

Síntesis de un composite de almidón de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) / Cu para la detección de mezclas etanol y metanol

Roiner Enrique Ruidiaz Gomez



**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA
2024**

**Síntesis de un composite de almidón de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) /
Cu para la detección de mezclas etanol y metanol**

Roiner Enrique Ruidiaz Gomez
Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de
Químico (a)

Tutores

Diana Alexandra Torres Sánchez
Doctora

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

José Hernando Quintana Mendoza
Magister
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA



UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PAMPLONA, COLOMBIA
2024

DEDICATORIA

Con profundo orgullo y gratitud, dedico los frutos de años de esfuerzo, paciencia y amor a mis seres queridos. Esta tesis está especialmente dedicada a mis grandes pilares y amores, quienes han apostado todo por mí: el Señor Roimel Ruidiaz y la Señora SolFanis Gómez. Ustedes han sido testigos de gran parte de mis logros, metas alcanzadas y todo lo que está por venir, ya que han sido mi apoyo incondicional.

A mis hermanos Yusnedis, Samir, Andris Tatiana y Yeris Ruidiaz Gómez, les dedico este trabajo. Su apoyo, tanto directo como indirecto, ha influido positivamente en todo este proceso y ha sido fundamental para mi éxito.

Audrey-Anne St-Germain Coderre, gracias por ser parte de este proyecto que hoy culmina. El año 2022 nos unió en una aventura que yo anhelaba, y desde entonces te has convertido en una pieza fundamental en todo este proceso. Desde Colombia, te expreso mi profunda admiración y gratitud.

AGRADECIMIENTOS

-En primer lugar, expreso mi profunda gratitud a Dios por las experiencias vividas, que han moldeado mi ser actual.

-Agradezco enormemente a mis tutores, la profesora Diana Alexandra Torres y el profesor José Quintana, por su invaluable orientación, apoyo constante y sabios consejos.

-Mi reconocimiento se extiende al semillero de investigación Biocalorimetría (SeBioca), al laboratorio de control y calidad, y al programa de ingeniería eléctrica por su respaldo fundamental en el desarrollo de este proyecto de grado. Asimismo, agradezco a todos los profesores que contribuyeron a mi formación durante este proceso.

-A mis tíos, tías, primos, primas y abuela, mi gratitud por su apoyo incondicional.

-Un agradecimiento especial a mis compañeras de tesis, Luisa y Lisbeth Daniela, por su amistad y colaboración durante el desarrollo del proyecto. Su buen humor hizo más llevadero el ambiente de trabajo. También agradezco a Jorge Bermúdez por su amistad y apoyo.

-Al principio solo seguía mi corazón, avanzando según lo sentía en cada momento. En este camino, hubo victorias y derrotas, pero agradecí profundamente a todos los medios y personas que me permitieron llegar hasta aquí.

¡Welcome to the end!

CONTENIDO

DEDICATORIA	3
Agradecimientos	4
Lista de tablas	7
Lista de figuras	8
Lista de ecuaciones	10
Lista de abreviaturas	11
RESUMEN	12
Abstract	13
INTRODUCCIÓN	14
1. MARCO REFERENCIAL	15
1.1 Biopolímeros	18
1.2 Arracacha y romero	19
2. OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo general	22
2.2 Objetivos específicos	22
3. METODOLOGÍA	23
3.1 Reactivos	23
3.2 Equipos	23
3.3 Procedimiento	24
3.3.1 Muestreo	24
3.3.1.1 Recolección de arracacha	24
3.3.1.2 Recolección de romero	25
3.4 Extracciones	25
3.4.1 Extracción de almidón de arracacha	25
3.4.2 Determinación de cenizas del almidón	25
3.4.2.1 Morfología del almidón	26
3.4.2.2 Determinación del porcentaje de amilosa a través de colorimetría	26
3.4.2.3 Interacción entre el complejo de yodo y la amilosa	26
3.4.3 Extracción de hidrolato de romero	28
3.4.3.1 Análisis cromatográfico GC-MS del hidrolato de romero	28
3.5.4 Preparación de nanopartículas de cobre	28
3.5.4.1 Determinación del tamaño de nanopartícula de cobre	28

3.5 Síntesis de biopelícula.	29
3.5.1 Permeabilidad de biopelícula.	30
3.5.2 Tratamiento espectros ATR-FTIR.....	31
3.6 Construcción del biosensor y cámara de detección.....	32
3.7 Preparación de soluciones de metanol y etanol.	33
3.8 Registro de datos en el sistema de detección.	33
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS.	34
4.1.1 Extracción del almidón.	34
4.1.2 Espectroscopia de infrarrojo ATR-FTIR.....	36
4.1.3 Morfología del almidón.	37
4.1.4 Análisis del almidón TGA.	38
4.2 Extracción del hidrolato de romero (<i>Rosmarinus officinalis L</i>).	40
4.2.1 Cromatografía de gases GC-MS para el hidrolato.....	41
4.2.2 Espectroscopia infrarroja ATR-FTIR de hojas de romero antes y después de la extracción.....	45
4.3 Agregados de cobre.	48
4.4 Síntesis de las biopelículas.	50
4.4.1. Análisis SEM de las biopelículas con y sin nanopartículas de cobre.	51
4.4.2. Espectroscopia infrarroja FTIR-ATR para las biopelículas.	52
4.4.3 TGA de las biopelículas sintetizadas de hidrolato, blanco y nanopartícula.	55
4.4.4 Permeabilidad de las biopelículas.	57
4.5 diseño de sensor de conductividad.	58
4.5.1 Medidas de la resistencia eléctrica.....	60
CONCLUSIONES	64
RECOMENDACIONES	66
BIBLIOGRAFÍA.....	67
ANEXOS.....	84

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. <i>Compuestos determinados por cromatografía de gases.</i>	42
Tabla 2: <i>Atribuciones de bandas de las hojas de romero.</i>	46
Tabla 3. <i>Parámetros establecidos para la determinación del tamaño de nanopartícula de Cu.</i>	49
Tabla 4: <i>Asignación de bandas de las biopelículas.</i>	53
Tabla 5. <i>Parámetros establecidos para la determinación de la permeabilidad.</i>	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación gráfica de la arracacha (<i>Arracacia xanthorrhiza</i>).	20
Figura 2. Complejo amilosa yodo	27
Figura 3. Representación esquemática del molde de la biopelícula.	30
Figura 4. Procedimiento de la corrección de la línea base de los espectros infrarrojos.	31
Figura 5. Vacuómetro.	32
Figura 6. Diagrama del procedimiento de aislamiento del almidón de arracacha (<i>Arracacia xanthorrhiza</i>).	35
Figura 7. Curva de calibración del estándar de amilosa.	36
Figura 8. Espectro infrarrojo del almidón de arracacha con su respectiva asignación de grupos funcionales.	37
Figura 9. Micrografías del almidón de arracacha obtenidas mediante microscopio óptico y electrónico de barrido (SEM). a) SEM a 5 μ m. b) 4X. c) 10X. d) 40X. e) 100X.	38
Figura 10. TGA del almidón de arracacha.	39
Figura 11. Representación esquemática del proceso de extracción del hidrolato de romero.	40
Figura 12. Cromatograma GC-MS del hidrolato de romero y sus abundancias relativas.	41
Figura 13. Espectros infrarrojos de hojas de romero. Antes de la extracción (rana), y, después de la extracción (rdea) del hidrolato.	46
Figura 14. Análisis multivariado y clúster de 2 agrupaciones para los sólidos de romero antes la extracción (A) y después de la extracción (B).	48
Figura 15. Espectro de absorción UV-visible de nanopartículas de cobre. Dónde Cu1, Cu2 y Cu3, son replicas.	49
Figura 16. Representación gráfica de la síntesis de biopelícula.	50
Figura 17. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de biopelículas de almidón de arracacha: a) Micrografía de biopelícula sintetizada sin adición de nanopartícula de cobre, b) micrografía de biopelícula sintetizada con adición de nanopartícula de cobre (NPsCu).	51
Figura 18. Espectroscopia infrarroja para las biopelículas blanco, con hidrolato y Nanopartículas de cobre-hidrolato.	52
Figura 19. Análisis multivariado para las biopelículas sintetizadas, biopelícula blanca (BioBa), biopelícula de nanopartícula de cobre (BioNa) y biopelícula de hidrolato (BioHa).	54
Figura 20: Segunda derivadas de las biopelículas sintetizadas; a) control (BiopeBA), con hidrolato de romero (BiopeHA) Y nanopartícula (BiopeNA), b) gráfico de barra, promedio áreas Vs biopelículas. De las regiones del C-O y C-H.	55

Figura 21. <i>Análisis termogravimétrico (TGA) de la biopelícula de hidrolato (color rojo), biopelícula de nanopartícula de cobre (color verde) y biopelícula de control (color azul). Las derivadas de hidrolato y blanco se superponen entre sí.</i>	56
Figura 22. <i>Curva de calibración de permeabilidad.</i>	58
Figura 23. <i>Sensor de biopelícula almidón-cobre.</i>	59
Figura 24. <i>Diseño de medidas de conductividad.</i>	60
Figura 25. <i>Curva de calibración para mezclas metanol-etanol sin agua.....</i>	61
Figura 26. <i>Curva de calibración de metanol y etanol en agua, con porcentajes de concentración de alcoholes en el eje X.</i>	62

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1: Determinación del tamaño de partícula.	29
Ecuación 2: <i>Determinación de la permeabilidad.</i>	57

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
PCA	Análisis de componentes principales
FTIR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
ATR	Reflectancia total atenuada
SEM	Microscopía electrónica de barrido
TGA	Termogravimetría
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
UV-vis	Espectroscopía de ultravioleta visible

RESUMEN

El almidón de arracacha se presenta como una alternativa sostenible a los polímeros sintéticos para la producción de biopelículas. En este estudio, se obtuvo almidón de arracacha con un rendimiento del $5,56 \pm 0,58\%$ en base seca. Se desarrollaron biopelículas estables utilizando este almidón, hidrolato de romero y agregados de nano particulados de cobre.

Se sintetizaron nanopartículas de cobre con tamaños de $16,82 \pm 2,71$ nm y $34,067 \pm 1,007$ nm, las cuales se incorporaron a las biopelículas para facilitar la construcción de un sensor biodegradable. Este sensor se fabricó incrustando la biopelícula en una lámina hueca de resina epóxica, conectada a dos hilos de cobre desde la ventana de detección.

Las biopelículas exhibieron una buena estabilidad térmica, alcanzando temperaturas de $345,07^{\circ}\text{C}$ para la biopelícula de almidón, y $357,22^{\circ}\text{C}$ para las biopelículas con hidrolato y nanopartículas. La permeabilidad de las biopelículas con agregados de cobre fue de $5,69 \pm 0,42 \times 10^{18}$ gmm/m²·kPa·h,

El sensor demostró eficacia en la detección de alcohol adulterado a nivel de laboratorio. Se determinaron los límites de detección para mezclas de etanol-metanol ($2,26 \pm 0,23\%$ en peso) y metanol-etanol-agua ($2,31 \pm 0,12\%$ en peso). Los límites de cuantificación se establecieron en $4,62 \pm 0,21\%$ y $0,462 \pm 0,21 \%$ de metanol para ambas mezclas respectivamente.

Palabras Claves: Nanopartículas de cobre, biosensor, biopelículas de almidón de arracacha, metanol-etanol.

ABSTRACT

Arracacha starch is presented as a sustainable alternative to synthetic polymers for the production of biofilms. In this study, arracacha starch was obtained with a dry yield of $5.56 \pm 0.58\%$. Stable biofilms were developed using this starch, rosemary hydrolate and copper nanoparticles.

Copper nanoparticles with sizes of 16.82 ± 2.71 nm and 34.067 ± 1.007 nm were synthesized and incorporated into the biofilms to facilitate the construction of a biodegradable sensor. This sensor was fabricated by embedding the biofilm in a hollow epoxy resin foil, connected to two copper wires from the sensing window.

The biofilms exhibited remarkable thermal stability, reaching temperatures of 345.07°C for the starch biofilm, and 345.07°C and 357.22°C for the biofilms with hydrolate and nanoparticles, respectively. The permeability of the biofilms was determined to be $5.69 \pm 0.42 \cdot 10^{18}$ g-mm/m²-kPa-h.

The sensor demonstrated efficacy in detecting adulterated alcohol at the laboratory level. Detection limits were determined for ethanol-methanol ($2.26 \pm 0.23\%$ by weight) and methanol-ethanol-water mixtures ($2.31 \pm 0.12\%$ by weight). By weight). The limits of quantification were set at $4.62 \pm 0.21\%$ and $0.462 \pm 0.21\%$ methanol for both mixtures, respectively.

Keywords: Copper nanoparticles, biosensor, arracacha starch biofilms, methanol-ethanol.

INTRODUCCIÓN

A nivel global, la adulteración de bebidas alcohólicas es un problema significativo, y las técnicas convencionales para detectarla son costosas y complicadas. Por esta razón, se están explorando alternativas más accesibles para reemplazar estos métodos tradicionales. Una de las opciones promisorias es el uso de biomateriales, los cuales son biodegradables, económicos y fáciles de obtener. Entre estos biomateriales destaca el almidón, uno de los polímeros naturales más abundantes después de la celulosa, que se encuentra en una amplia variedad de fuentes vegetales como verduras, granos, legumbres, tubérculos y raíces. Gracias a su estructura polimérica, el almidón ofrece una excelente base para crear biopelículas con propiedades mecánicas adecuadas y buena resistencia a gases y humedad, convirtiéndolo en un material idóneo para diversas aplicaciones. El uso de nanopartículas de cobre ha generado gran expectativa en la comunidad científica debido a sus propiedades antimicrobianas, conductoras, entre otras.

En este contexto, los biosensores emergen como una solución innovadora y eficaz. Estos sistemas analíticos excepcionales se caracterizan por su alta especificidad y sensibilidad hacia una sustancia en particular. Se diferencian completamente de otros sensores químicos al ser dispositivos analíticos sin reactivos que no requieren procesamiento de muestras antes o después del análisis. En consecuencia, los biosensores se han convertido en un área activa de investigación para detectar diversos componentes químicos y biológicos con fines de monitoreo clínico, alimentario y ambiental (Amine et al., 2006; Prieto-Simón et al., 2006; Bachan Upadhyay & Verma, 2013), presentando un enfoque prometedor de manera más accesible y eficiente.

Este estudio se centró en la síntesis de biopelículas a partir de almidón de arracacha, incorporando nanopartículas de cobre, con el objetivo de desarrollar un biosensor capaz de detectar la adulteración de bebidas alcohólicas mediante mezclas de etanol y metanol.

1. MARCO REFERENCIAL

La adulteración de bebidas alcohólicas es un problema que tiene una larga historia y no tiene una fecha exacta de inicio. Desde tiempos antiguos, se han documentado casos de adulteración de bebidas alcohólicas con el fin de aumentar el volumen, mejorar la apariencia o reducir costos. Sin embargo, con el paso del tiempo y el avance de la tecnología, las técnicas de adulteración han evolucionado y se han vuelto más sofisticadas. En la actualidad, la regulación y el control de calidad han mejorado considerablemente, pero aún persisten desafíos significativos.

