (1914-1918) and began describing aromatherapy in 1928 as a branch of science and therapeutics (Micozzi, 2018). Through Gattefossé, it is proven the effect of essential oils based on scientific evidence. Besides the effect on the physical body, basil also shows successful clinical practice on long-term psychiatric patients. In 1923 Gatti and Cajola noted that odours produced an immediate effect on the central nervous system, releasing patients' memories and emotions, proving the effect of essential oils on psychology treatment (Agatonovic-Kustrin et al., 2020; Valnet, 2012). The essential oils are usually used to suppress bacteria (Karapinar & Aktuğ, 1987), to boost the spirit (Juergens et al., 2003), to soothe lungs (Xu & Huang, 2007; Fan



et al., 2015) and for relax the mind (Javanmardi et al., 2002).

The name basil can trace its origin to the Greek *basileus*, which means 'king' (Singletary, 2018). The great English herbalist John Parkinson mentioned that the taste of basil is so good that it is very suitable for being used in the palace. The main herb of the bathing gel used by some ancient royal family in Italy is called 'the king of herbs' (Davis, 1995). Due to inter-specific hybridisation and adaptation to the environment, various subspecies/varieties/forms of basils exist and have similar appearance and chemotype. This hybridisation causes some problems in the classification of basil, as it is difficult to understand the heredity relation of basil (Grayer et al., 1996). Burzo and Mihaiescu (2005) show that different species and types have a different appearances and differ physiologically and chemically. Sweet basil, green basil, purple basil, and clove basil are entirely different in appearance and taxonomical classification, but the general public usually mix up these plants. Chuang (2008) used a molecular marker to decode the DNA of basils and pointed out that basils in Taiwan have considerable differences with species from overseas and speculates that it is caused by geographical isolation. Usually, basils are classified based on appearance or their chemical component. However, the planting environment and geographical conditions affect these two classification methods. Besides that, hybridisation has created significant confusion in the botanical systematics of the *Ocimum* genus (Vieira & Simon, 2006). Therefore, it is essential to consider the origin of the plant to overcome the problem of differences caused by the adaptation ability

of Lamiaceae.

The International Journal of Herbs in 2002 clearly defines the scientific name for sweet basil, green basil and purple basil. They are under the same family and genus (Mondello et al., 2002; Sajjadi, 2006). The general public tends to confuse the different basil plants mentioned, but they have different morphology. The leaves of sweet basil are oval and thicker when compared to green and purple basil. The green and purple basil leaves are sharper, thinner, and feel like paper. Green basil and purple basil have different stem colours, but green leaves. Clove basil, on the other hand, although from the same family Lamiaceae, is very different from that of sweet basil, green and purple basil. Clove basil and the other three types of basils have different applications. The previous basils are used in cooking because of their distinctive smell, while clove basil is usually used for liver maintenance in health care (Hung, 2006; Lin et al., 1993). In culinary, sweet basil is the one that is used to make Italian sauce, pesto. Sweet basil has a lighter flavour and is suitable with lighter flavour ingredients. If green or purple basil is used, it would taste like grass and has a much stronger taste (Hsu, 2013).

There are several commonly seen methods of extraction of essential oils, such as hydro-distillation (HD), solvent-free microwave extraction (SFME), microwave-assisted hydro-distillation (MAHD), steam distillation, solvent extraction, supercritical fluid extraction (Chenni et al., 2016; Da Silva et al., 2021; Tran et al., 2018). In the Early Middle Ages of Europe, towns mainly used the steam distillation method to produce perfumes,

medical products, and alcohol, and advances in technology developed distillation equipment with different materials such as bronze and stainless steel (Kockmann, 2014). This method is currently widespread, and high-quality equipment can be easily obtained. Using the temperature and pressure of steam to destroy the oils capsules of the plant speeds up the release of essential oils by plants, both water-soluble and lipid-soluble components. In this way, two types of organic material can exist in the crude extract simultaneously to obtain complete essential oil extracts. The solvent extraction method uses an organic solvent to dissolve plant tissue. Many types of research on basil, sweet basil and clove basil also use this method (Ashish et al., 2021; Khater, 2020; Ciotea et al., 2021).

As extraction temperature cannot exceed 40°C, the essential oils are not affected by high temperature. It will not deteriorate quickly, but the polarity, boiling point and safety must be considered. Essential oils labelled 'absolute' in the market are produced by immersing plants in a volatile solvent such as petroleum ether or hexane to shift the aroma ingredient (Yih et al., 2014). However, this method is susceptible to solvent residue and might affect the extraction quality. If there are no specific needs, this method is not commonly used in the market and research, and this method also cannot obtain herbal distillate, and cannot obtain a total crude extract, thus does not meet the requirement of this research. The supercritical fluid extraction (SFE) method uses carbon dioxide as a medium of extraction, adjusting the temperature and pressure to a supercritical condition. The supercritical fluid phase is between the gas phase and

liquid phase, the viscosity of the fluid is nearer to that of gas and its density nearer to that of liquid; the essential oils are dissolved out of the plant under this high pressure. The SFE with carbon dioxide method takes a shorter time, and there is no chemical reaction between solvent and essential oils. The whole process is carried out at a low temperature and is suitable for essential oils components that are unstable at high temperatures. However, the disadvantage is the need for large equipment and high cost, and this is only used to extract precious essential oils (Yih et al., 2014; Arranz et al., 2015). This method cannot harvest liquid crude extract; it cannot obtain the water-soluble component, thus unable to analyse the fundamental elements. Comparing the mentioned methods, solvent extraction and supercritical fluid extraction method can only extract lipid-soluble essential oils components, but not water-soluble components. The solvent extraction method might have an incomplete solvent reaction, and solvent residue in the oil extract, plus these two methods easily cause incomplete oil extract. Therefore, steam distillation, the commonly used technique to harvest complete crude extract, is used. This distillation ensures that the complete lipid-soluble and water-soluble essential oil component is obtained (Arumugham et al., 2021).

This study aims to investigate the components of four types of basils commonly found in Taiwan: *Ocimum basilicum* L. widely known as sweet basil; *Ocimum basilicum* L. cv. green known as green basil; *Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* known as purple basil; and *Ocimum gratissimum* L. known as clove basil. The general public usually cannot tell the

differences between these basil species and consider them the same species. However, they are different, and so are their essential oils (Hussain et al., 2008; Patel et al., 2016). For this study, the plants are carefully selected, and their flowers and leaves are carefully harvested to be analysed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Furthermore, the essential oils of the four types of plants are evaluated by experienced aromatherapists through a questionnaire of closed-ended questions. The questionnaire is designed based on the results of GC-MS. This study aims to describe and give a further understanding of the chemical content of basil species and hopes to guide the use of basil species in aromatherapy. The structure of the paper is as follows. In Section 2, we present the materials and methods. Then, in Section 3, the results and discussions. Finally, conclusions are drawn in Section 4.

## **2. MATERIALS AND METHODS**

Before the experiment, a pre-experiment is carried out to observe and record distillation time, heating temperature, and the changes in the amount of extract. The plant used in pre-experiment is purchased readily for distillation. The essential oils obtained are analysed using GC-MS (Adams, 2007; Muráriková et al., 2017; Sacchetti et al., 2005). The distillation time to get the extract for each plant is obtained, and the extract is analysed. After the analysis, the optimum condition for extraction and the hypotheses of aroma evaluation is proposed. Based on the observed optimum condition in the pre-experiment, a second distillation is carried out using plants from the exact origin, and the extract is analysed using GC-MS. Finally, a questionnaire is designed using the proposed hypotheses

and evaluated by experienced aromatherapists to differentiate the four types of basil species.