La adulteración consiste en alterar o falsificar de manera fraudulenta la composición, pureza o calidad de un producto, mediante diversas prácticas (Lachenmeier, 2016a, 2016b). Generalmente, se lleva a cabo agregando sustancias extrañas o reemplazando ingredientes originales por sustitutos de menor calidad, con el fin de reducir costos o aparentar mayor cantidad (Newman et al., 2018; Quintero et al., 2020). También se considera adulteración mentir sobre el origen, fabricante o fecha de vencimiento de un artículo, así como vender un producto imitando una marca genuina cuando en realidad es una copia ilegal (Zapata et al., 2012).

En el caso de bebidas alcohólicas adulteradas, es común agregar metanol u otras sustancias no aprobadas que causan intoxicaciones graves, con síntomas como náuseas, vómitos, dolores de cabeza, dificultad respiratoria, coma, convulsiones, hipotermia, daños neurológicos o incluso la muerte (Rym et al., 2023; Necochea-Chamorro et al., 2019).

Dentro de las prácticas de adulteración se encuentran la adición de agua para aumentar el volumen y disminuir la concentración de alcohol, así como la incorporación de alcohol no potable o industrial que también puede causar intoxicaciones graves. Además, se suelen agregar azúcares, edulcorantes, colorantes y aromatizantes artificiales para mejorar el sabor y apariencia, enmascarando la dilución con agua. En algunos casos, se reetiquetan y embotellan fraudulentamente productos adulterados en envases de marcas reconocidas, engañando al consumidor sobre su verdadero origen. Otra práctica es la sustitución

de ingredientes costosos por otros más baratos, como reemplazar jugos de frutas por jarabe de maíz o agregar alcohol de menor calidad. Asimismo, se pueden incorporar aditivos no permitidos como conservantes, espesantes o estabilizantes ilegales que pueden ser perjudiciales para la salud. Todas estas adulteraciones son ilegales (Barreto Calderón, A. 2014; Yasno Serrato, N., & Rodríguez Ortigosa, L. 2019).

Se han reportado numerosos brotes de intoxicación con metanol desde Asia hasta Europa y África, con tasas de letalidad superiores al 30%. (Doreen B et al., 2020; Zahra Nekoukar et al., 2021; Ali Jangjou et al., 2023; Akhgari, M et al 2013; Nili-Ahmadabadi, A et al., 2016; Yousefi, M et al., 2018; Ma et al., 2019; Brahmi et al., 2007). A nivel nacional, también se han reportado casos graves, como el ocurrido entre noviembre del 2022 y enero del 2023 en Bogotá (Cárdenas Romero, J. 2024) que dejaron 54 intoxicados, de los cuales 40 fallecieron. Estas cifras alarmantes evidencian la peligrosidad de estas prácticas ilegales que ponen en riesgo la salud de los consumidores.

Es por esto que se han desarrollado pruebas rápidas de detección de metanol en bebidas alcohólicas como herramientas importantes para identificar adulteraciones potencialmente peligrosas, siendo diseñadas para ser utilizadas en campo o en entornos donde no se dispone de equipos de laboratorio sofisticados. Algunas de ellas son: pruebas de tira reactiva, kits de prueba de bolsillo, dispositivos electrónicos portátiles y kits basados en reacciones químicas específicas; aunque estas proporcionan indicaciones preliminares de la presencia de metanol, es recomendable confirmar los resultados con métodos más precisos y validados en un laboratorio. Las técnicas analíticas más empleadas son las técnicas espectroscópicas como UV-visible (UV-vis), donde se han realizado estudios para analizar el grado de alcohol, azúcares totales, sólidos no azucarados y ácidos totales en bebidas alcohólicas (Shen, F et al., 2017; Debebe, A et al., 2017).

Otra técnica utilizada es el infrarrojo medio (MIR) (Quintero Arenas et al., 2022). La autenticidad de las bebidas alcohólicas se ha verificado a través de varias técnicas analíticas como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), espectroscopía

UV-vis, resonancia magnética nuclear (RMN), cromatografía de gases (GC) acoplada a espectrometría de masas (MS). Las técnicas antes mencionadas son sensibles y precisas; sin embargo, son costosas, requieren mucho tiempo para la preparación de la muestra o utilizan grandes cantidades de reactivos y solventes (Barroso, J et al.,2018)

La identificación de adulterantes en bebidas alcohólicas implica un alto costo, debido a los requerimientos de una buena infraestructura y el empleo de métodos costosos, lo cual dificulta aún más su detección. Por ello, es necesario buscar métodos más accesibles que reemplacen las técnicas convencionales. Una alternativa prometedora podría ser el uso de sensores, un método con potencial para facilitar esta identificación a un costo más asequible (Mathew, R., Das, A. 2022; Jian, Y et al.,2020)

Los sensores cualitativos son alternativas prometedoras que han superado la necesidad de grandes plataformas de lectura y pueden usarse en un rango más amplio de concentraciones que sus contrapartes electroquímicas. Un ejemplo de estos sensores son los inmunoensayos de flujo lateral, similares a las pruebas rápidas utilizadas para la detección de COVID-19 (Hogg et al., 2023). En general, el elemento de reconocimiento utiliza especies de anticuerpos/antígenos específicos para el analito de interés, conjugados con una sonda visible (Mohit et al., 2021). Una respuesta positiva o negativa puede evaluarse rápida y fácilmente (< 30 minutos) mediante un cambio de color, proporcionando así una prueba de detección portátil y fácil de usar. En la literatura se reportan algunos sensores que permiten la identificación de metanol, lo cual muestra que es posible crear nuevos dispositivos capaces de ofrecer una detección sensible, confiable, repetible, con buena estabilidad y excelente rendimiento (Yu Jiang et al., 2019; Ramiro Marroquin-Garcia et al., 2024; Oronova, EA et al.,2008).

Las ciencias analíticas han presenciado el surgimiento de técnicas para la detección eficiente de adulterantes alimentarios, tanto en el ámbito clínico como industrial. En la literatura se encuentran estudios aplicados a los biosensores como alternativa prometedora en la detección de etanol (Huitong Gong et al.,2024), estos autores

reportan que el sensor basado en SnO₂ es prometedor en la detección de varios gases debido a su bajo costo, alta sensibilidad, alta estabilidad y gran eficacia para la detección de etanol. Algunos ejemplos en los últimos años incluyen nanocintas co-dopadas (An, Y., y Zhang, J. 2023), microesferas modificadas con polímeros (Song, W et al.,2022) y películas compuestas porosas (Jiang, B et al.,2023; Xu, S et al.,2015; Xu, S.,2016).

1.1 Biopolímeros

Los biopolímeros son macromoléculas de polisacáridos en forma de cadena provenientes de fuentes naturales y renovables. Resultan favorables debido a su abundante disponibilidad, renovabilidad, no toxicidad, propiedades térmicas favorables y biocompatibilidad. Están compuestos por unidades monoméricas de compuestos orgánicos unidos covalentemente para formar un biopolímero biodegradable. Estos biopolímeros se combinan con partículas y/o materiales para mejorar sus propiedades fisicoquímicas y estructurales, formando así bionanocompuestos. Estos últimos han recibido considerable atención como materiales alternativos a los compuestos convencionales, ya que poseen grandes áreas superficiales, propiedades mecánicas mejoradas, biodegradabilidad, características térmicas y físicas. El quitosano es otro biopolímero que se ha utilizado en la síntesis de películas compuestas (Rhim, Ng y Rhim, 2007; Abdus Sobhan et al., 2021).

Por otra parte, los polímeros conductores son materiales de gran interés debido a sus sobresalientes propiedades eléctricas, su resistencia a condiciones ambientales adversas y su fuerte capacidad de interacción con biomoléculas. Gracias a su versatilidad para ser modificados y cumplir con los requisitos específicos de cada aplicación, estos polímeros tienen un amplio rango de usos potenciales. En años recientes, se han utilizado comúnmente como materiales prometedores para

desarrollar sensores más sensibles y con límites de detección de más bajas concentraciones (D. Aycán et al., 2019). Al igual que los metales conductores como cobre, aluminio, oro y plata, estos polímeros conductores a través de su estructura, ofrecen poca resistencia al paso de la corriente eléctrica debido a la presencia de electrones libres o electrones de conducción que pueden moverse fácilmente dentro del material cuando se aplica un campo eléctrico. La estructura molecular y los enlaces conjugados presentes en los polímeros conductores son los responsables de conferirles propiedades conductoras (Nikhil S. Mane et al., 2024).

1.2 Arracacha y romero.

La arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) es un tubérculo nativo de la región andina de América del Sur, cultivado en países como Colombia, Perú, Bolivia y Ecuador a alturas entre 1.500 y 2.500 metros sobre el nivel del mar (figura1). Su temperatura óptima de cultivo se encuentra entre 15°C a 25°C, con un rendimiento comercial que varía entre 10 y 20 toneladas por hectárea. Los tubérculos de arracacha pueden presentar colores blanco, amarillo y morado (Magda I. Pinzón et al., 2020). Se pueden obtener diversos tipos de almidones a partir de raíces, tubérculos, frutas, cereales, semillas, hojas y tallos. La morfología, estructura molecular, relación amilosa/amilopectina, contenido mineral y composición química del almidón varían dependiendo de la fuente y las condiciones ambientales de cultivo. Los gránulos de almidón están compuestos principalmente por dos macromoléculas llamadas amilosa y amilopectina, cada una con propiedades diferentes como también algunos carotenoides. La amilosa es una molécula lineal formada por unidades de α -glucano conectadas por enlaces α -(1-4), mientras que la amilopectina tiene ramificaciones α -(1-6) y enlaces α -(1-4) (Londoño-Restrepo et al., 2018; Nanci Castanha et al., 2018).

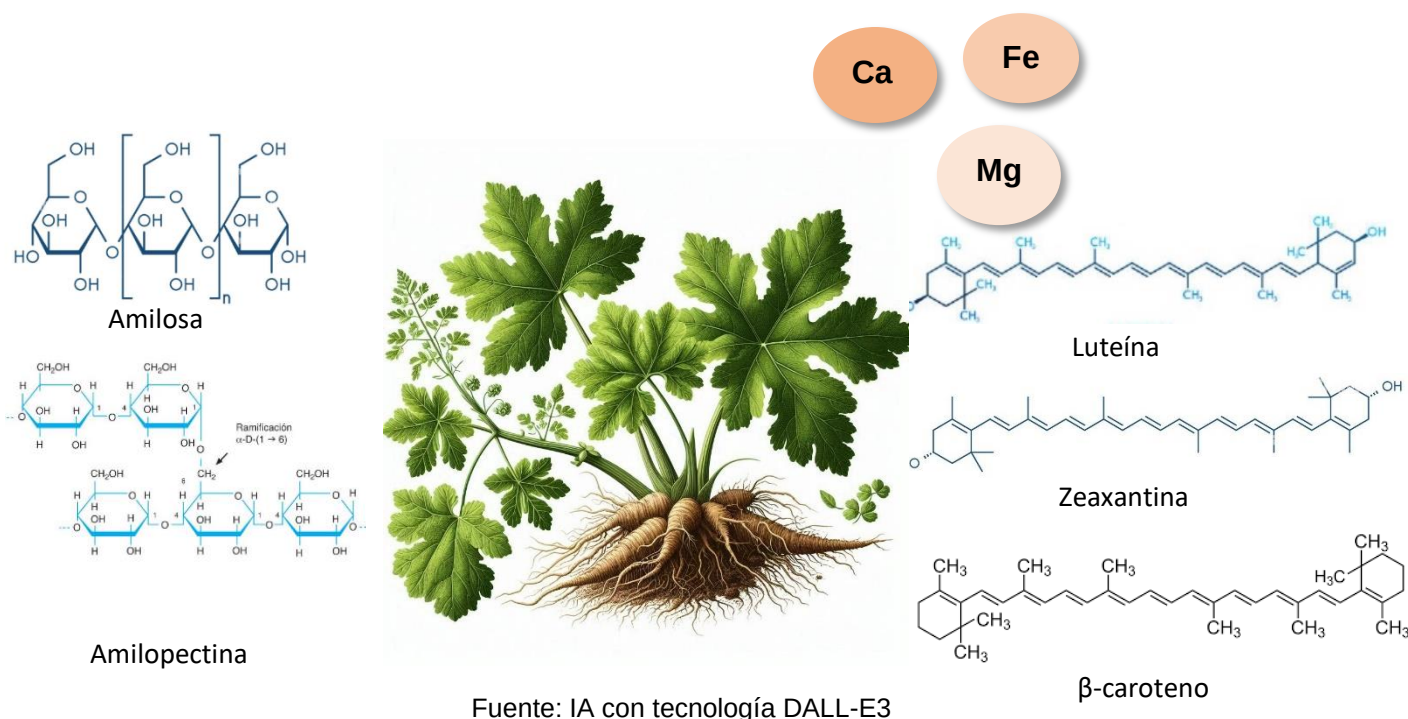


Figura 1. Representación gráfica de la arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*).

Por otro lado, los biopolímeros son una alternativa ecológica atractiva a los polímeros convencionales, debido a su excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad. Sin embargo, su naturaleza amorfa y no conductora limita su potencial como material/sustrato biosensor activo. Para mejorar su rendimiento bioanalítico, los biopolímeros se combinan con materiales conductores para mejorar sus características físicas y químicas. La mejora de las propiedades de los polímeros se genera mediante la incorporación de nanopartículas en películas de biopolímeros para producir nanocompuestos (Sougandhi, PR et al., 2022; Vasudevan, M et al., 2022).

El romero (*Rosmarinus officinalis*) es una planta aromática que ha despertado un gran interés en el campo de la nanotecnología debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. La producción más limpia de nanomateriales ha captado considerable atención, principalmente debido a sus fascinantes propiedades fisicoquímicas. Esto facilita su aplicación en diversos campos como la industria farmacéutica, biomateriales, biosensores, industria alimentaria y agricultura (Gustavo Sganzerla et al., 2023). Esta planta aromática ofrece un enfoque prometedor para la síntesis de nanomateriales, aprovechando sus

compuestos naturales y evitando el uso de sustancias químicas tóxicas, lo cual resulta más respetuoso con el medio ambiente (Nieto, G et al.,2018).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general.

Sintetizar un composite de almidón de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) / Cu para la detección de mezclas etanol y metanol.

2.2 Objetivos específicos.

- Sintetizar la biopelícula de almidón de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) con agregados de cobre.
- Evaluar la resistencia eléctrica de las biopelículas en presencia de etanol, metanol y mezcla etanol-metanol a diferentes concentraciones.

3. METODOLOGÍA

A continuación, se indican los reactivos, materiales, equipos y el procedimiento usado en esta investigación.

3.1 Reactivos

- ❖ Agua destilada
- ❖ Hidróxido de sodio (Merk)
- ❖ Yoduro de potasio (Merck)
- ❖ Sulfato de cobre (Honeywell)
- ❖ Glicerol 99% (Panareac)
- ❖ Etanol 96 % (Sigma-aldrich)
- ❖ Metanol 100% (Sigma-aldrich)
- ❖ Acido tricloroacético (TCA), Merck al 80%.
- ❖ Cloruro de calcio (Panreac)
- ❖ Yodo metálico (Merck)

3.2 Equipos

- ❖ Espectrofotómetro FTIR marca SHIMADZU modelo IR Prestige-21, provisto de un detector DLATGS (Deuterated L- Alanine Doped Triglycene Sulphate) y equipado con un accesorio ATR modelo MIRacle, marca Pike Technologies, con cristal de diamante, en el rango de $4000 - 500 \text{ cm}^{-1}$ con 24 escaneos por muestra.
- ❖ Termobalanza DTG-60 marca Shimadzu, atmósfera de nitrógeno a 100 mL/min y rampa de calentamiento de $10 \text{ }^{\circ}\text{C/min}$. El equipo está ubicado en el laboratorio de microscopía en el Parque Tecnológico Guatiguará.
- ❖ Espectrofotómetro UV-vis marca SHIMADZU, modelo UV-2401PC, en un barrido de $900 \text{ nm} - 190 \text{ nm}$.

- ❖ Microscopio electrónico QUANTA FEG 650. Se aplicó la técnica de adsorción–desorción de gases en un equipo Micromeritics Asap 2020 plus usando como gas de adsorción Nitrógeno a 77K. Para ello, con anterioridad las muestras se sometieron a desgasificación durante 10 horas hasta alcanzar 10µmHg, durante este proceso se elevó la temperatura hasta 30°C. El equipo está ubicado en el laboratorio de microscopía en el Parque Tecnológico Guatiguará.
- ❖ Cromatógrafo de gases (GC) AT 7890A (Agilent Technologies, Palo Alto, California, EE. UU.), acoplado a un detector de espectrometría de masas de triple-cuadrapolo (Agilent Technologies 6400). El equipo se encuentra ubicado en el Parque Tecnológico Guatiguará.
- ❖ Baño Ultrasonido, Frecuencia de 40 kHz, marca BRANSON 5800.
- ❖ Balanza analítica modelo PW 254 de precisión 0,0001g, marca aeADAM
- ❖ Horno mufla, marca Ney VULCAN D-550.
- ❖ Para graficar y analizar los diferentes espectros, como también para el análisis estadístico por PCA, se usó la licencia académica de aprendizaje del software OriginPro 2024b.
- ❖ Multímetro digital marca FLUKE 116
- ❖ Calibrador digital (Zero 0-150 mm)

3.3 Procedimiento

3.3.1 Muestreo

3.3.1.1 Recolección de arracacha.

La recolección de la arracacha se realizó en la finca Peña Blanca, que se encuentra ubicada a las afueras de Pamplona, Norte de Santander. Aproximadamente 5 kg de biomasa que se trasladó a las instalaciones del laboratorio de Biocalorimetría y se almacenó a -18°C hasta su uso.

3.3.1.2 Recolección de romero.

Se recolectó 1 kg de romero fresco en la finca los Espejos localizada a las afuera de Pamplona, Norte de Santander, que fue trasladado al laboratorio. Una vez allí se procedió a deshojar las ramas una a una hasta obtener 5 g de muestra. Se almacenó en una bolsa Ziploc y se guardó en el congelador a -18 °C hasta su uso.

3.4 Extracciones

3.4.1 Extracción de almidón de arracacha.

La arracacha se descongeló a temperatura ambiente y se procedió a su procesamiento mediante lavado, pelado y rayado. Por cada 500 g de biomasa se adicionó 500 mL de agua destilada, se realizó un licuado usando una licuadora Osterizer a potencia 1, posteriormente el licuado se filtró, usando un filtro de tela con orificio de 0,2 mm de diámetro, obteniendo la separación de las dos fases: sólido y filtrado. El filtrado se llevó a decantación a una temperatura de 4 °C para separar las fibras del tubérculo de la lechada. Una vez obtenido el almidón se lavó con etanol al 70% para eliminar pigmentaciones presentes en el material. El sólido húmedo obtenido se llevó al horno para su secado a una temperatura de 50 °C, por 12 horas. El almidón obtenido se molturó hasta obtener un polvo fino.

3.4.2 Determinación de cenizas del almidón.

El contenido de cenizas de las raíces de arracacha se determinó siguiendo la norma ISO 3593:1981. Las muestras se calcinaron en una mufla a 550 °C hasta su completa incineración. Una vez terminado este proceso, los crisoles conteniendo las cenizas se transfirieron a un desecador para su enfriamiento hasta alcanzar la temperatura ambiente, y luego se pesaron. El contenido de cenizas se calculó como la diferencia entre el peso final e inicial, expresado como porcentaje del peso de la muestra original.

3.4.2.1 Morfología del almidón.

El análisis morfológico del almidón de arracacha se hizo con un microscopio marca (Primo Star) con lentes objetivos de un aumento máximo de 100x y mínimo de 4x. La muestra se observó en 4X, 10X, 40X y 100X, sin preparación previa.

3.4.2.2 Determinación del porcentaje de amilosa a través de colorimetría.

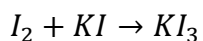
Para la determinación del porcentaje de amilosa, se siguió la norma ISO 6647:1987 y el procedimiento descrito por Chrastil. Se pesaron aproximadamente 0,02 g del almidón extraído y se transfirieron a un tubo de ensayo con 5 mL de metanol al 100%. La mezcla se calentó en baño María a 60°C durante 30 minutos, luego se dejó en reposo a temperatura ambiente antes de centrifugarla a 2.500 rpm durante 5 minutos, conservando el sólido y descartando el sobrenadante. El sólido se lavó tres veces con metanol. Al residuo sólido se le agregaron 4 mL de agua destilada y 2 mL de una solución 1M de NaOH, agitando hasta su completa disolución. La solución resultante se calentó en baño de aceite mineral a 85°C durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, se tomaron 0,1 mL de la solución y se transfirieron a un nuevo tubo de ensayo, agregando 5 mL de TCA al 0,5% p/p y 50 µL de un complejo de I₂-KI 0,01 N. La mezcla se agitó y se dejó reposar en oscuridad durante 30 minutos. Finalmente, se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV-vis a una longitud de onda de 600 nm.

Se realizó una curva de calibración con un estándar de amilosa al 98% preparando las siguientes concentraciones: 10, 20, 30, 40, 50 y 60% p/p, para determinar la absorbividad de cada una.

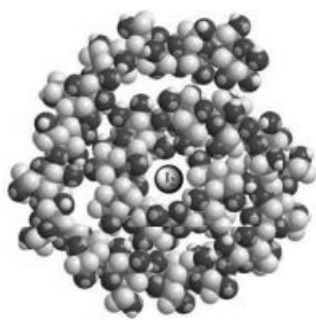
3.4.2.3 Interacción entre el complejo de yodo y la amilosa.

La molécula de yodo, I₂, está formada por dos átomos de yodo unidos mediante un enlace covalente y, como consecuencia de su carácter apolar, el yodo es prácticamente insoluble en agua. Después de agregar agua sobre el yodo y comprobar que no se disolvió se le añadió yoduro potásico que se une con el yodo

formando el compuesto KI_3 que ya es soluble en agua porque tiene carácter iónico (formado por el catión potasio y el anión triyoduro), y dando una disolución de coloración rojiza que es lo que se conoce como reactivo de Lugol (Martín-Sánchez, M et al.,2013).



Es importante mencionar que este complejo se utiliza para identificar la amilosa presente en el almidón. En esta interacción, el yodo se ubica en el centro de la estructura helicoidal formada por la amilosa, lo que resulta en un cambio de color a azul (Carrasquero-Durán, A., & Navas, P. B., 2015).



Tomado de Carrasquero et al., (2015)

Figura 2. *Complejo amilosa yodo*

3.4.3 Extracción de hidrolato de romero.

Se tomaron aproximadamente 0,15 g de romero, previamente descongelado sobre papel absorbente a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se transfirieron a un tubo de ensayo y se agregaron 15 mL de agua destilada. Esta mezcla se sometió a baño ultrasónico durante 60 minutos con agua hirviendo. Una vez transcurrido el tiempo en el ultrasonido, la solución se filtró y se almacenó bien sellada a temperatura ambiente.

3.4.3.1 Análisis cromatográfico GC-MS del hidrolato de romero.

El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo de gases (GC) at 7890a (agilent technologies, palo alto, california, EE. UU.). La inyección se realizó en modo splitless (viny = 1 μ l), columna polar hp- innowax (60m x 0,20 mm x 0,25 μ m).

3.5.4 Preparación de nanopartículas de cobre.

Se prepararon 50 mL de una solución 2 mM de CuCl_2 . En un vial se agregó 13 mL de hidrolato de romero y de 2 mL de CuCl_2 al 2 mM. Esta mezcla se llevó a ultrasonido por 1 h, al cabo de la cual, la solución se volvió marrón. Esta solución se caracterizó mediante espectroscopía UV-vis.

3.5.4.1 Determinación del tamaño de nanopartícula de cobre.

El diámetro de las nanopartículas metálicas se estimó mediante el método validado por Haiss et al.,2007. Este método relaciona el diámetro aproximado de la región del plasmón superficial con el tamaño de la nanopartícula. El plasmón se forma por la interacción entre los electrones del metal conductor y los fotones del haz de luz incidente.

Haiss (2007) y colaboradores correlacionaron exitosamente el diámetro de las nanopartículas de oro sintetizadas con la región del plasmón, validando sus resultados mediante microscopía electrónica de transmisión, con un error absoluto del 3%. Esta relación se expresa en la ecuación 1:

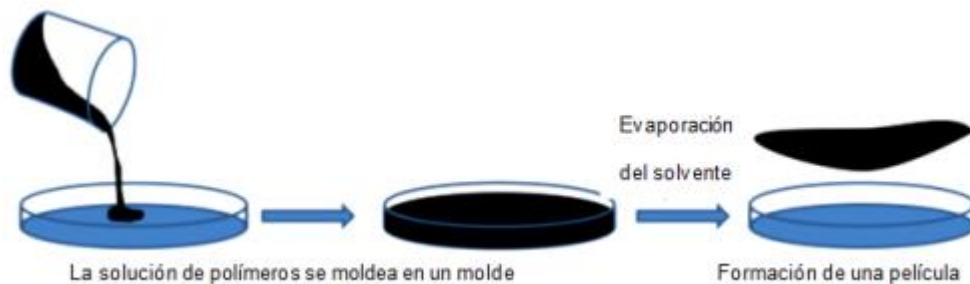
$$d = Ln\left(\frac{\lambda_{SPR} - \lambda_0}{\frac{L_1}{L_2}}\right)$$

Ecuación 1: Determinación del tamaño de partícula.

Donde λ_{SPR} representa la longitud de onda del máximo de absorbancia (región del plasmón), λ_0 es la longitud de onda de menor absorbancia, L_1 y L_2 son parámetros de ajuste teóricos. Haiss determinó que $L_1 = 6,53$ y $L_2 = 0,0216$ para nanopartículas con diámetros entre 25 nm y 110 nm.

3.5 Síntesis de biopelícula.

Para la elaboración de las biopelículas se mezclaron 137 g de agua, 12 g de almidón, 3 g de glicerol y 3 mL de la solución correspondiente (hidrolato, hidrolato con nanopartículas de cobre), también se elaboraron biopelículas sin hidrolato ni agregados de cobre con las cantidades mencionadas anteriormente. El procedimiento de síntesis fue el siguiente: la mezcla anterior se calentó a 70°C con agitación constante a 40 rpm durante 20 minutos, hasta observar un cambio en la coloración de transparente a opalescente. Inmediatamente después, se conectó la entrada del Erlenmeyer a una bomba de vacío y se aplicó vacío hasta que cesó el burbujeo. Sin dejar enfriar la mezcla, se vertió rápidamente en cajas Petri de 14,1 mm de alto y 90 mm de diámetro (figura 3). Las muestras se secaron en un horno a 50 °C durante 33 horas. A las biopelículas se les determinó su grosor con un calibrador y se sometieron a análisis mediante espectroscopía UV-Vis, ATR-FTIR, análisis termogravimétrico (TGA) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Todo el proceso se realizó por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados.



Fuente: Sayyar et al., (2017)

Figura 3. Representación esquemática del molde de la biopelícula.

3.5.1 Permeabilidad de biopelícula.

De acuerdo con la norma ASTM E96/E96M-16, se realizó la determinación de la permeabilidad. Para cada ensayo (nanopartículas de cobre, hidrolato y blanco) se utilizaron 5 viales. A estos se les retiró la parte superior y se pesaron. Luego, se agregaron 1,5 g de $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y la biopelícula y se registró su peso. Posteriormente se sellaron y se transfirieron a un desecador que contenía una solución concentrada de KBr para garantizar una humedad relativa de 80%. Se realizó el control de peso de los viales durante las tres primeras horas, y luego dos veces por día hasta registrar un peso constante.

3.5.2 Tratamiento espectros ATR-FTIR.

En la figura 4 se observa el tratamiento de corrección de línea base de los espectros de infrarrojo. Como primer paso se hizo un smooth usando el método Savitzky-Galy para 15 puntos en un polinomio de segundo orden. Seguidamente, se realizó la sustracción de línea base de forma manual, basado en los mínimos de la segunda derivada, y se seleccionaron 7 puntos. Debido a que el espectro no es igual, se realiza una integración Splint. Esto se hace de acuerdo con la intensidad de los picos.

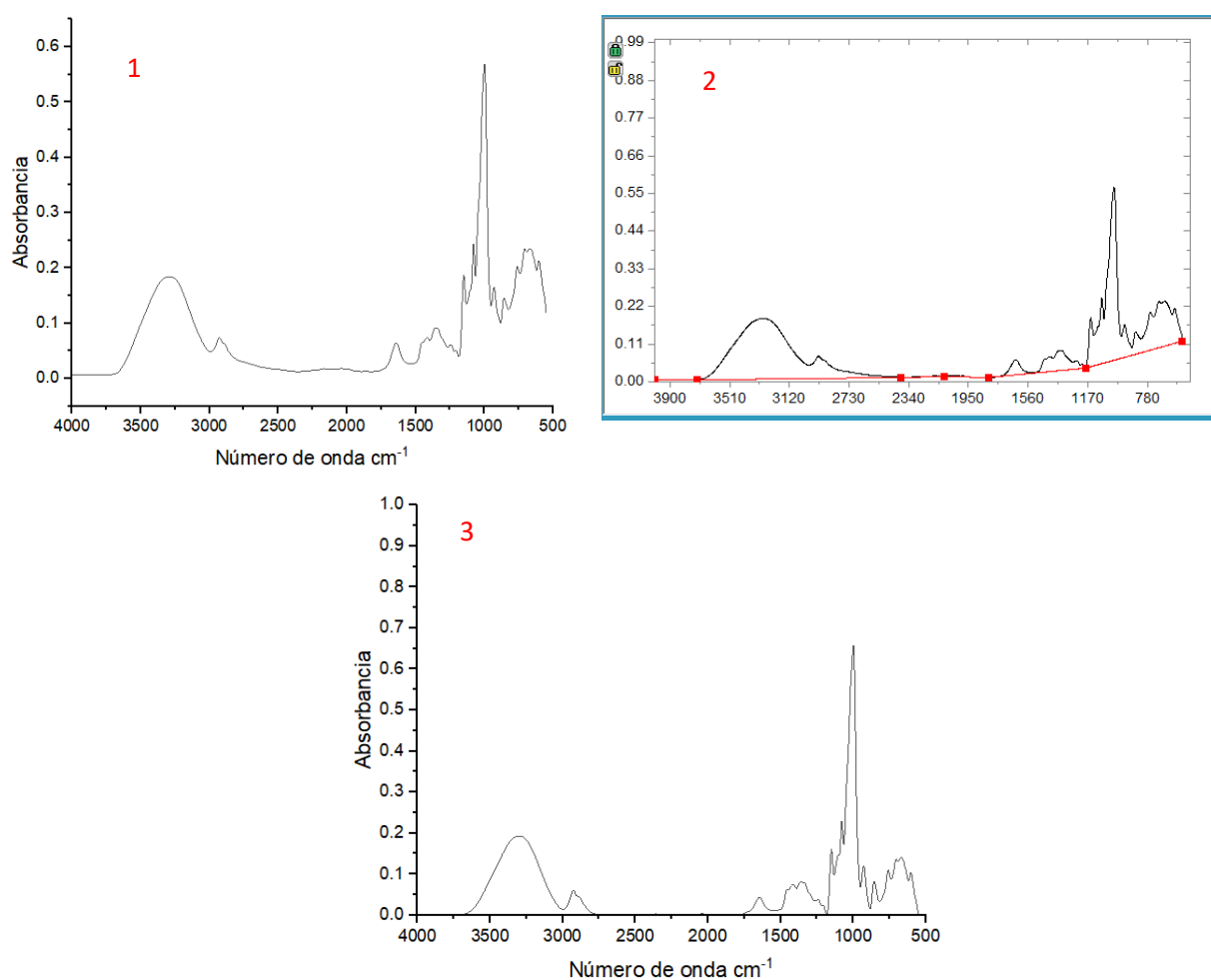


Figura 4. Procedimiento de la corrección de la línea base de los espectros infrarrojos.