### **2.1 Plant material for pre-experiment**

Before the distillation, four types of readily available plants are purchased to carry out the pre-experiment to define the optimum distillation time and heating temperature. The purchase of the plants was made in the following places: for sweet basil in Changhua Fanwa Farm (address: No.185, Douyuan Road, Ren'ai Village, Fangyuan Township, Changhua County); for green basil in Miaoli's herbs planting farmer; for purple basil and clove basil in Jinfutian Organic Farm (address: No.2, Lane 795, Dongkeng Road, Dongshi District, Taichung City). The harvesting part used for distillation is the flowers and leaves with two kilograms for each plant. First, dust and dirt are washed off the gathered flowers and leaves. Then they are dried in the shade for 12 hours to remove surface water.

### **2.2 Plant material for the experiment**

Four types of plants planted in the same place are extracted under the optimum condition in the experiment. The source of seeds and plants are from merchants who previously worked with research units or experts, to make sure the herbs are of the right species. Organic farms planting herbs provide three types of plants in seeds, and one type of plant in angiosperms, to make sure the origin of the species are correct. The sweet basil angiosperm was obtained from Tangshan Herb (address: No. 36, Chungwen 3rd Street, Puli Township, Nantou County). The clove and purple basil seeds were obtained from

Jinfutian Organic Farm (address: No.2, Alley 795, Dongkeng Rd., Dongshi Dist., Taichung City). The seeds of green basil were obtained from House of Vegetables (address: No.233-1, Section 2, Hecuo Road, Hemei Township, Changhua County). Then, the four types of plants are planted in Tainan City in Taiwan for three months. The number of sweet basil's angiosperms is increased by cutting. Approximately 10-15 cm of the stems are cut and are placed in a bottle filled with tap water. After nearly ten days, the grown roots are moved to small pots containing soil. The plant is sufficiently watered every day. Plants are transferred to larger containers when grown to approximately 15 centimetres tall. Sweet basil, green, purple, and clove basil take around 1 to 1.5 months to blossom. Then, the flowers and leaves are harvested for distillation. The plants were harvested, ensuring that the previous ten-day had not rained to avoid the essential oils being flushed away by rain. The flowers and leaves collected for the experiment are directly distilled without washing and drying. The plants are extracted on the same day they are harvested.

### **2.3 Extraction method**

As essential oils contain both water-soluble and lipid-soluble components, it is crucial to retain the original elements as possible. Therefore, a pre-experiment is carried out to determine the relationship between distillation time and heating temperature and the content of the extract. The result of the pre-experiment is used to determine the optimum distillation time and heating temperature for extraction. At the same time, the result of the pre-experiment is also used to propose five hypotheses for the aroma evaluation. This research

uses distillation equipment commonly found in the market. The Taishan's TS003-10L, all 304 stainless steel material made in Taiwan, is used. Two kilograms of freshly harvested flowers and leaves are weighed and distillate in pre-experiment, while three kilograms are used in the experiment, corresponding to the second distillation. Each distillation lasts for three hours in the pre-experiment, and the essential oils are collected every hour. The amount of essential oils is observed to decide the optimum distillation condition for the experiment. After pre-experiment, a second distillation is carried out using the optimum condition based on observations of the pre-experiment. Both distillations are in pre-experiment, and the experiment is carried out using the same equipment. The same method is used to extract essential oils in both the first and second distillation. The distiller is sterilised before distillation. An induction stove is prepared—the duration and temperature of the distillation set. Five litres of distilled water is added to the distiller. Flowers and leaves are weighed and placed on the separation rack, and the distiller is covered with its lid. The separation rack separates the flowers and leaves from the distilled water to be heated uniformly. For the first thirty minutes, the distiller is heated to a temperature of two hundred Celsius (200°C) and maintained at that temperature. After that, the essential oils start to flow out, and the temperature is maintained at a lower temperature to prevent overheating. The flowers and leaves are heated for three hours in the pre-experiment, and their essential oils are collected every hour.

### **2.4 Gas chromatography-mass spectrometry analysis**



The collected essential oils are diluted 1000 times with ethyl acetate (EA). Then, it is analysed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). GC-MS is carried out using Shimadzu's GC-2010 with a GCMS-QP2010 detector and an AOC-20i injector, fitted with a GL Sciences' InertCap-5MS/NP column (0.25 mm I.D. x 30 m,  $df = 0.25 \mu\text{m}$ ). 1.5 mL of the diluted essential oils are filled into sample bottles. They are placed accordingly onto a rotating tray for elution. The pressure of the tank is set between 0.7-0.8 MPa. Then, the GC-MS and computer are switched on accordingly. The results obtained from GC-MS analysis are examined and compared with the ISO Standards.

### **2.5 Aromatherapy evaluation**

According to the data obtained from GC-MS analysis in the pre-experiment, five hypotheses are proposed to construct the essential oils aroma evaluation form filled by experienced aromatherapists. Thirty female aromatherapists, aged between 26 and 30, with more than four years of experience in aromatherapy, are invited to evaluate the aroma of the essential oils extracted. The essential oils are filled into labelled spray bottles. The bottles are shaken before spraying, and they are sprayed at an angle of  $45^\circ$  and a distance of 30 centimetres away from the face of the aromatherapist. In between each spraying, aromatherapists inhale coffee beans to clear the scent left in the nostril and breath, usually for 20 seconds. All aromatherapists then mark every five hypotheses in the evaluation form based on the aroma of the essential oils and their feeling after inhaling. Each hypothesis is rated on a numeric scale of 1 through

5, with one being strongly disagreed and five strongly agree. Thus, with 30 aromatherapists, each hypothesis has the highest score of 150, which is also a perfect score. The ratings given by all 30 aromatherapists are summed to obtain a single actual score. The supporting ratio is obtained by dividing the actual score by the highest score.

### **3. RESULTS AND DISCUSSION**

Pre-experiment is carried out using two kilograms of flowers and leaves in five litres of distilled water to observe the relationship between duration of distillation, heating temperature, and amount of crude extract harvested. The pre-experiment shows that the optimum time and temperature for extraction are increased to  $200^\circ\text{C}$  for the first 30 minutes and decreased to and controlled at  $160^\circ\text{C}$  for the next 30 minutes. The plants turn brown after heating. At this condition, the essential oils are maintained at a constant flow. This prevents overheating and the distilled water from evaporating too quickly. However, the high temperature will destroy the components of essential oils. If it is heated at a temperature lower than  $160^\circ\text{C}$ , the flow of essential oils is obstructed, and the plants remain freshly green after extraction, which means the essential oils are not thoroughly extracted. Table 1 and Table 2 show that extract collected after 2 and 3 hours of distillation for sweet basil shows incomplete components. This also means that most elements can be obtained with a distillation of 1 hour. For green basil, it is found that although the amount of methyl chavicol increases with distillation time, the loss of components also increases. The main components of purple basil increase with distillation time; however, the content of other elements decreases

As for clove basil, its main components start to slip away after 1 hour. The yield for purple basil and clove basil is highest within 2 hours, while sweet basil and green basil have the highest return within 1 hour. All four types of basil are completely extracted within 2 hours through the steam distillation method. As the aim of distillation in this research is to obtain essential oils in their most complete form possible, it is decided that 1 hour is the distillation time for all basil in this research.