3.6 Construcción del biosensor y cámara de detección.

El montaje del sensor se realizó utilizando una lámina de plastificar documentos (polipropileno), cortada en tiras de 1,7 mm de ancho por 5 cm de largo. En uno de los extremos de cada tira, se realizó un orificio rectangular de 13,78 mm por 5,78 mm. La biopelícula, cortada en fragmentos de 1 cm por 2 cm, se insertó entre dos de estas tiras. Junto a ella, se colocaron hilos de cobre de 7 cm de longitud de un diámetro 0,24 mm, manteniendo una separación de 0,5 mm entre sí. El conjunto se selló aplicando presión con una plancha, previamente calentada a 60°C, hasta lograr una estructura fija y compacta.

Una vez obtenido el sensor, se diseñó una cámara de detección utilizando un recipiente hermético de polipropileno de 250 mL. Se perforaron dos agujeros de 0,3 mm de diámetro en la parte lateral para la salida de los cables de cobre, los cuales se sellaron con papel Parafilm. Además, se diseñó una salida de 0,50 mm de diámetro para conectar herméticamente una bomba de vacío. En la tapa, se colocó una entrada de 0,50 mm para la inyección de muestras. Para cada lectura, se usó una lámina nueva cuyo valor de resistencia sin impregnación fue de $35,7 \pm 0,1 \text{ M}\Omega$. Con la ayuda de un vacuómetro (figura 5), se logró disminuir la presión interna de la cámara de detección a 80 kPa, asegurando la ausencia de flujo de aire.



Figura 5. *Vacuómetro.*

3.7 Preparación de soluciones de metanol y etanol.

A partir de los alcoholes puros se preparó 100mL de solución en las siguientes concentraciones en porcentaje p/p: 40% de etanol y 0% de metanol; 35% de etanol y 5% de metanol; 30% de etanol y 10% de metanol; 25% de etanol y 15% de metanol; 20% de etanol y 20% de metanol; y 0% de etanol y 40% de metanol. Estas mezclas fueron inyectadas cada una por separado en la cámara de detección, para establecer la capacidad del sistema de diferenciar entre los dos alcoholes.

Para evaluar el efecto matriz del agua se prepararon mezclas (100mL) de metanol y etanol con agua destilada (60%) a las siguientes concentraciones en porcentaje p/p: 40% de etanol y 0% de metanol; 35% de etanol y 5% de metanol; 30% de etanol y 10% de metanol; 25% de etanol y 15% de metanol; y 20% de etanol y 20% de metanol.

3.8 Registro de datos en el sistema de detección.

Para el registro de los datos se midió la resistencia eléctrica en unidades de M Ω . El procedimiento de medida inició conectando los alambres de cobre de la lámina con el sensor al multímetro. Luego se cerró la cámara, se aplicó vacío y se comprobó que la lectura del multímetro fuera $35,7 \pm 0,1$ M Ω . A continuación, se inyectaron 0,5mL de mezcla de alcoholes sobre la biopelícula; se esperó 30 segundos hasta estabilización del valor de la resistencia eléctrica, y se registró el valor. Terminado el registro se abrió la cámara se retiró la lámina con el sensor, se limpió la cámara y se repitió el proceso con cada una de las soluciones mencionadas anteriormente, para un total de 10 réplicas de cada una.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS.

Al desarrollar la metodología propuesta, se obtuvieron los resultados que se discuten a continuación.

4.1.1 Extracción del almidón.

Como se detalló en el apartado 3.4.1 y se ilustra en la figura 6, el proceso de extracción del almidón de arracacha siguió las etapas descritas por Castanha et al. (2017). El peso promedio de los tubérculos empleados fue de $273,29 \pm 16,03$ g, con un $10,01 \pm 1,31$ % p/p de cáscara retirada por raspado y un porcentaje de almidón seco de $5,56 \pm 0,58$ % p/p para cada una de las 10 réplicas que se realizaron. Adicionalmente, se determinó que la humedad a 110°C fue de $81,04 \pm 0,62$ %. El porcentaje p/p de almidón en base seca fue de $29,32 \pm 0,76$ %. Los anteriores valores concuerdan con lo reportado en literatura, donde se ha establecido porcentajes de almidón en base seca de 17 a 28% (Castanha, N et al., 2018; Carrascal Sánchez, J. J. 2003; Espín et al., 2004; Liendo et al. 2011; Adarve et al. 2012).

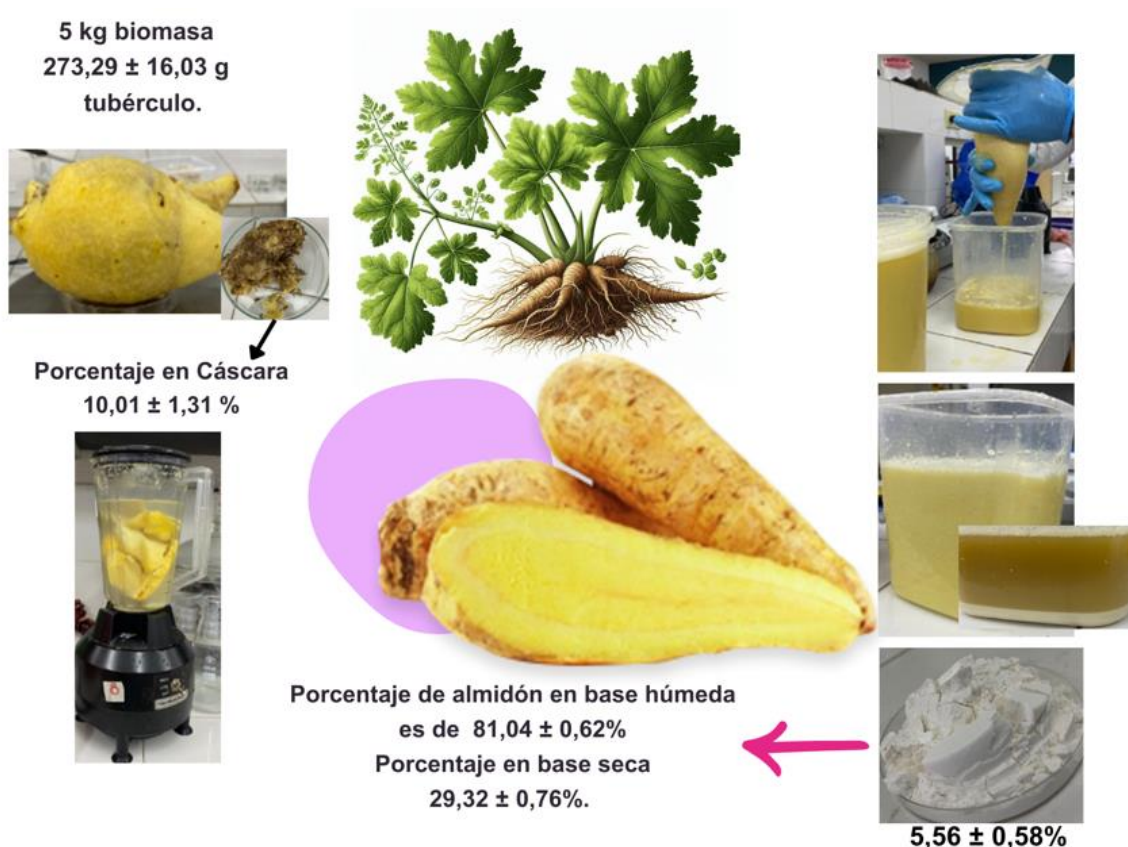


Figura 6. Diagrama del procedimiento de aislamiento del almidón de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*).

Al almidón obtenido se le determinó el porcentaje de amilosa acomplejándola con yodo, mediante método colorimétrico y la realización de una curva de calibración del complejo a 630 nm (figura 7). A partir de la curva se estableció que tiene una absorptividad de $0,015 \text{ cm}^{-1}\%^{-1}$, con una linealidad de 0,9993 de ajuste, lo cual permitió determinar que el porcentaje de amilosa es del $20,42 \pm 0,85\%$ para las 5 réplicas. Este resultado concuerda con lo reportado en literatura con valores de 15 a 22,9%, demostrando la buena calidad del almidón obtenido necesaria para la formación de biopelículas (Liendo et al., 2011; Alayo Sánchez 2015; Veiga Santos, P., & dosOuros, L.F. 2024).

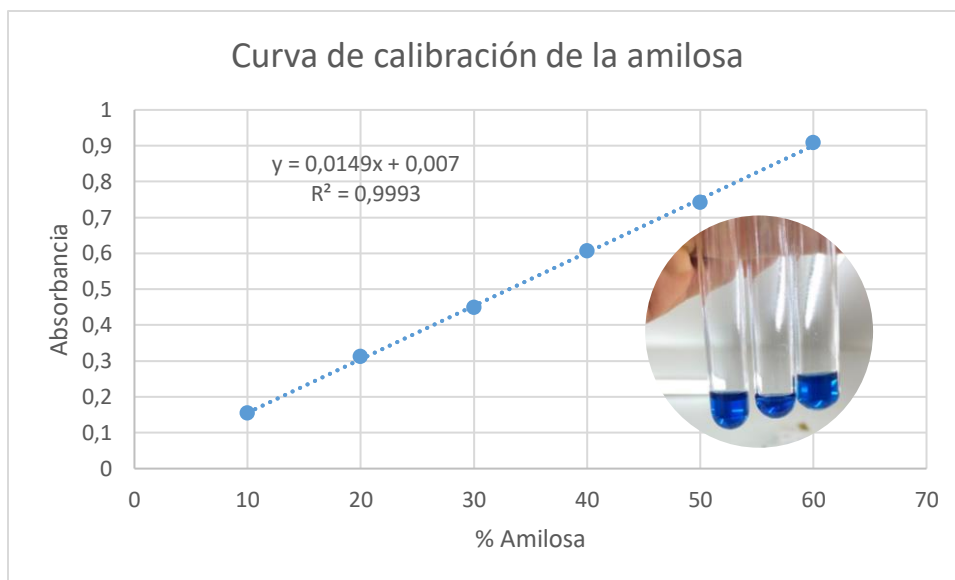


Figura 7. Curva de calibración del estándar de amilosa.

El almidón se caracterizó por ATR-FTIR, SEM y TGA con el objeto de establecer la presencia de grupos funcionales característicos, la morfología del grano, su tamaño, y la estabilidad térmica, tal como se muestra a continuación.

4.1.2 Espectroscopia de infrarrojo ATR-FTIR.

En la figura 8, se ilustran las bandas características del almidón de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*), en la cual se identificaron los grupos funcionales correspondientes a una estructura del tipo α -D-glucopiranososa y β -D-glucopiranososa, monómeros principales de las cadenas de amilosa y amilopectina que conformar el almidón (Pozo *et al.*, 2018). En el espectro IR no se observan impurezas asociados a la presencia de aminas primarias o secundarias procedentes de impurezas de proteínas vegetales, lo que denota que la metodología seguida logró aislar el almidón de manera apropiada para evitar estos contaminantes.

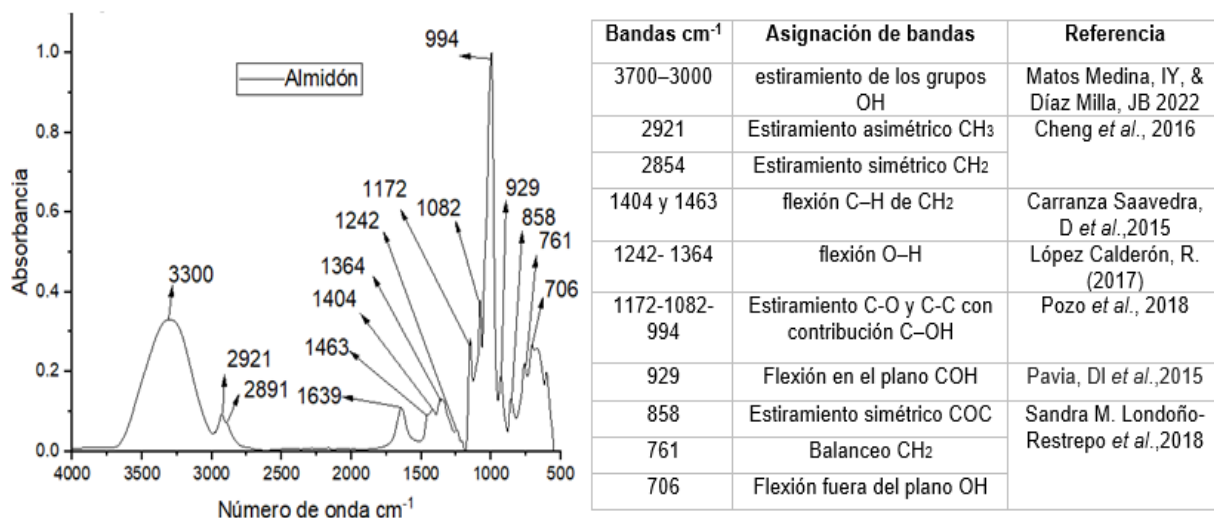


Figura 8. Espectro infrarrojo del almidón de arracacha con su respectiva asignación de grupos funcionales.

Continuando con la caracterización se procedió a estudiar la morfología del almidón obtenido con el objeto de descartar la presencia de formas fibrosas.

4.1.3 Morfología del almidón.

La figura 9 presenta imágenes de los gránulos de almidón de arracacha obtenidas mediante microscopio óptico a diferentes aumentos: 4X, 10X, 40X y 100X e imágenes SEM. Estas imágenes revelan la diversidad morfológica de los gránulos, que exhiben formas redondas elípticas con una notable variación en el tamaño de los gránulos. Esta heterogeneidad en la superficie de los gránulos de almidón podría estar relacionada con su disposición compacta dentro de las células de las raíces de arracacha, configurada de manera similar a un ensamblaje de Lego y que ha sido reportada por Alvis *et al.*, (2008); Londoño-Restrepo *et al.*, (2018), Restrepo *et al.* (2018), Nanci Castanha *et al.* (2018) y Carvalho *et al.* (2020), quienes también indicaron que la diversidad de tamaño de las formas promueve la gelificación más rápida.