Weight of flowers and leaves (kg)	Distilled water (L)	Temperature condition	Amount of extract (L)			
			Sweet basil	Green basil	Purple basil	Clove basil
2	5	200°C throughout	3.5	3.7	3.5	3.6
2	5	First 30 minutes: 200°C Last 30 minutes: 180°C	2.6	2.5	2.4	2.6
2	5	First 30 minutes: 200°C Last 30 minutes: 160°C	1.5	1.5	1.5	1.5

Table 1. Temperature condition and extract collected after 3 hours in the pre-experiment

Compound	Molecular weight (g/mol)	Hour	Composition (%)			
			Sweet basil	Green basil	Purple basil	Clove basil
Eucalyptol (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O)	154.25	First	7.69	1.01		
		Second	0.59	0.06		
		Third				
Linalool (C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O)	154.25	First	39.54			
		Second	1.24			
		Third				
Eugenol (C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> )	164.204	First	47.89	2.29		86.05
		Second	1.02	1.01		73.58
		Third				63.98
Methyl chavicol (C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O)	148.2	First		96.70	95.95	
		Second		98.30	97.23	
		Third			100.00	
β-Ocimene (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )	136.23	First			2.05	
		Second			0.00	
		Third			0.00	
α-Bergamotene (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	204.35	First			2.00	
		Second			2.77	
		Third			0.00	
cis-Ocimene (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )	136.24	First				3.56
		Second				3.42
		Third				0.00
Copaene (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	204.36	First				0.00
		Second				4.46
		Third				4.26
B-Caryophyllene (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	204.36	First				3.25
		Second				4.64
		Third				6.71
Germacrene D (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	204.35	First				7.14
		Second				13.90
		Third				22.85
δ-Cadinene (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	204.35	First				0.00
		Second				0.00
		Third				2.20

Table 2. Results of GC-MS analysis in the pre-experiment



Table 3 shows the results obtained by steam distillation of the four types of basil at the conditions determined from the pre-experiment, heating to 200°C for the first 30 minutes and maintaining at 160°C for the next 30

minutes. Results of GC-MS analysis are shown in Table 4, and the mass spectrum of sweet basil, green basil, purple basil and clove basil are shown in Figures 1 to 4, respectively.

Weight of flowers and leaves (kg)	Distilled water (L)	Temperature	Amount of extract after 1 hour (L)			
			Sweet basil	Green basil	Purple basil	Clove basil
3	5	First 30 min: 200°C Last 30 min: 160°C	0.5	0.5	0.5	0.5

Table 3. Extract collected from sweet basil, green, purple and clove basil after 1 hour in the second distillation

Compound name	Composition (%)			
	Sweet basil	Green basil	Purple basil	Clove basil
Eucalyptol	8.86	2.73		
Linalool	40.01		0.70	
Methyl chavicol	0.21	93.72	94.32	
Camphor	0.25			
Bornyl alcohol	0.93			
$\alpha$ -Terpineol	1.84			
Eugenol	46.72	3.08		83.41
$\alpha$ -Bergamotene	0.60	0.47	2.13	
Muurolol	0.58			
$\beta$ -Ocimene			2.85	
cis-Ocimene				6.31
$\beta$ -Caryophyllene				2.66
Germacrene D				7.62

Table 4. Results of GC-MS showing percentage composition of essential oils in the second distillation

Sweet basil's essential oils are mainly eucalyptol, linalool, and eugenol, while other trace components such as camphor and muurolol help regulate its aroma. Trace component  $\alpha$ -bergamotene gives sweet basil extra orangey scent and works well with the main component eucalyptol to offers a fresh, energetic blend. From GC-MS data, it is known that the component of sweet basil is very diverse. It is composed of many trace components that coordinate the overall aroma and is also widely accepted. Green basil's main component, methyl chavicol, constitutes more than 93% of its essential oils. The scent of trace component bergamotene eases the irritation brought by the main component. The main elements of sweet

basil, eucalyptol, and eugenol, are also found in green basil, with a difference in content. Both these ingredients increase the fresh and lively aroma of green basil. Purple basil has the same main component as green basil. Methyl chavicol constitutes more than 94% of its essential oils. The same trace component bergamotene is also found in purple basil, which slows down the irritation brought by the main component. The other component linalool gives purple basil's essential oils a sense of calmness. Results show that clove basil has different elements from the other three basil. Although it has the same main component eugenol, as sweet basil, its amount is much higher than that in sweet basil, other trace

components found in clove basil combined as the ingredient which soothes the lungs.

From Figure 5, it is confirmed that the main components of green basil and purple basil are almost the same.

While green basil and sweet basil have a lot of shared components, they are very different in amount, which means there is little correlation between the two. Clove basil and sweet basil have only one component in common. Other components found in sweet basil are