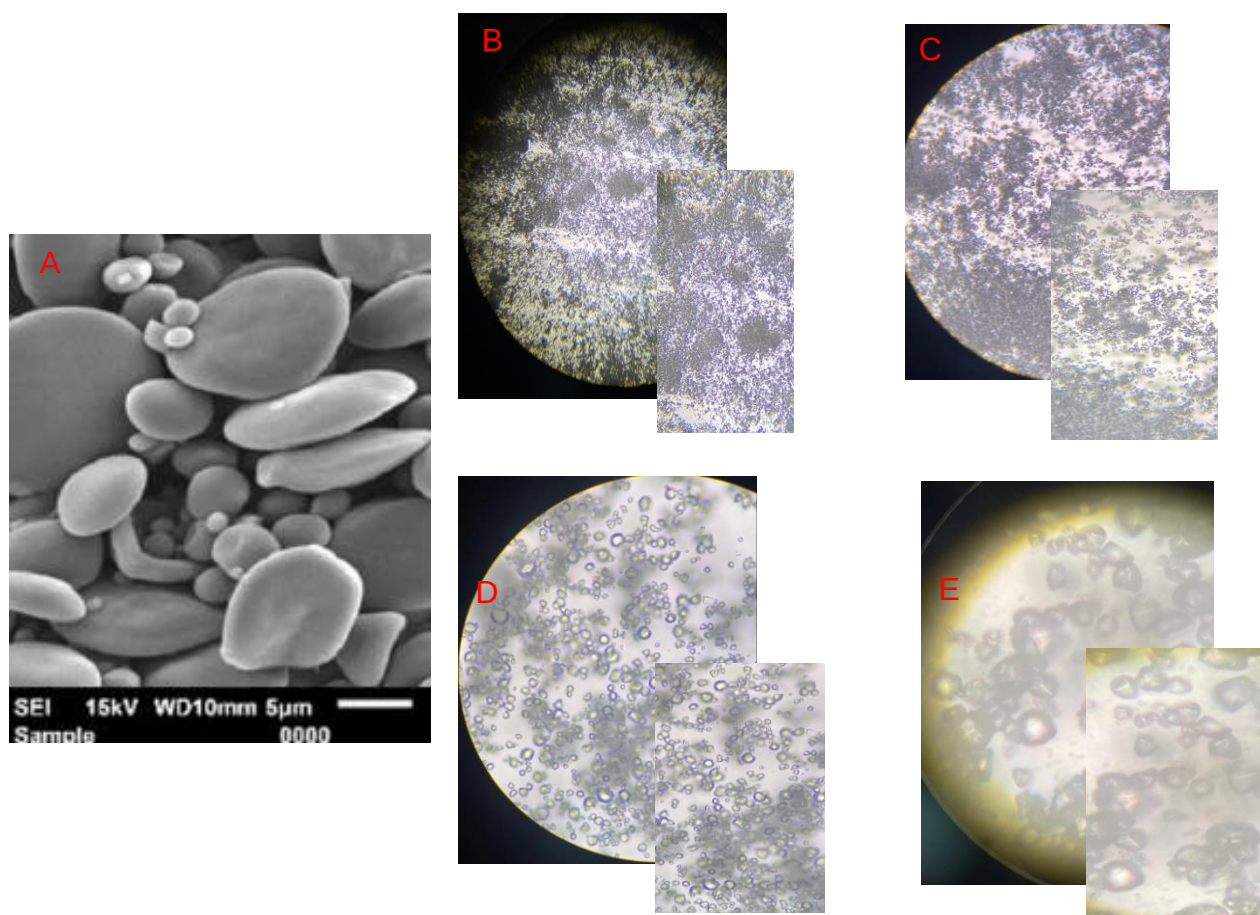


Figura 9. Micrografías del almidón de arracacha obtenidas mediante microscopio óptico y electrónico de barrido (SEM). a) SEM a 5 μm . b) 4X. c) 10X. d) 40X. e) 100X.

Conocida la morfología del almidón se hizo necesario establecer su estabilidad térmica para garantizar su homogeneidad y estabilidad a la temperatura de gelificación en la síntesis de las biopelículas.

4.1.4 Análisis del almidón TGA.

En la figura 10 muestra el resultado del análisis termogravimétrico del almidón de arracacha, con su respectiva derivada normalizada. Se pueden observar tres etapas

de este proceso: en la primera etapa, se presenta una pérdida de peso que se atribuye a la evaporación del agua fisisorbida presente en el almidón, esta fase inicia a 24,55°C y concluye a 102°C, el porcentaje en peso perdido en esta etapa es de 4,97%, lo que se explica como pérdida de agua. Este valor concuerda con estudios sobre el contenido de humedad de los almidones; como el Codex alimentarius que establece que un almidón de buena calidad debe tener un contenido de humedad máximo el 13,50% (Alayo Sánchez, 2015). La segunda etapa muestra un decaimiento pronunciado de la curva entre 272,38°C y 345,07°C con un máximo punto de descomposición de acuerdo con la derivada de 337,41°C, en este rango, se observan pérdidas significativas de masa de 89,51%, lo que representa la descomposición de las cadenas moleculares del almidón por deshidratación de los hidroxilos contenidos en sus monómeros glucosídicos y posterior pirólisis de la muestra. Para almidones, la temperatura inicial de la descomposición se espera que se presente a 230°C (Hernández Sierra, K. A. 2017). A partir del termograma (TGA) se pudo determinar que la cantidad de ceniza presente a 500°C es de 3,24% valor que concuerda con literatura (Calizaya Ramos, C. A. 2017).

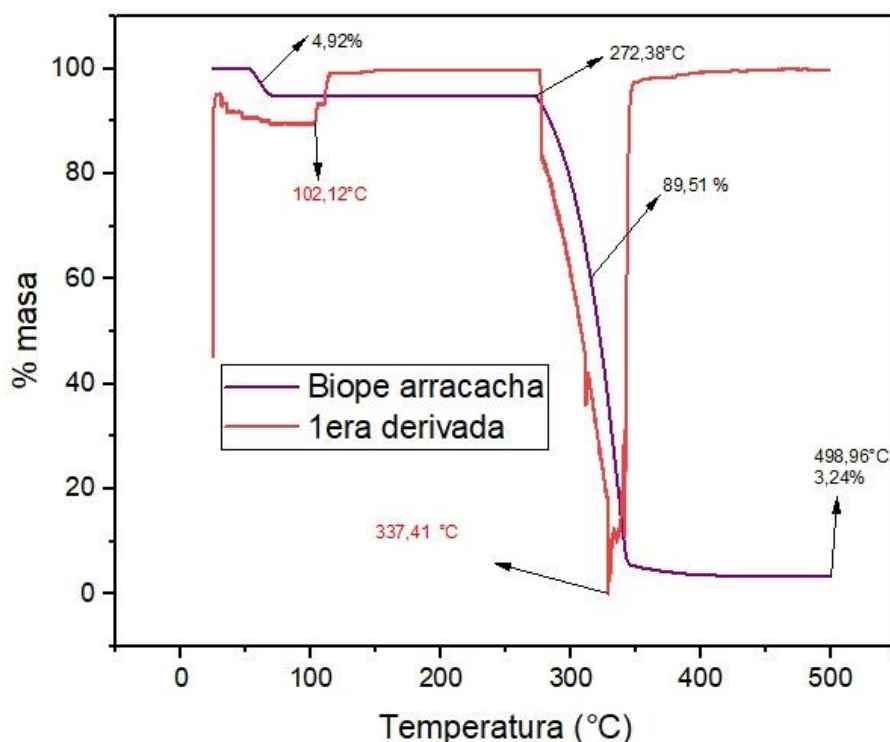


Figura 10. TGA del almidón de arracacha.

Las anteriores caracterizaciones permitieron evidenciar que se logró la obtención de la materia prima de almidón con buenas características para la síntesis de las biopelículas.

4.2 Extracción del hidrolato de romero (*Rosmarinus officinalis* L).

Como se detalló en la sección 3.4.3 y se muestra en la figura 11, se llevó a cabo la extracción del hidrolato de romero, realizando 10 réplicas. El proceso de extracción arrojó un porcentaje de masa disuelta de $7,54 \pm 0,53\%$ p/p en base seca del material vegetal, lo que denota la solubilidad de metabolitos. Este valor está dentro del rango de 1 a 20% reportado por Andrade *et al.*, 2018.

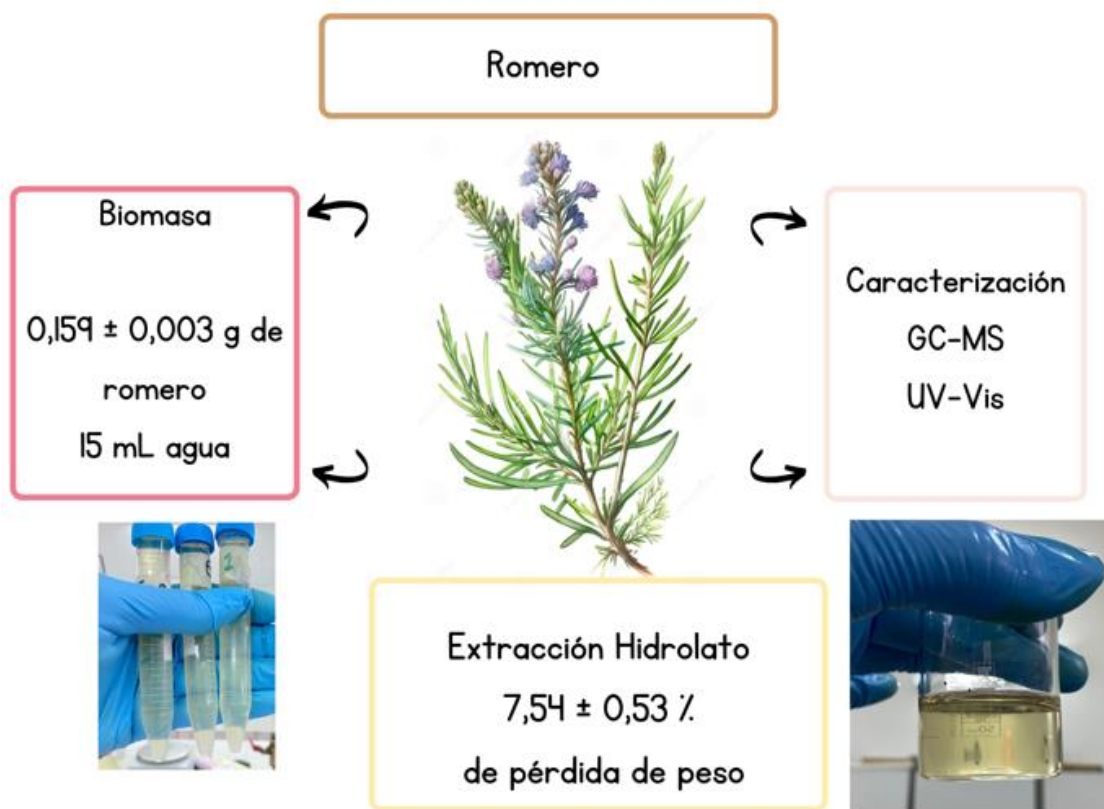


Figura 11. Representación esquemática del proceso de extracción del hidrolato de romero.

Para determinar la composición presuntiva del hidrolato de romero se realizó un análisis cromatográfico que se muestra a continuación.

4.2.1 Cromatografía de gases GC-MS para el hidrolato.

En la figura 12 se presenta el cromatograma obtenido para el hidrolato de romero, este análisis arrojó la identificación de 14 compuestos en un rango de detección de 7 a 10 minutos, los cuales presentan estructuras del tipo terpenos, que son los compuestos externos que emplea la planta en sus hojas para la protección contra depredadores. Las extracciones con solventes polares como agua, etanol o sus mezclas en diversas concentraciones suelen tener esta composición debido a la solubilidad que presentan los terpenos y di terpenos en estos solventes (Miljanović, A et al.,2023; Garzoli, S et al.,2021; Wollinger, A et al., 2016;)

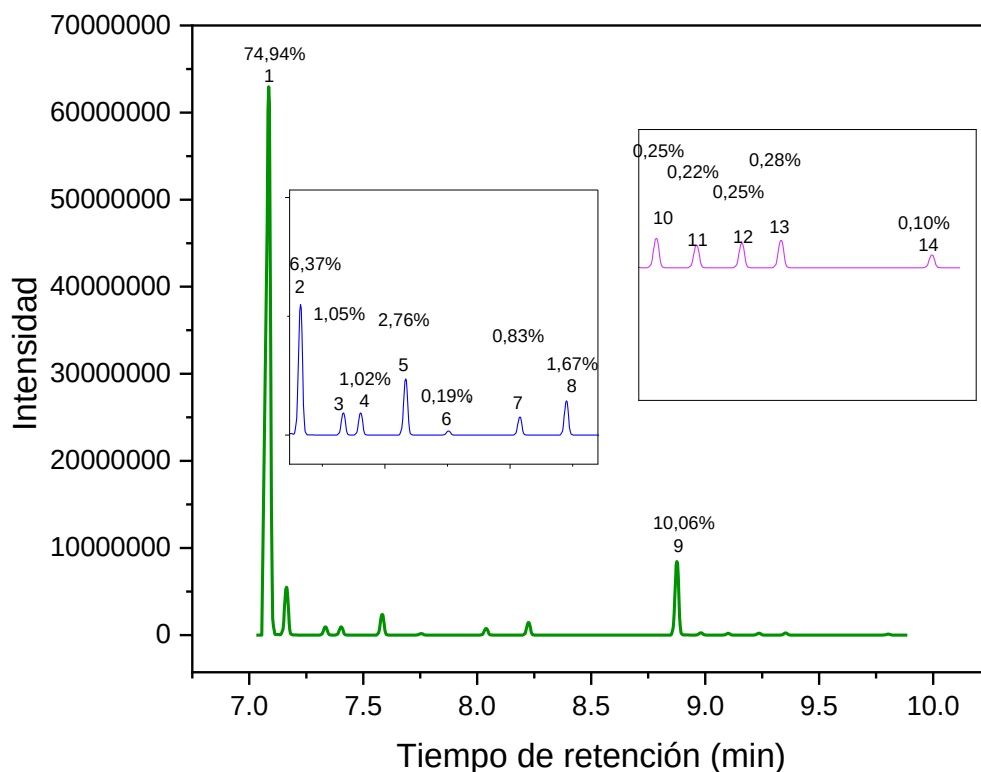
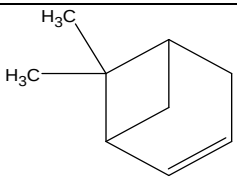
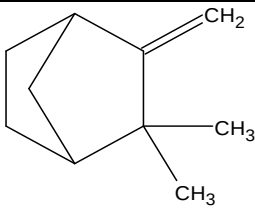
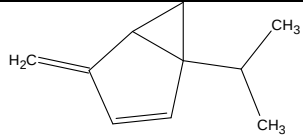
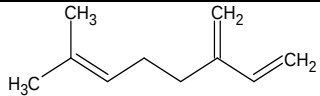
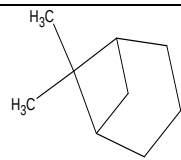
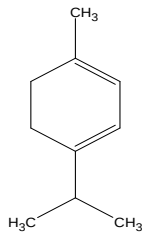
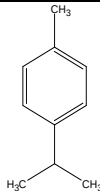
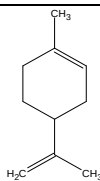
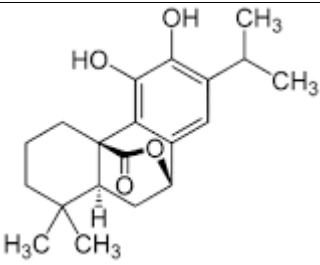
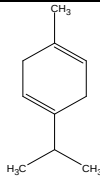


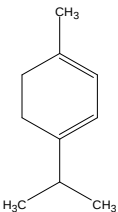
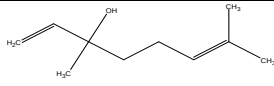
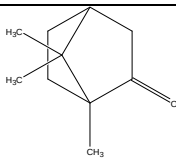
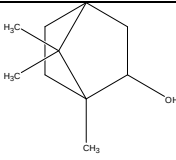
Figura 12. Cromatograma GC-MS del hidrolato de romero y sus abundancias relativas.