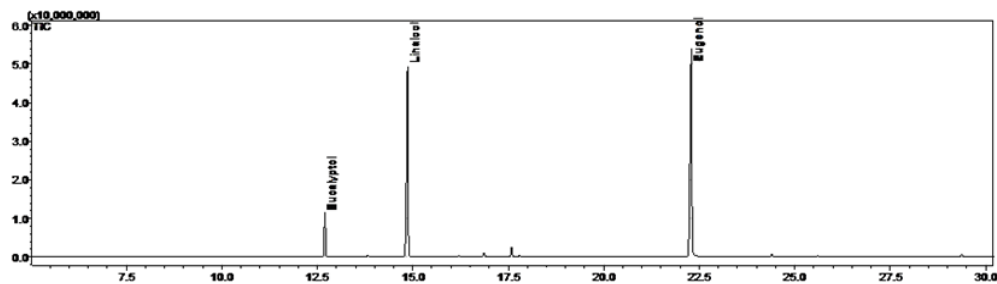


Figure 1. Mass spectrum of sweet basil

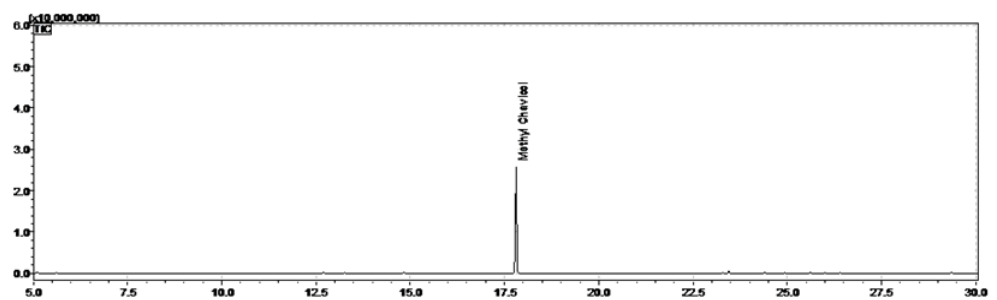


Figure 2. Mass spectrum of green basil

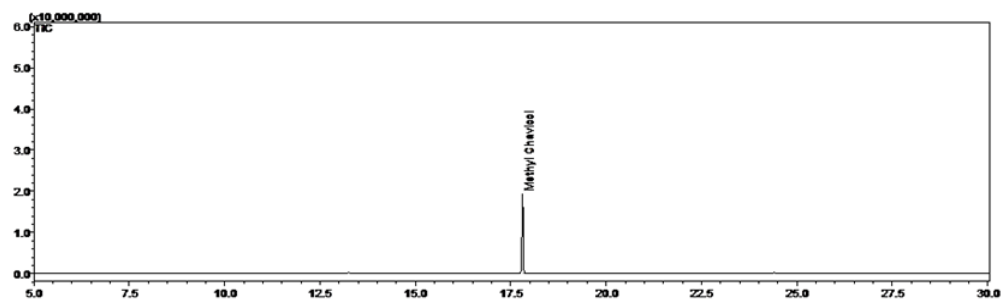


Figure 3. Mass spectrum of purple basil

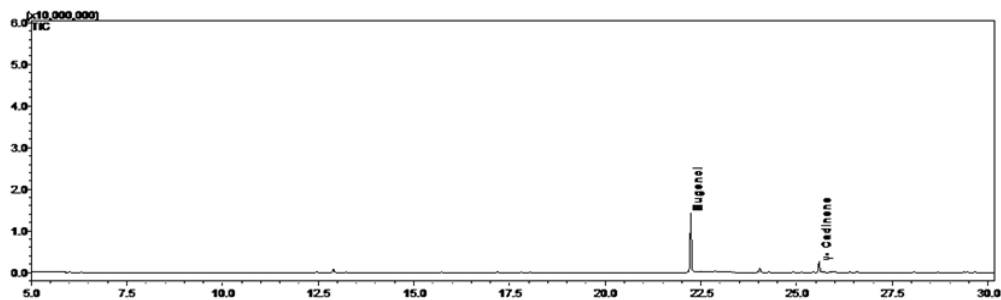


Figure 4. Mass spectrum of clove basil

not found in clove basil. From the perspective of the analysis of the components of essential oils, it is shown that green and purple basil, sweet basil and clove basil are different type of plants. Although the retention times of eugenol of different basil are slightly different, from Figure 6, it is clearly shown

that both eugenols found in sweet basil and clove basil are the same. Table 5 shows a vast difference in the content of green and purple basil with sweet basil and clove basil, which further indicates that these basils are different from the components of their essential oils.

Main component	Retention time (s)	Content (%)			
		Sweet basil	Green basil	Purple basil	Clove basil
Eucalyptol	12.70	8.68	2.73	0.00	0.00
Linalool	14.86	40.10	0.00	0.70	0.00
Methyl chavicol	17.80	0.21	93.72	94.32	0.00
Eugenol	22.29	46.72	3.08	0.00	83.41

Table 5. The content of principal components in four types of basils

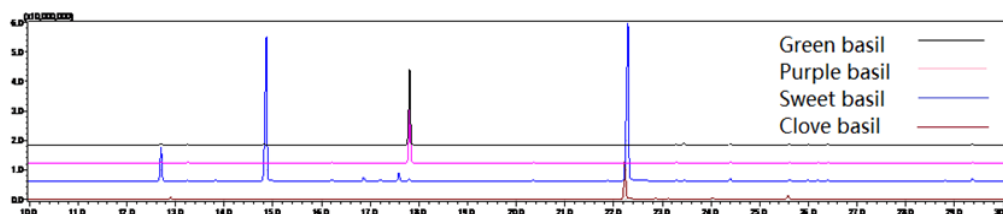


Figure 5. Comparison of GC-MS analysis of essential oils of four types of basil

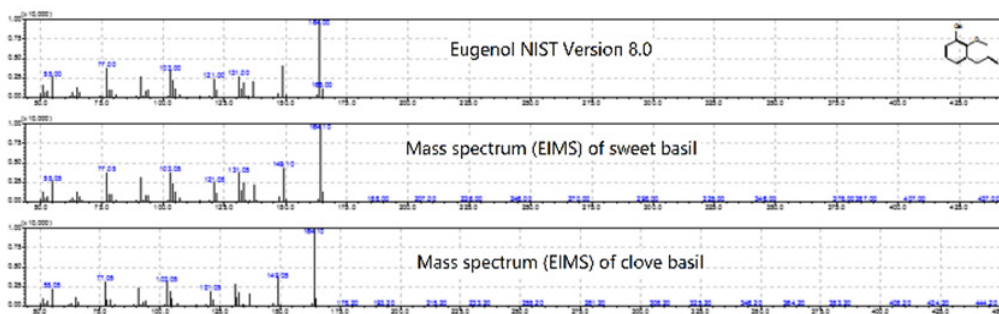


Figure 6. Mass spectrum of eugenol in sweet basil and clove basil

From Figure 5, it is confirmed that the main components of green basil and purple basil are almost the same. While green basil and sweet basil have a lot of shared components, they are very different in amount, which means there is little correlation between the two. Clove basil and sweet basil have only one component in common. Other components found in sweet basil are not found in clove basil. From the perspective of the analysis of the components of essential oils, it is shown that green and purple basil, sweet basil and clove

basil are different type of plants. Although the retention times of eugenol of different basil are slightly different, from Figure 6, it is clearly shown that both eugenols found in sweet basil and clove basil are the same. Table 5 shows a vast difference in the content of green and purple basil with sweet basil and clove basil, which further indicates that these basils are different from the components of their essential oils.

Table 6 shows the comparison of GC-MS results with ISO Standard. It is

observed that the components that appeared in the analysis results are also found in the ISO Standard (International Organization for Standardization [ISO], 1998). This reflects that the source of plants, extraction method and analysis method in this research are reliable, and the results are credible and can be used as a reference for aromatherapy and other related applications. Results of GC-MS analysis show that the main components of the essential oils of sweet basil, green basil, purple basil and clove basil are different. The main component of green basil and purple basil's essential oils is methyl chavicol, which constitutes 93.72% and 94.32%, respectively. Mass spectrometry shows that the retention time for both the main components of green basil and pur

time of 22.29 seconds represents 46.72%. Sweet basil also contains a trace amount of methyl chavicol, at 0.21%. The main component of clove basil's essential oils is eugenol, which takes up 83.41% of all compounds, with a retention time of 22.29 seconds. Besides that, clove basil has a higher eugenol content than sweet basil.

Summarising the uses of the four types of basil and the results of GC-MS, five hypotheses for aroma evaluation by aromatherapists can be proposed.

- Hypothesis A: Since there is no distinction between green and purple basil in cooking, green basil and purple basil are considered the same plant and have the same components.

Component	Minimum (%)*	Maximum (%)*	Content (%)			
			Sweet basil	Green basil	Purple basil	Clove basil
Eucalyptol (1,8-cineole)*	1.00	3.50	8.68	2.73		
trans-Ocimene*	0.90	2.80			2.85	6.31
Camphor*	0.15	0.80	0.25			
Linalool*	0.50	3.00	40.10		2.13	
Terpinen-4-ol*	0.20	0.60	1.84			
Methyl chavicol*	75.00	87.00	0.21	93.72	94.32	
Eugenol*	0.30	2.50	46.72	3.08		83.41
Bornyl alcohol			0.93			
$\alpha$ -Bergamotene			0.60	0.47	0.70	
Muurolol			0.58			
$\beta$ -Caryophyllene						2.66
Germacrene D						7.62

\*NOTE: From chromatographic profile ISO 11043:1998(E). The chromatographic profile is normative, contrary to typical chromatograms given for information.

Table 6. Comparison of GC-MS results with ISO Standard

ple basil are the same, which is 17.80 seconds, and they are the same compound. Moreover, both sweet basil and green basil have eucalyptol and eugenol, but green basil has a lower content. There are three main components in sweet basil: eucalyptol with a retention time of 12.70 seconds constitutes 8.68%, linalool with a retention time of 14.86 seconds constitutes 40.10%, and eugenol with a retention

- Hypothesis B: If green and purple basil are categorised as the same plant, and sweet basil and clove basil are used differently, green basil and purple basil are considered a different plant with sweet basil and clove basil according to their aroma.
- Hypothesis C: As pesto made from sweet basil is regarded with great favour by the general public;

- thus, the aroma of sweet basil extract is widely favoured by the general public.
- Hypothesis D: There is much literature related to the antimicrobial property, lungs soothing effect, and immunity-boosting properties of clove basil in the Asia region; therefore, aromatherapists feel comfortable in their lungs after inhaling clove basil's essential oil.
  - Hypothesis E: Since the scent of sweet basil is favoured by the general public, then the component of sweet basil's essential oil gave a feeling of happiness and relaxation after inhaling.

Thirty questionnaires were distributed and collected. The questionnaire is shown in Appendix A. Results in Table 7 support these research hypotheses positively. Among 30 aromatherapists, 26 support all five hypotheses in this evaluation. Hypotheses A and B received the highest supporting ratio, with 90% and above acceptance. 29 out of 30 aromatherapists prefer the

aroma of sweet basils among all four essential oils. Only one aromatherapist does not particularly favour its aroma. Twenty-eight aromatherapists find that inhaling clove basil's essential oils soothes their lungs, and 29 aromatherapists find that inhaling sweet basil's essential oils gives a sense of happiness and relaxation. This aroma evaluation shows that more than 90% of all the aromatherapists in this evaluation think that green basil and purple basil have the same essential oils components. Higher content of methyl chavicol is not favoured in the aroma evaluation. Most aromatherapists decide that sweet basil, green and purple basil, and clove basil are different plants with different essential oils components. Components of sweet basil are more diverse, have higher support, and are highly favoured by the general public. Most aromatherapists also agree that the aroma of sweet basil helps relax the body and mind. Aromatherapists also think that inhaling clove basil's essential oils can soothe the lungs.

Hypothesis	Scale					Supporting ratio
	1	2	3	4	5	
A	0	0	0	15	15	0.90
B	0	0	0	12	18	0.92
C	0	0	1	18	11	0.87
D	0	0	2	13	15	0.89
E	0	0	1	16	13	0.88

Table 7. Results of aroma evaluation

#### 4. CONCLUSIONS

From the chemical components of essential oils of the four types of basil analysed, it is found that they have similar chemical elements and similar content compared to ISO 11043:1998(E) Standards. Many kinds of research state that clove basil is a valuable plant, and it is confirmed that its essential oils

contain high levels of eugenol (83.41%), and it is used to soothe the lungs. Further research should clarify the properties of the plant and its medicinal value. Analysis data shows that green basil and sweet basil share some components such as eucalyptol, methyl chavicol, eugenol and  $\alpha$ -bergamotene. It is suggested that they are



related, and further research is required to find out more evidence about them. Green basil and purple basil can be considered the same plant from their essential oils because they share a high amount of methyl chavicol (93.72% and 94.32%, respectively). Sweet basil, green, purple, and clove basil are easily confused by the general public. This research confirmed that these basil appear differently in the aroma of their essential oils. The component of sweet basil is more diverse than that of the other basil. Its aroma is also relatively gentler and less pungent; therefore, it is generally more acceptable and commonly used in cooking and aromatherapy. Aromatherapists confirm that clove basil has a lung-soothing effect, and it is suggested to be added in lung-soothing products such as incense and oils. Aromatherapists also consistently agree that the aroma of sweet basil relaxes the mind and body. It can bring relaxation and a calm to anxious mood when facing tense situations, thus helping stabilise performance.

## 5. REFERENCES

- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th edition. Illinois: Allured publishing corporation.
- Agatonovic-Kustrin, S., Kustrin, E., Gegechkori, V. & Morton, D. W. (2020). Anxiolytic terpenoids and aromatherapy for anxiety and depression. Reviews on New Drug Targets in Age-Related Disorders; Guest, PC, Ed, 283-296.
- Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A. & Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 5(8): 601-611.
- Arranz, E., Jaime, L., López de las Hazas, M. C., Reglero, G. & Santoyo, S. (2015). Supercritical fluid extraction as an alternative process to obtain essential oils with anti-inflammatory properties from marjoram and sweet basil. Industrial Crops and Products, 67: 121-129.
- Arumugham, T., Rambabu, K., Hasan, S. W., Show, P. L., Rinklebe, J. & Banat, F. (2021). Supercritical carbon dioxide extraction of plant phytochemicals for biological and environmental applications – A review. Chemosphere, 271: 129525.
- Ashish, K., Jnanasha, A. C., Lal, R. K. & Dubey, B. K. (2021). Intercropping and mixed herb distillation for high-quality oil yield using lemon-scented basil (*Ocimum africanum* Lour.) cv. CIM-Jyoti and lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) cv. Krishna. Acta Ecologica Sinica, In Press.
- Balasubramanian, N. (2015). Scented Oils and Perfumes. In Chemical Technology in Antiquity (pp. 219-244). American Chemical Society.
- Burzo, I. & Mihaiescu, D. E. (2005). Contributions to the data concerning physiological and biochemical processes of *Ocimum basilicum* L. Scientific Annals of Alexandru Ioan Cuza University of Iasi. Vegetal Biology, 51(2): 47-52.
- Chenni, M., El Abed, D., Rakotomanomana, N., Fernandez, X., & Chemat, F. (2016). Comparative study of essential oils extracted from egyptian basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) using hydro-distillation and solvent-free microwave extraction. Molecules, 21(1): 113.
- Chuang, W. L. (2008). Application of morphological and ISSR markers in genetic relationships among basil (*Ocimum* spp.). Master's thesis. National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.
- Ciotea, D., Shamtsyan, M. & Popa, M. E. (2021). Antibacterial activity of peppermint, basil and rosemary essential oils obtained by steam distillation. AgroLife Scientific Journal, 10(1): 75-82.



- Da Silva, W. M. F., Kringel, D. H., & de Souza, E. J. D. (2021). Basil essential oil: methods of extraction, chemical composition, biological activities, and food applications. *Food and Bioprocess Technology*. Springer.
- Davis, P. (1995). *Aromatherapy an A-Z, the most comprehensive guide to aromatherapy ever published*. London, England: The C.W. Daniel Company.
- Dudai N., Nitzan N. & Gonda I. (2020). *Ocimum basilicum L. (Basil)*. In: Novak J., Blüthner WD. (eds) *Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants. Handbook of Plant Breeding*, vol 12. Springer, Cham.
- Erway, C. (2015). *Food of Taiwan, recipes from the beautiful island*. Houghton Mifflin Harcourt.
- Evans, W. C. (1996). *Trease and Evans' pharmacognosy*. London, England: W B Saunders.
- Fan, W. H., Zheng, J., Yang, G. D., Jian, Y. L., Tan, W. G. & Liu, G. H. (2015). *Nai duo yao fei jie he zhi liao zhong chang jian yao wu bu liang fan ying fa sheng fen xi [Analysis of occurrence of adverse drug reaction in the treatment of multidrug resistance tuberculosis]*. *Jin ri yao xue*: 446-449.
- Formisano, L., Ciriello, M., El-Nakhel, C., Kyriacou, M. C. & Roupheal, Y. (2021). Successive harvests modulate the productive and physiological behavior of three genovese pesto basil cultivars. *Agronomy*, 11(3): 560.
- Gattefosse, R. M. (2012). *Gattefosse's aromatherapy*. Random House.
- Grayer, R. J., Kite, G. C., Goldstone, F. J., Bryan, S. E., Paton, A. & Putievsky, E. (1996). Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, 43(5): 1033-1039.
- Hsu, Y. L. (2013). *Luo le yu jiu ceng ta, dao di yi yang bu yi yang [Basil and jiu ceng ta, are they the same?]*. *Fooding*. Accessed 13 May 2018.
- Hung, C. C. (2006). *Hepato-protective effect of aqueous extract of Ocimum gratissimum L.* Institute of Biochemistry, Microbiology and Immunology. Master's thesis. Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H. & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3): 986-995.
- International Organization for Standardization. (1998). *ISO 11043:1998(E). Oil of basil, methyl chavicol type (Ocimum basilicum L.)*. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/19023.html>
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H. P. & Vivanco, J. M. (2002). Chemical characterisation of basil (*Ocimum basilicum L.*) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21): 5878-5883.
- Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R. & Vetter, H. (2003). Anti-inflammatory activity of 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory Medicine*, 97(3): 250-256.
- Karapinar, M. & Aktuğ, Ş. E. (1987). Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. *International Journal of Food Microbiology*, 4(2): 161-166.
- Khalid, K. A. (2006). Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum sp.*). *International Agrophysics*, 20: 289-296.
- Khater, E. (2020). Effect of distillation methods on essential oil yield and composition of basil dried by different drying systems. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 58(2): 247-260.