Cada una de las señales se identificó con base en la ruta de fragmentación de masas, estableciendo que los compuestos identificados son los mostrados en la tabla 1. Los cuales se clasifican estructuralmente como terpeno y di terpenos, adicionalmente, en dicha tabla se incluyen referencias de investigaciones que han identificado cada componente en sistemas de extracción con solventes polares, mediante diversos métodos de extracción. De acuerdo con el análisis cromatográfico se deduce que el hidrolato obtenido es rico en compuestos cíclicos con dobles enlaces y moléculas como el carnasol que son reductores fitoquímicos que facilitan la transición de cationes a su estado metálico como el Cu^{2+} a Cu^0 (Habtemariam, S. 2023; Masuda, T., Kirikihira, T., & Takeda, Y. 2005; Boufetacha, M et al.,2024).

Tabla 1. *Compuestos determinados por cromatografía de gases.*

Picos	Tiempo de retención	Abundancia relativa (%)	Molécula	Referencias
1	7,08	74,94	 α -pineno	Politi, M et al.,2018
2	7,16	6,37	 Canfeno	Arango, A et al.,2018
3	7,34	1,05	 Dehidrosabineno	Politi, M et al.,2018
4	7,40	1,02	 β -Mirceno	Yoshiro SAITO et al.,2004
5	7,58	2,76	 β -Pineno	Camacho-Romero et al.,2017

6	7,76	0,19	 Terpineno	Szumny et al.,2010
7	8,04	0,83	 p-Cimeno	Politi, M et al.,2018
8	8,22	1,67	 Limoneno	Romeu et al., 2007
9	8,86	10,06	 Carnosol	Elamrani et al., 2000
10	8,98	0,25	 Y-terpineno	Flamini et al., 2002

11	9,09	0,22	 Terpinoleno	Castillo Silva et al.,2010
12	9,23	0,25	 Linalol	Castillo Silva et al.,2010
13	9,35	0,28	 Alcanfor	Politi, M et al.,2018
14	9,80	0,10	 Borneol	Politi, M et al.,2018

Después de la caracterización del hidrolato por CG-MS, se realizó un análisis infrarrojo a las hojas de romero antes y después de la extracción.

4.2.2 Espectroscopia infrarroja ATR-FTIR de hojas de romero antes y después de la extracción.

En la figura 13 se puede evidenciar el espectro de las hojas de romero antes (rana) y después (rdea) de la extracción del hidrolato de romero, donde se logra evidenciar que los espectros normalizados para una de las réplicas, indica diferencias en la absorbancia en sectores correspondientes a los grupos hidroxilos, C-H y C-O; que se asocian a los compuestos identificados en el análisis cromatográfico, es decir,

se evidencia de manera visual la pérdida de componentes en la planta, lo cual confirma la eficiencia del proceso.

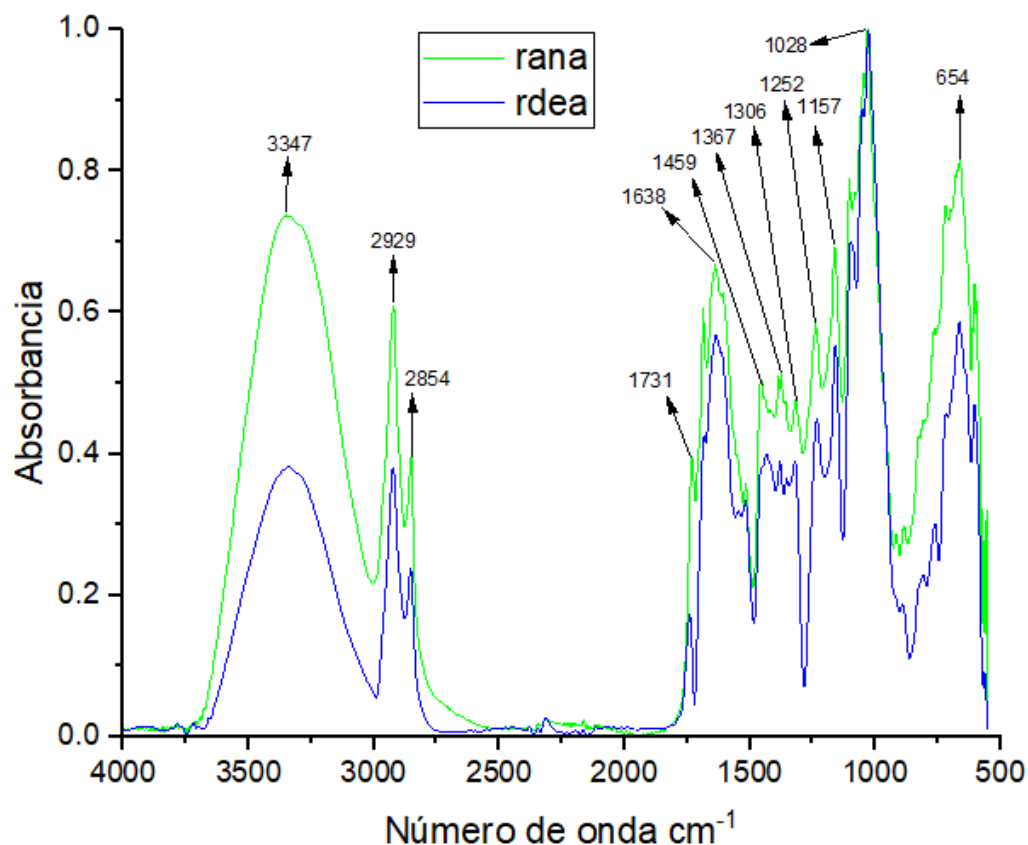


Figura 13. Espectros infrarrojos de hojas de romero. Antes de la extracción (rana), y, después de la extracción (rdea) del hidrolato.

La identificación de los grupos funcionales se presenta en la tabla 2. En ella también se incluyen algunas referencias de otros autores con resultados comparables.

Tabla 2: Atribuciones de bandas de las hojas de romero.

Bandas cm^{-1}	Atribución	Referencia
3.347	Grupo OH	Rezanejad et al., 2019
2.929	Estiramiento asimétrico C-H	Cheng et al., 2016

2.854	Estiramiento-H	
1.731	Estiramiento C=O en el grupo OH-C doble enlace O del ácido glucurónico	Cheng et al., 2016
1.638	Vibración de flexión O – H	
1.367	Vibraciones de flexión C–H	Zarrabi, A. y Ghasemi-Fasaei, R. 2021;
1.252	Estiramiento C–O en el grupo O C–O	Schulz y Baranska, 2007; Meriem Rafya et al., 2023
1.157	Vibración de estiramiento C – O	
1.028	Vibración de flexión C – O	López, W. et al., 2023
758	Estiramiento C=O	Cheng et al., 2016
654	Vibración fuera del plano C-H	

Para corroborar las diferencias encontradas en los espectros antes y después de la extracción se realizó un tratamiento estadístico multivariado de PCA en la región de 550 a 1.800 cm^{-1} , utilizando los valores de la segunda derivada del espectro (con smooth) con el fin de evitar la asignación de línea base de acuerdo con estudio de Chaqroune, A., & Taleb, M. (2022), en el cual se compara diversos métodos de extracción sobre el rendimiento de los extractos. Con el análisis PCA se obtuvo el plano factorial que se muestra en la figura 14, el cual, muestra un 85% de representación de la varianza y evidencia una clasificación agrupada para cada muestra. El clúster de clasificación permitió diferenciar las réplicas antes y después de la extracción.

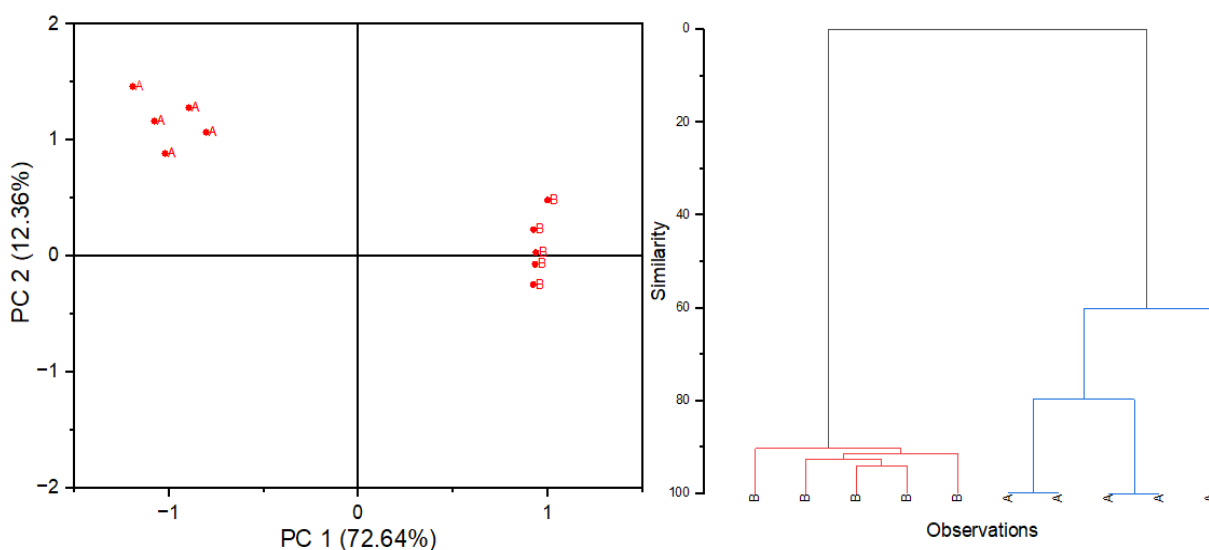


Figura 14. *Análisis multivariado y clúster de 2 agrupaciones para los sólidos de romero antes la extracción (A) y después de la extracción (B).*

Terminado en análisis de otro de los precursores, se procedió a realizar la síntesis y seguimiento de los agregados de cobre.

4.3 Agregados de cobre.

La caracterización de los agregados de cobre se realizó por espectroscopía UV-Vis, y el blanco utilizado fue el hidrolato de romero. En la figura 15 se exhiben algunos de los espectros obtenidos, en los cuales se observan máximos de absorbancia en 256-266 nm y 314-328 nm (tabla 3). Lo anterior permitió establecer que aplicando el cálculo para el efecto de plasmón superficial el tamaño de las nanopartículas de cobre fue de $16,82 \pm 2,71$ nm y $34,067 \pm 1,007$ nm. Estos resultados, además de concordar con lo reportado en literatura (10 a 80 nm), pueden generar una distribución más homogénea de los agregados en las biopelículas (Julian Eastoe *et al.*, 2006)(Ahmad, Mohamad M *et al.*, 2022).

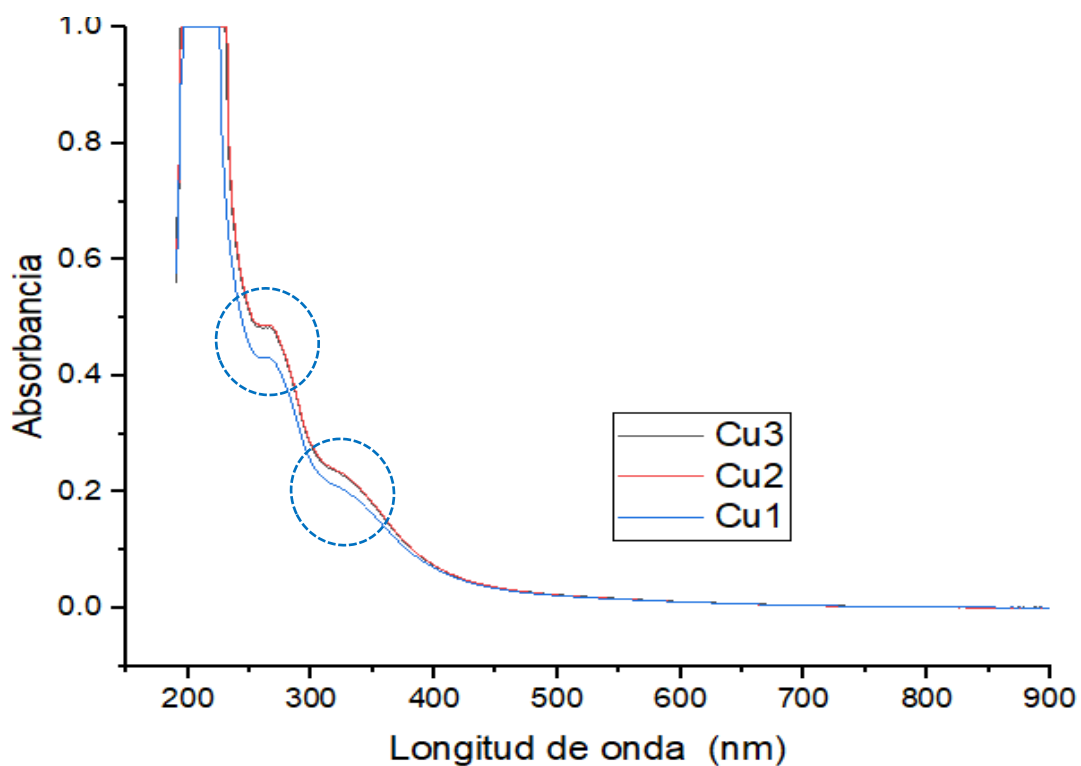


Figura 15. Espectro de absorción UV-visible de nanopartículas de cobre. Dónde Cu1,Cu2 y Cu3, son replicas.

Una vez formados los agregados de cobre se procedió a la vinculación de estos en la matriz biopolimérica.

Tabla 3. Parámetros establecidos para la determinación del tamaño de nanopartícula de Cu.

Muestra	λ mínima (nm)	λ máxima (nm)	Tamaño partícula (nm)	Tamaño promedio (nm) Cu1
Cu1	256,4703	266,2426	18,6643	16,82
Cu2	257,9270	266,7059	13,7012	
Cu3	256,9355	266,5892	18,0989	
Cu1	314,5129	328,7806	36,1848	Tamaño promedio (nm) Cu2
Cu2	314,3534	328,1972	34,7887	35,067
Cu3	314,5675	328,2450	34,2290	
Desviación estándar Cu1				2,72
Desviación estándar Cu2				1,007

4.4 Síntesis de las biopelículas.

En la sección 3.5 se mencionan las cantidades y los compuestos usados para la síntesis de las biopelículas. Inicialmente la mezcla tenía apariencia heterogénea, que desapareció al empezar su gelificación a una temperatura de 70°C. El proceso completo de síntesis se muestra en la figura 16. Durante el secado se logró obtener biopelículas con las siguientes características: flexibles, delgadas y homogéneas con un diámetro de $87,18 \pm 0,91$ mm, un grosor de $0,398 \pm 0,053$ mm, un radio de $43,59 \pm 0,48$ mm y un peso de $3,5 \pm 0,1$ g, parámetros comparables a los reportados por Luchese et al., (2015) para materiales con adición de agregados nanoparticulados.