- Kockmann, N. (2014). Chapter 1 – history of distillation. *Distillation Fundamentals and Principles* (pp. 1-43).
- Lin, C. C., Lin, J. K. & Chang, C. H. (1995). Evaluation of hepatoprotective effects of “chhit-chan-than” from Taiwan. *International Journal of Pharmacognosy*, 33(2): 139-143.
- Micozzi, M. S. (2018). *Plant Essential Oils and Aromatherapy. Fundamentals of Complementary, Alternative, and Integrative Medicine-E-Book*, 409.
- Mondello, L., Zappia, G., Cotroneo, A., Bonaccorsi, I., Chowdhury, J. U., Yusuf, M. & Dugo, G. (2002). Studies on the essential oil-bearing plants of Bangladesh. Part VIII. Composition of some *Ocimum* oils *O. basilicum* L. var. *purpurascens*; *O. sanctum* L. green; *O. sanctum* L. purple; *O. americanum* L., citral type; *O. americanum* L., camphor type. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(5): 335-340.
- Morales, M. R. & Simon, J. E. (1996). New basil selections with compact inflorescences for the ornamental market. *J. Janick, Progress in new crops*, 543-546.
- Mukherjee, P. K., Nema, N. K., Venkatesh, P. & Debnath, P. K. (2012). Changing scenario for promotion and development of Ayurveda – way forward. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2): 424-434.
- Muráriková, A., Ťažký, A., Neugebauerová, J., Planková, A., Jampílek, J., Mučaji, P. & Mikuš, P. (2017). Characterisation of Essential Oil Composition in Different Basil Species and Pot Cultures by a GC-MS Method. *Molecules*, 22(7): 1221.
- Oumeish, O. Y. (2001). The cultural and philosophical concepts of cosmetics in beauty and art through the medical history of mankind. *Clin. Dermatol*, 19: 375-386.
- Patel, M., Gadhi, H., Patel, S., Mankad, A., Pandya, H. & Rawal, R. (2018). Holy basil: Holy herb to multimodal medicine for human health. *The Pharma innovation*, 7(3): 418-423.
- Patel, R. P., Singh, R., Rao, B. R. R., Singh, R. R., Srivastava, A. & Lal, R. K. (2016). Differential response of genotype × environment on phenology, essential oil yield and quality of natural aroma chemicals of five *Ocimum* species. *Industrial Crops and Products*, 87: 320-217.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M. & Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91(4): 621-632.
- Sajjadi, S. E. (2006). Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum Basilicum* L.) from Iran. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(3): 128-130.
- Simon, J., Morales, M. R., Phippen W. P., Fontes-Vieira, R. & Hao, Z. (1999). Basil: A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. *Perspectives on new crops and new uses*, 499-505.
- Singletary, K. W. (2018). Basil: A brief summary of potential health benefits. *Nutrition Today*, 53(2): 92-97.
- Tran, T., Nguyen, H., Nguyen, D., Nguyen, T., Tan, H., Nhan, L., & Nguyen, D. (2018). Optimisation of microwave-assisted extraction of essential oil from vietnamese basil (*Ocimum basilicum* L.) using response Surface methodology. *Processes*, 6(11): 206.
- Valnet, J. (2012). *The practice of aromatherapy*. New York City, NY: Random House.
- Vieira, R. F. & Simon, J. E. (2006). Chemical characterisation of basil (*Ocimum* spp.) based on volatile oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2): 214-221.
- Xu, H. & Huang, H. B. (2007). *Zhong cao yao tu pu* (1) [Chinese herbs in pictures (1)]. *Guanhgdong ke ji chu ban she*, Guangdong.

- Yih, K. H., Wang, H. F. & Lee, Y. C. (2014). The chemical basis and applications of essential oil., Taipei, Taiwan: Farseeing Publishing Group.
- Zhang, L. Z., Chen, Y. C., Chin, H. C., Hong, M. C. & Chen, J. W. (2010). Yao yong zhi wu zhi kai fa yu ying yong [Development and application of medicinal plants]. Taichung qu nong ye gai liang chang te kan 101: 204-208.

**Efecto de la temperatura en la cristalización de películas de perovskita- $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_{3-x}\text{Cl}_x$**   
**Effect of temperature on crystallization of perovskite films -  $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_{3-x}\text{Cl}_x$**

Daniel Cabrera<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología (Universidad Técnica de Ambato, 180103, Ambato, Ecuador, da.cabrera@uta.edu.ec);

\*Daniel Cabrera: Telf: 0982310700; email: da.cabrera@uta.edu.ec

**Resumen**

En el presente documento, se analizó el efecto de la temperatura en la cristalización de películas delgadas de perovskita ( $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_{3-x}\text{Cl}_x$ ) (las películas de perovskita se utilizan para producir células fotoeléctricas basadas que parecen ser dispositivos con menores costos de producción y mayor eficiencia que las células fotoeléctricas basadas en silicio). Para sintetizar las películas de perovskita, se sometió a cuatro muestras, con solución precursora, a un proceso de centrifugado durante 45 s a 2.000 rpm. Después, las muestras se trataron térmicamente a tres temperaturas. Asimismo, las muestras se caracterizaron mediante espectroscopia UV/Vis, espectroscopia de emisión y microscopia electrónica de fluorescencia, y se utilizó el software ImageJ para analizar el tamaño de los cristales. Se encontró que la muestra tratada a 80 °C presentó la mayor emisión de fluorescencia con 49539,09 CPS y la mejor distribución de tamaño de partícula. También se calculó la brecha energética ( $E_g$ ), que resultó ser de  $1,60 \pm 0,01$  eV (Una célula fotoeléctrica ideal tiene una energía de brecha de 1.4 eV para absorber la máxima cantidad posible de fotones de la radiación solar).

**Palabras clave:** Cristales de Perovskita; Cristalización; Células Fotoeléctricas.

**Abstract**

In the present manuscript, the effect of temperature on crystallisation of perovskite thin films ( $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_{3-x}\text{Cl}_x$ ) was analysed (perovskite films are utilized to produce perovskite-based solar cells that appear to be devices with lower production costs and higher efficiency than silicon-based solar cells). To synthesise the perovskite films, four samples with precursor solution were spin coated for 45 s at 2000 rpm. After that, the samples were annealed at three different temperatures. Likewise, samples were characterised by UV/Vis Spectroscopy, Emission Spectroscopy, Fluorescence Microscopy, and ImageJ software were used to analyse crystal size. It was found that the sample annealed at 80 °C presented the highest fluorescence emission with 49539.09 CPS and the best particle size distribution. Band Gap Energy ( $E_g$ ) was also calculated resulting in  $1.60 \pm 0.01$  eV (An ideal solar cell has a band gap of 1.4 eV to absorb the maximum number of photons from the solar radiation).