Figura 16. Representación gráfica de la síntesis de biopelícula.

La caracterización morfológica de las biopelículas obtenidas se inició con imágenes de microscopía electrónica SEM, resultados que se muestran en la figura 17. Se observa que la biopelícula blanco (sin agregados de cobre) presentó una superficie lisa, laminar y sin agregados, mientras que, la biopelícula con nanopartículas de

cobre presentó agregados esféricos distribuidos en la superficie de la biopelícula, con diámetros inferiores a $0,1\mu\text{m}$. Lo cual, se puede atribuir a que los agregados de cobre se han dispersado de manera homogénea en la biopelícula; facilitando la interacción del cobre con el metanol y etanol. Estos resultados concuerdan con la metodología reportada por Trepiana Fica, D. A. (2015).

4.4.1. Análisis SEM de las biopelículas con y sin nanopartículas de cobre.

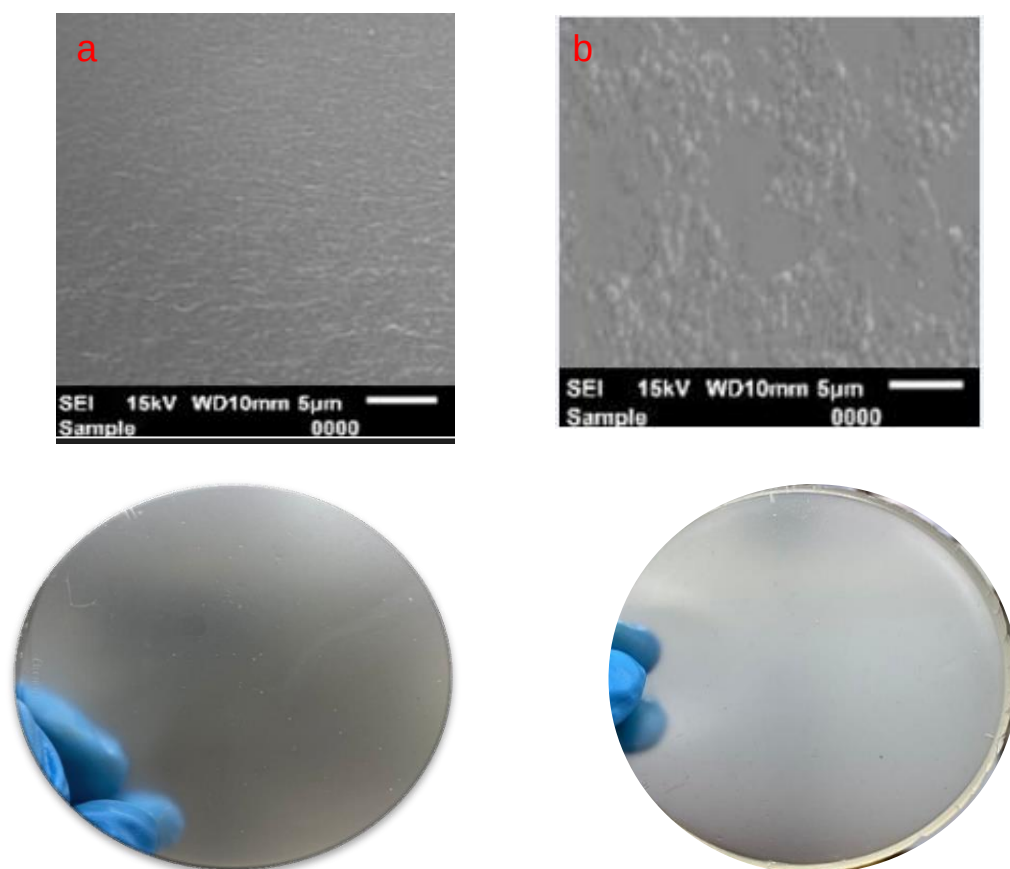


Figura 17. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de biopelículas de almidón de arracacha: a) Micrografía de biopelícula sintetizada sin adición de nanopartícula de cobre, b) micrografía de biopelícula sintetizada con adición de nanopartícula de cobre (NPsCu).

Una vez caracterizada la morfología de la biopelícula se procedió conocer sus grupos funcionales por ATR-FTIR.

4.4.2. Espectroscopia infrarroja FTIR-ATR para las biopelículas.

La similitud de los espectros infrarrojos de algunas biopelículas (solo almidón; con hidrolato de romero; con hidrolato-agregados de cobre) se muestran en la figura 18.

Esta similitud se presenta en todas las regiones del espectro que son características de la glicerina, almidón, y, compuestos del hidrolato de romero.

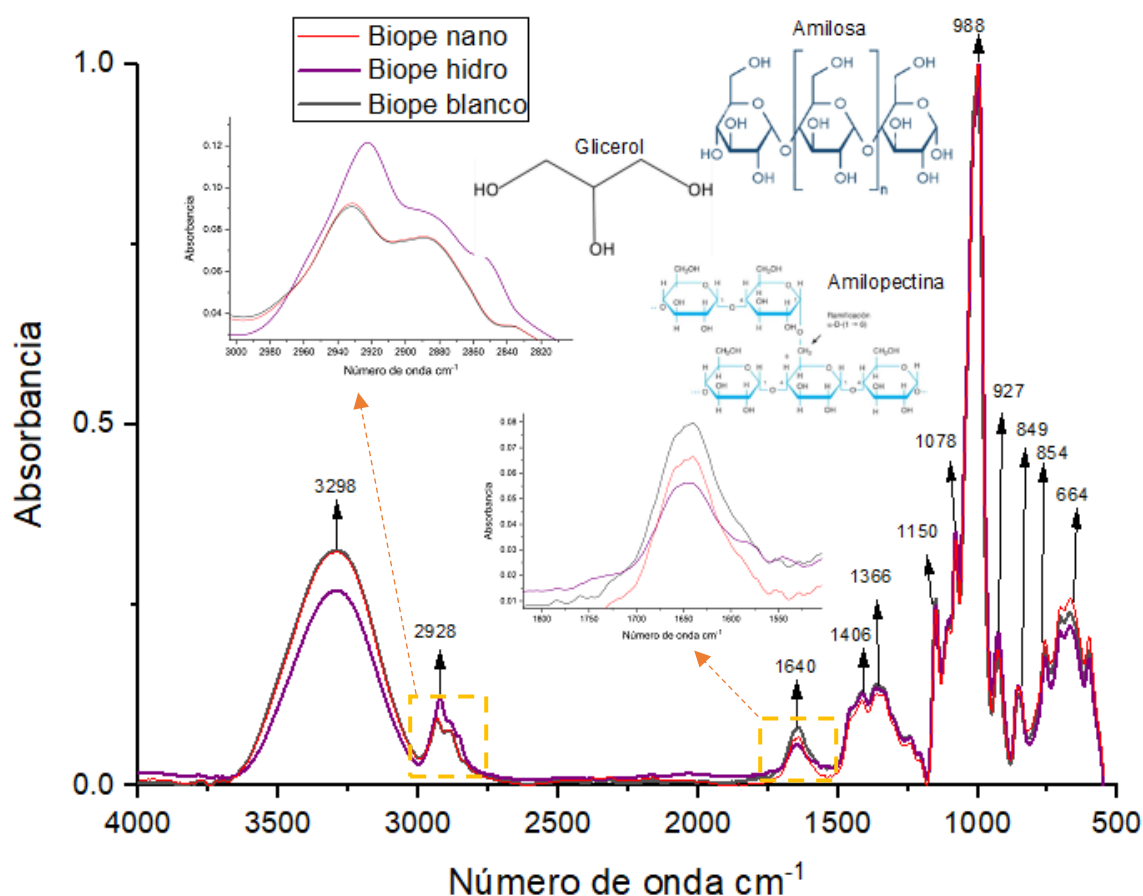


Figura 18. Espectroscopia infrarroja para las biopelículas blanco, con hidrolato y Nanopartículas de cobre-hidrolato.

Tabla 4: *Asignación de bandas de las biopelículas.*

Bandas cm^{-1}	Atribución	Referencia
3.300	Vibraciones de estiramiento del enlace O-H, típicamente presentes en alcoholes y fenoles.	Tarique, J et al.,2021
2.900	Vibraciones de estiramiento del enlace C-H,	
1.750-1.700	Vibraciones de estiramiento del enlace C=C en compuestos aromáticos o a las vibraciones de estiramiento del enlace C=O en amidas	
1.650-1.600	Vibraciones de estiramiento del enlace C=C en compuestos aromáticos o a las vibraciones de estiramiento del enlace C=O en amidas	Muscat, D et al.,2012
1.550-1.500	Vibraciones de estiramiento del enlace C=C en compuestos aromáticos	Pico et al.,2022
1.450	Vibraciones de deformación del enlace C-H en grupos metilo y metileno	Bergo, P et al.,2010
1.400	Vibraciones de deformación del enlace O-H en grupos carboxílicos	Bergo, P et al.,2010
1.300-1.250	Vibraciones de deformación del enlace C-O en ésteres	
1.100	Estiramiento del enlace C-O-C en éteres	Orsuwan, A et al.,2017
1.000-950	C-H en compuestos aromáticos	

Para diferenciar los espectros se aplicó la segunda deriva del espectro y se realizó un análisis multivariado de componentes principales para la región de 500 a 1.800 cm^{-1} , obteniendo el plano factorial mostrada en la figura 19.

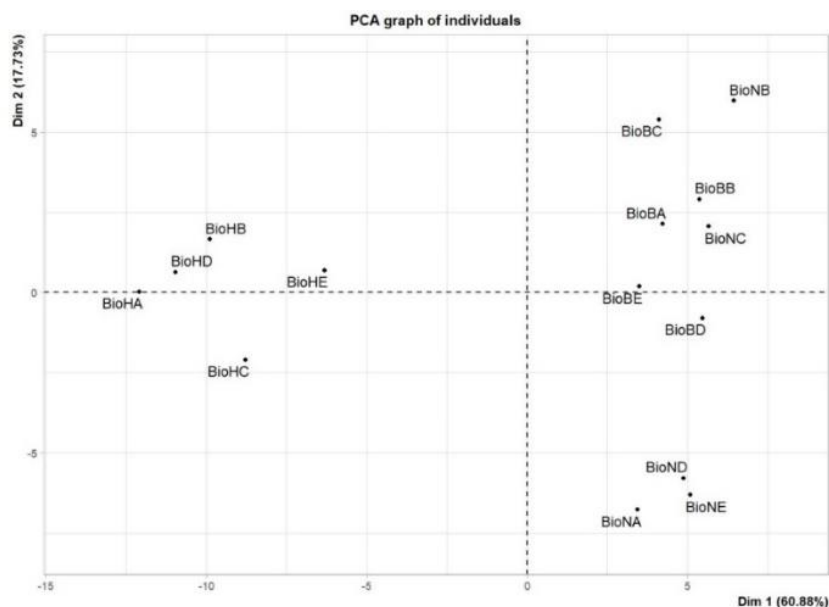


Figura 19. *Análisis multivariado para las biopelículas sintetizadas, biopelícula blanca (BioBa), biopelícula de nanopartícula de cobre (BioNa) y biopelícula de hidrolato (BioHa).*

El análisis de componentes principales (PCA) se empleó para reducir la dimensionalidad de los datos y visualizar las diferencias entre muestras basándose en las principales variaciones. Como se observa en la figura 19, las dos primeras dimensiones explican el 73,63% de la variación total, revelando una clara agrupación de biopelículas según su composición.

El PCA y el dendrograma demuestran que las biopelículas se pueden diferenciar eficazmente utilizando la segunda derivada de sus espectros IR, en el rango de 500 a 1.800 cm^{-1} . Cada grupo de biopelículas (hidrolato de romero, control y nanopartículas de cobre) exhibe características espectrales que dependen de su composición lo cual facilita el aumento o disminución de algunos grupos funcionales, por lo que se realizó un seguimiento a las interacciones C-H y C-O.

La figura 20 muestra las segundas derivadas de cada réplica y una ampliación de las regiones C-O y C-H. Con el objeto de evaluar los cambios en la intensidad de la señal del espectro sin tratar de calcular el área bajo la curva, encontrando que las biopelículas tratadas con hidrolato de romero (BiopeHA) y con nanopartículas

(BiopeNA) presentan un promedio de área similar y mayor en comparación con el control (BiopeBA) en la región C-O. Esto sugiere una mayor interacción o concentración de enlaces C-O en las biopelículas tratadas con hidrolato de romero y nanopartículas, decir mayor prevalencia de estructuras con C-O, las cuales se explica como procedentes de los compuestos químicos identificados en el romero previamente. En el caso de las interacciones C-H no se observaron diferencias estáticamente aceptables, lo que podría indicar homogeneidad en la distribución y debido a que son señales menos intensas por tener menos grados de libertad, la concentración de metabolitos del extracto se encuentra por debajo de su límite de detección para poder percibir los cambios.

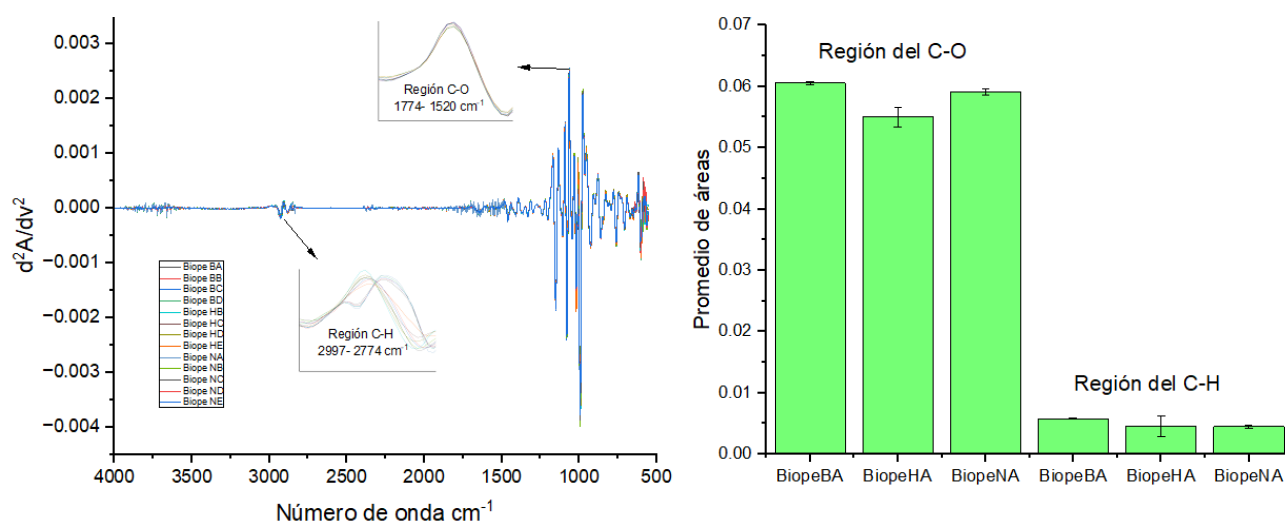


Figura 20: Segunda derivadas de las biopelículas sintetizadas; a) control (BiopeBA), con hidrolato de romero (BiopeHA) Y nanopartícula (BiopeNA), b) gráfico de barra, promedio áreas Vs biopelículas. De las regiones del C-O y C-H.