**Keywords:** Perovskite Crystals; Crystallisation; Solar Cells.

## 1. INTRODUCTION

Perovskite-based solar cells (PBSC) appear to be an alternative to silicon-based devices due to their significantly better performance when it comes to cell stability and characteristics [1]. Likewise, PBSC have low production cost, high efficiency, and a simple production process. More specifically, perovskite crystals are a remarkable material that can be described by the formula  $ABX_3$ . Where A and B are different-size cations and X is an anion. This material also contains an organic molecule, a heavy chemical element like Pb and a halogen atom [2]. However, the mixed halide perovskite  $CH_3NH_3PbI_{3-x}Cl_x$  (MAPbI<sub>3-x</sub>Cl<sub>x</sub>) can be synthesised by using an I<sup>-</sup> and a Cl<sup>-</sup> anions. It has been also proved that MAPbI<sub>3-x</sub>Cl<sub>x</sub> has an upgraded stability in air and a long-charged diffusion length compared to methylammonium lead iodide perovskites. However, chlorine presence in perovskite crystals is controversial. It has been discovered that nucleation dynamics can be affected by chlorine, yet undetectable in the final perovskite film. Nevertheless, the role of chlorine in perovskites is to perform as a surface passivator and as a dopant [3].

In 2009 Miyasaka et al. [4] developed a  $CH_3NH_3PbI_3$ -based solar cell for the first time and a 3.8% of efficiency was reported. Due to this work, PBSC have been improved and nowadays numerous studies have reported more than 15% of power conversion. Several techniques have been applied to produce PBSC such as solution process (one step, two steps and vapour assisted), thermal evaporation [5] and annealing process. Nevertheless, one-step solution process has shown problems that can be influential for PBSC performance

such as weak crystallisation of  $CH_3NH_3PbI_{3-x}Cl_x$ , non-uniformity and leakage [6].

Crystallisation is the main factor that determines the PBSC properties and performance. It has been studied and proved that improving the annealing fabrication process crystallinity of the perovskite films can be increased, therefore, electronic properties can be also upgraded [5].

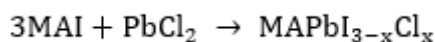
In the present work, thin films of perovskite crystals were synthesised by spin-coating and annealing the samples at RT, 80, 100 and 125 °C to analyse the effect of temperature on crystallisation of perovskite layers. Furthermore, perovskite films were characterised by UV/Vis Spectroscopy, Emission Spectroscopy, Fluorescence Microscopy, and ImageJ Software was utilised to analyse the particle size of the crystals.

## 2. MATERIALS AND METHODS

Thin-films of iodide/chloride mixed-halide perovskite  $CH_3NH_3PbI_{3-x}Cl_x$  were synthesised at different temperatures and characterised by the following methodology described in this section.

### 2.1. Perovskite crystals synthesis

Firstly, a precursor solution was prepared mixing methylammonium iodide with lead chloride dissolved in dimethylformamide (DMF) producing a mixed halide perovskite as is described by Equation (1):



Where,



To synthesise the thin films of perovskite crystals, four samples were prepared. Firstly, 100 µL of precursor solution was pipetted on three peds. After

that, each sample was spin coated for 45 s at 2000 rpm by using a Laurell WS-650MZ-23NPPB centrifuge with the aim of remove exceeding solution and to create a uniform layer. Then, the samples were placed on three different hot plates at 80, 100, and 125 oC for 25 min to crystallise the precursor solution. Likewise, the fourth sample was prepared by pipetting 100 µL of the solution on a microscope slide and another slide was placed on top to create a semi-thin layer. This sample was crystallised at room temperature (RT = 19 oC) for 2 h [6].

### 2.2. Perovskite crystals characterisation

To characterise the perovskite crystals three techniques were utilised. Absorbance spectra were measured in the range of 300 – 800 nm by a Perkin Elmer Lambda 9 spectrometer. Similarly, Emission Spectroscopy was conducted on a FluoroMax-4 spectrometer in the range of 650 – 950 nm to measure the fluorescence emission spectra. Band Gap Energy (Eg) was calculated by using Equation (2) [7].

$$Eg = \frac{h c}{\lambda}$$

Where,

Eg = Band Gap Energy

h = Planck's constant (6.626 x 10<sup>-34</sup> J s)

C = Speed of light (3.0 x 10<sup>8</sup> m s<sup>-1</sup>)

λ = Wavelength at maximum fluorescence emission (nm)

Finally, Fluorescence Microscopy was performed on an Olympus BX51 microscope to determine the effect of temperature on the size of crystals and ImageJ software was utilised to measure the crystal size.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. UV/Vis Spectroscopy

Figure 1 shows UV/vis absorption spectra of the perovskite layers at 80, 100 and 125 oC. Due to the annealing process, perovskite films changed its colour from light green/yellow to dark grey (Figure 2), consequently, their absorbance increased [5]. Additionally, it is clearly observed an onset of the absorption spectra at 374 nm approximately.

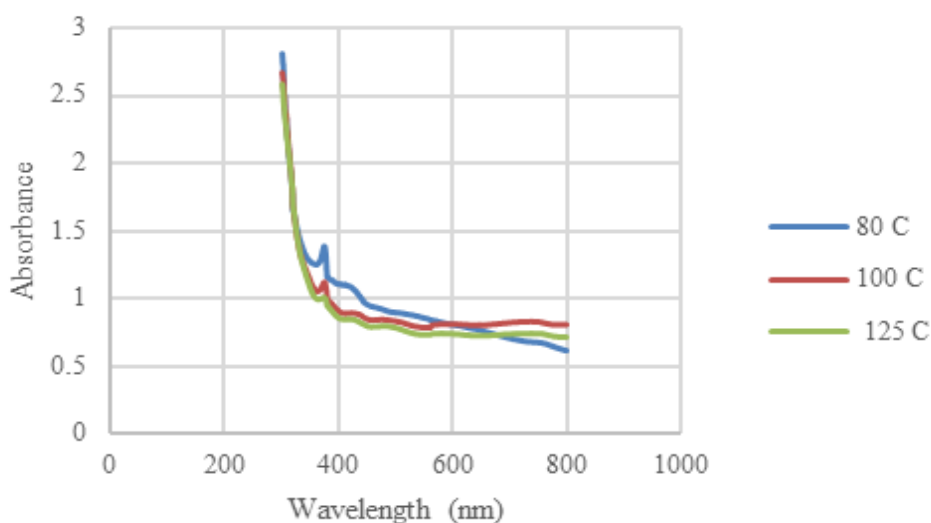


Figure 1. UV/Vis absorption spectra of perovskite films.



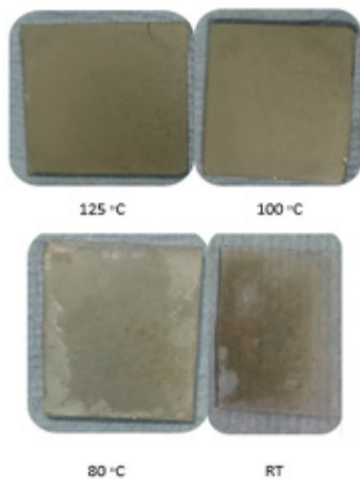


Figure 2. Perovskite films after annealing process.

### 3.2. Emission spectroscopy

Figure 3 displays fluorescence emission

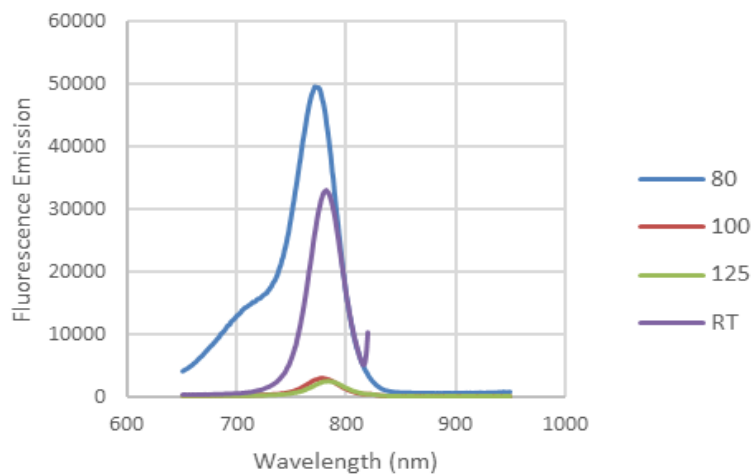


Figure 3. Fluorescence Emission spectra of perovskite films

Temperature (°C)	Wavelength (nm)	Eg (eV)
RT	782	1.59
80	771	1.61
100	777	1.60
125	783	1.59
	<i>Average</i>	1.60
	<i>Standard deviation</i>	0.01

Table 1. Band gap energy (Eg) for each sample

spectra of the perovskite films at RT, 80, 100 and 125 oC. The sample that was annealed at 80 oC reported the highest fluorescence emission with 49539.09 CPS at 771 nm. Thus, for this study, it can be concluded that 80 oC is the optimum temperature to synthesise perovskite crystals (CH<sub>3</sub>NH<sub>3</sub>PbI<sub>3-x</sub>Cl<sub>x</sub>).

Likewise, Eg was calculated by using the wavelength at the highest fluorescence emission for each annealing temperature. The Eg value resulting 1.60 eV ± 0.01 as is shown in Table 1 and it is corroborated with previous studies (An ideal solar cell has a band gap of 1.4 eV to absorb the maximum number of photons from the solar radiation) [8, 9].

### 3.3. Fluorescence Microscopy

To evaluate the crystal size, 20 measures of each sample were taken randomly by using ImageJ software and results are displayed in Table 2. More specifically, the most consistent values were shown by 80 oC sample. Standard deviation for this set of data was the smallest (0.72  $\mu\text{m}$ ) which means that maximum (3.52  $\mu\text{m}$ ) and minimum (0.79  $\mu\text{m}$ ) values of crystal size were not significantly separated from the average (1.48  $\mu\text{m}$ ), thus, it can be

(1.48  $\mu\text{m}$ ), thus, it can be concluded that this data presented uniformity and 80 oC is the optimum temperature for perovskite crystallization ( $\text{CH}_3\text{NH}_3\text{PbI}_3\text{-xCl}_x$ ). In addition, images taken from Fluorescence Microscopy are shown in Figure 4. In this figure, it is clearly observed that 80 oC sample is the one with the best crystal distribution. This is crucial, since it has been proved that improving the crystallization process of the perovskite films can also upgrade their electronic properties [5]

Cristal Size ( $\mu\text{m}$ )	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )			
	<i>RT</i>	<i>80</i>	<i>100</i>	<i>125</i>
<i>Min</i>	4.46	0.79	4.15	6.90
<i>Max</i>	15.45	3.52	14.28	17.99
<i>Average</i>	9.38	1.48	9.16	10.76
<i>Standard Deviation</i>	3.30	0.72	2.58	3.22

Table 2. Crystal size statics at each annealing temperature

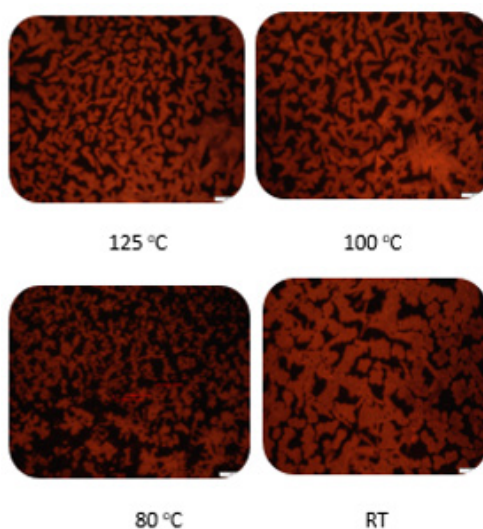


Figure 4. Images of the Fluorescence Microscopy at each annealing Temperature

#### 4. CONCLUSIONS

Perovskite crystal thin films were synthesised by applying the aforementioned methodology. More specifically, the best sample, which was annealed at 80 °C, presented the highest fluorescence emission with 49539.09 CPS at 771 nm and the best uniformity for crystal size with  $1.48 \pm 0.79 \mu\text{m}$ .  $E_g$  was also calculated resulting in  $1.60 \pm 0.01 \text{ eV}$ . Likewise, for future work, it is recommended to analyse annealing time and humidity as variables because they can affect the crystallisation process. Finally, Scanning Electron Microscopy and X-ray diffractometry could also be carried out to characterise the crystals.

#### 5. REFERENCES

- Lewis, N. S. (2007). Toward cost-effective solar energy use. *science*, 315(5813), 798-801.
- Ponseca Jr, C. S., Tian, Y., Sundström, V., & Scheblykin, I. G. (2016). Excited state and charge-carrier dynamics in perovskite solar cell materials. *Nanotechnology*, 27(8), 082001.
- Yang, L., Barrows, A. T., Lidzey, D. G., & Wang, T. (2016). Recent progress and challenges of organometal halide perovskite solar cells. *Reports on Progress in Physics*, 79(2), 026501.
- Kojima, A., Teshima, K., Shirai, Y., & Miyasaka, T. (2009). Organometal halide perovskites as visible-light sensitizers for photovoltaic cells. *Journal of the American Chemical Society*, 131(17), 6050-6051.
- Nicole R. Title of paper with only first word capitalized. *J Name Stand Abbrev*. In press.
- Liu, J., Lin, J., Xue, Q., Ye, Q., He, X., Ouyang, L., & Lau, W. M. (2016). Growth and evolution of solution-processed CH<sub>3</sub>NH<sub>3</sub>PbI<sub>3-x</sub>Cl<sub>x</sub> layer for highly efficient planar-heterojunction perovskite solar cells. *Journal of Power Sources*, 301, 242-250.
- Young M. *Technical Writer's Handbook*. Mill Valley, CA: University Science;1989.
- Huang, J., Wang, M., Ding, L., Deng, J., & Yao, X. (2015). Efficiency enhancement of the MAPbI<sub>3-x</sub>Cl<sub>x</sub>-based perovskite solar cell by a two-step annealing procedure. *Semiconductor Science and Technology*, 31(2), 025009.
- Dharma, J., Pisal, A., & Shelton, C. T. (2009). Simple method of measuring the band gap energy value of TiO<sub>2</sub> in the powder form using a UV/Vis/NIR spectrometer. *Application Note Shelton, CT: PerkinElmer*.
- Colella, S., Mosconi, E., Fedeli, P., Listorti, A., Gazza, F., Orlandi, F., ... & Gigli, G. (2013). MAPbI<sub>3-x</sub>Cl<sub>x</sub> Mixed Halide Perovskite for Hybrid Solar Cells: The Role of Chloride as Dopant on the Transport and Structural Properties. *Chemistry of Materials*, 25(22), 4613-4618.
- Noh, J. H., Im, S. H., Heo, J. H., Mandal, T. N., & Seok, S. I. (2013). Chemical management for colorful, efficient, and stable inorganic-organic hybrid nanostructured solar cells. *Nano letters*, 13(4), 1764-1769.