Para evaluar la estabilidad térmica de las biopelículas se realizó una caracterización por TGA.

4.4.3 TGA de las biopelículas sintetizadas de hidrolato, blanco y nanopartícula.

Los termogramas obtenidos muestran una similitud entre la biopelícula de solo almidón, con almidón hidrolato y almidón-hidrolato-agregados de cobre, tal como se muestra en la figura 21, los tres presentan una pérdida de masa del 17,37 -17,77% a 90°C producto de la pérdida de agua, posteriormente una temperatura máxima de

descomposición de 328,82°C (solo almidón), 338,24°C (almidón-hidrolato) y un ligero aumento para el material almidón-hidrolato-agregados de cobre con 343,73°C, todos con pérdidas de peso de alrededor del 79,7 al 80,1%. La estabilidad obtenida en el análisis TGA es la esperada para estos materiales, los cuales se caracterizan por iniciar su descomposición alrededor de los 230°C con máxima descomposición alrededor de 340°C (Liendo & Perdomo, 2011; Alayo Sánchez, 2015), debido a que a esta temperatura las cadenas poliméricas inician reacciones de deshidratación que promueven la inestabilidad de la macromolécula de almidón y pérdidas de metabolitos que componen la biopelícula.

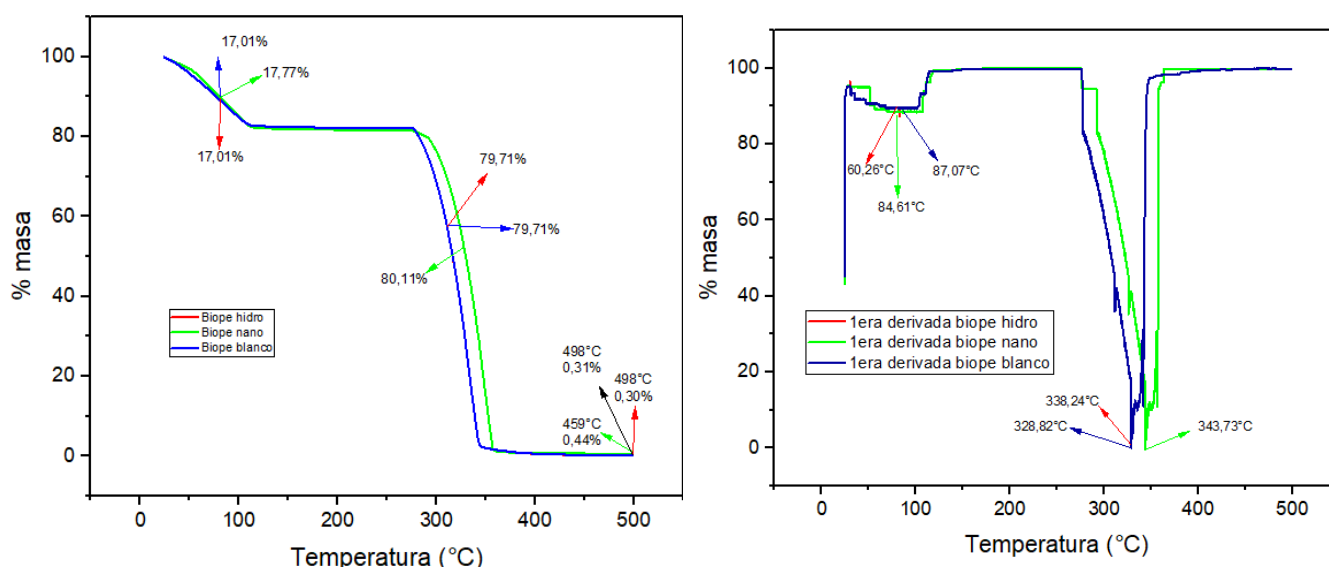


Figura 21. Análisis termogravimétrico (TGA) de la biopelícula de hidrolato (color rojo), biopelícula de nanopartícula de cobre (color verde) y biopelícula de control (color azul). Las derivadas de hidrolato y blanco se superponen entre sí.

La estabilidad mostrada por las biopelículas es apropiada para la presente investigación, ya que el material no se someterá a calentamiento y muestra una buena agregación de los componentes de síntesis. Para continuar la caracterización del biomaterial, se procedió a calcular la permeabilidad en agua para 5 réplicas, para conocer su interacción con solventes polares.

4.4.4 Permeabilidad de las biopelículas.

La evaluación de la permeabilidad del agua se realizó para las biopelículas con cobre (biosensor). Para este parámetro se logró obtener una regresión lineal de masa ganada en el $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ versus en tiempo de exposición (figura 22 y tabla 5). A partir de esta ecuación se determinó la pendiente para las diferentes biopelículas evaluadas. Con ayuda de la ecuación 2 se determinó la permeabilidad (método ASTM E96-22). Se utilizó el valor de ΔP a temperatura ambiente 20°C reportado por (Wexler, 1976) (tabla 5). La permeabilidad de la biopelícula con nanopartículas de cobre fue de $5,69 \pm 0,42 \text{ gmm/m}^2\text{kPa}\cdot\text{h}$, esta permeabilidad indica buena movilidad de solventes polares a través del biomaterial, además este valor concuerda con los publicados para almidón que van de 3 a $7 \text{ gmm/m}^2\text{KPa}\cdot\text{h}$ (Jimenez, R et al.,2012; Monteiro, M. K. S et al.,2018; Ilvis, P et al.,2024), para el caso del sensor es importante que los solventes polares permeen la biopelícula para lograr registrar sus cambios en la resistencia eléctrica.

$$\text{Permeabilidad} = \frac{W * X}{A * \Delta P} = \text{gmm/m}^2\text{kPa} * \text{h}$$

Ecuación 2: *Determinación de la permeabilidad.*

Donde:

W es la pendiente de la ecuación de la curva de permeabilidad.

X es el grosor de la biopelícula.

A es el área.

ΔP es 2,624 kPa.

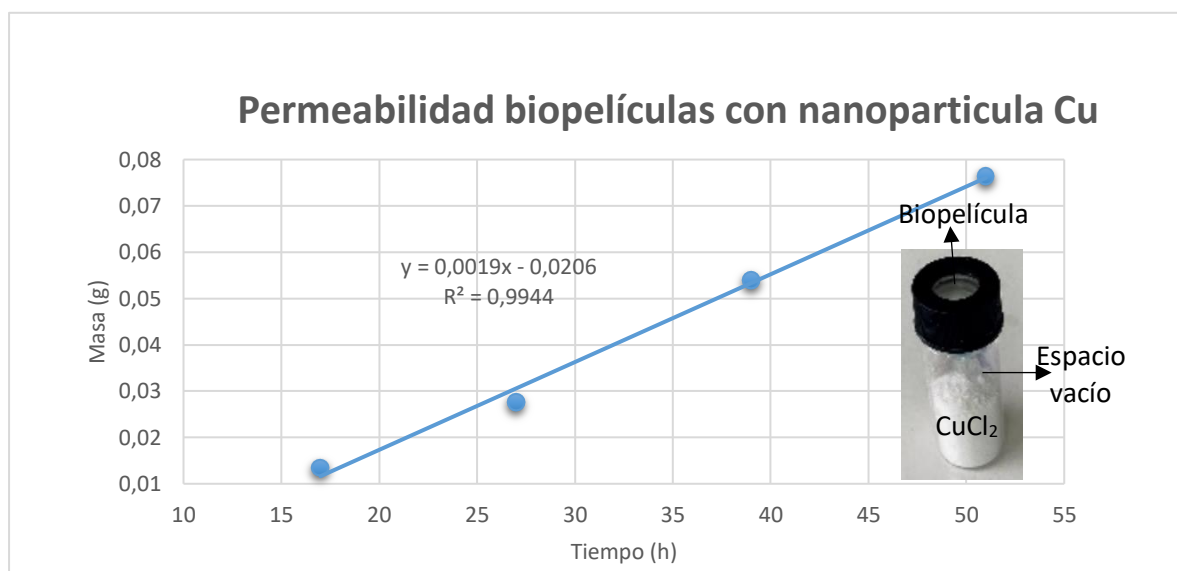


Figura 22. Curva de calibración de permeabilidad.

Tabla 5. Parámetros establecidos para la determinación de la permeabilidad.

Parámetros para la determinación de la permeabilidad				
Grosor de biopelícula (mm)	Radio biopelícula (m)	Área (m ²)	Pendiente (g)	Δp (kPa)
$8,65 \times 10^{-3}$	$4,325 \times 10^{-3}$	$58,08 \times 10^{-6}$	$1,9 \times 10^{-3}$	2,624

4.5 Diseño de sensor de conductividad.

En la figura 23, se muestra que la biopelícula almidón-Cu (biosensor) se fijó a una lámina hueca de resina epóxica usada para laminar a nivel comercial conectando dos hilos de cobre desde la ventana de detección en contacto con la biopelícula.

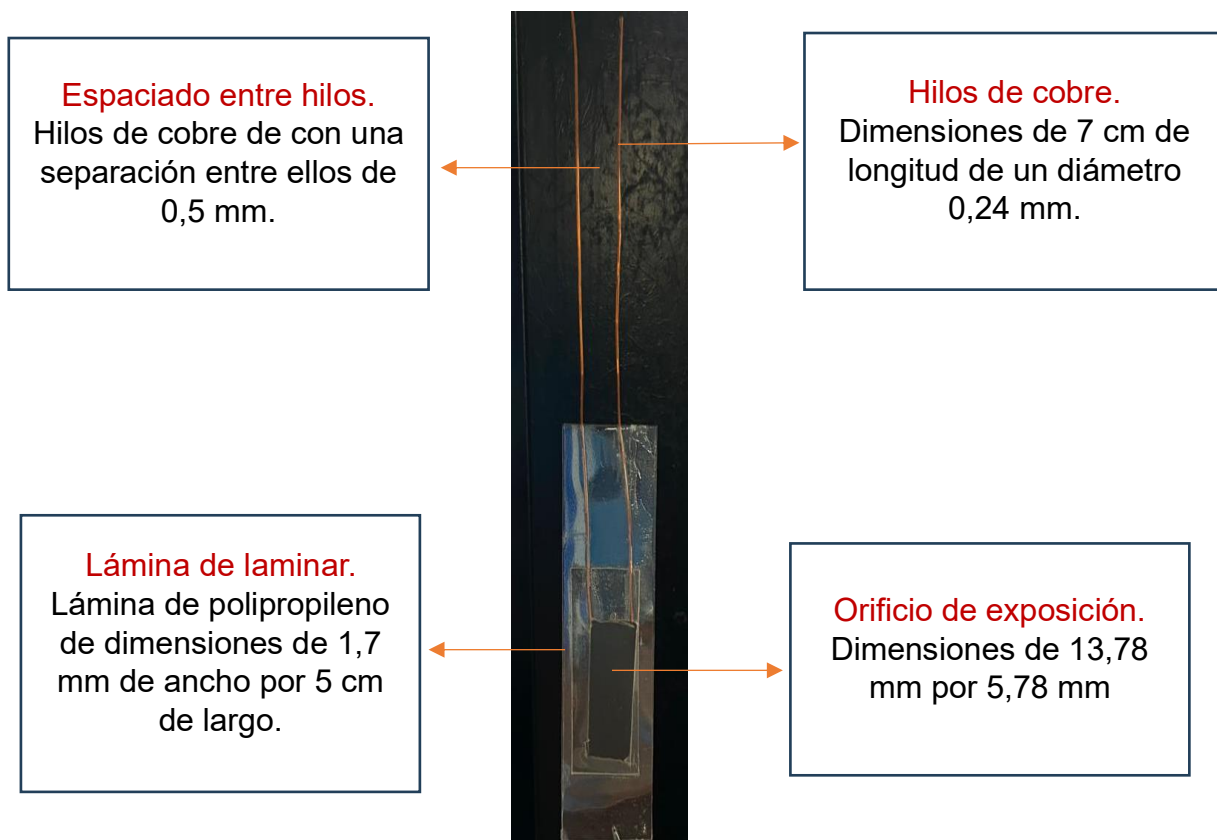


Figura 23. *Sensor de biopelícula almidón-cobre.*

A cada lámina se le midió la resistencia eléctrica en $M\Omega$ utilizando un multímetro. Para el chequeo de la correcta ubicación de la biopelícula dentro de la lámina, se verificó la continuidad de la señal de voltaje. Luego de esta comprobación, cada lámina se acopló a la cámara de detección (con cierre hermético) como se muestra en la figura 24. A esta cámara se le hicieron varios orificios para la inyección de la muestra y para la salida de los alambres de cobre del biosensor.

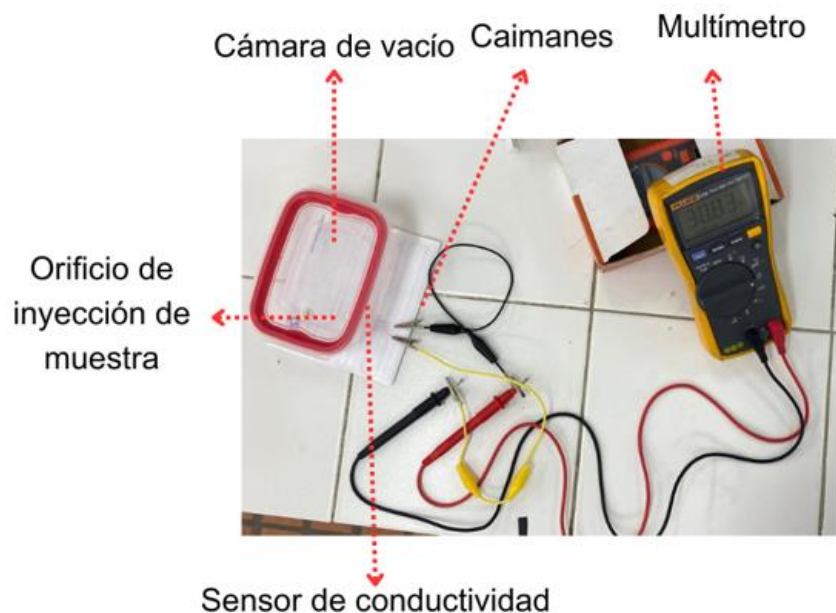


Figura 24. *Diseño de medidas de conductividad.*

4.5.1 Medidas de la resistencia eléctrica

Para cada ensayo se empleó una lámina (que contenía el biosensor). La metodología para la lectura iniciaba colocando la lámina dentro de la cámara, luego se realizaba vacío, se tomaba la lectura de resistencia con multímetro, se inyectaba la muestra (etanol-metanol), se extraía el aire y se tomaba de nuevo la lectura de resistencia. Con estas lecturas (10 réplicas) de resistencia eléctrica en $M\Omega$, se construyó una curva de calibración con ecuación $Y=0,0243\pm0,0011X + 0,9321\pm0,0297$, que permitió determinar su conductividad. Para las mezclas metanol y etanol sin agua, se logró obtener datos estadísticamente concordantes para cada uno de los 5 puntos tal como se muestra en el boxplot (figura 23), con una regresión lineal de $R^2 = 0,9989 \pm 0,011$ lo que indica que tienen buen ajuste estadístico, el punto de corte es de $b= 0,9321 \pm 0,0297$ S y la pendiente es de $m = 0,0243 \pm 0,0011$ S/%.

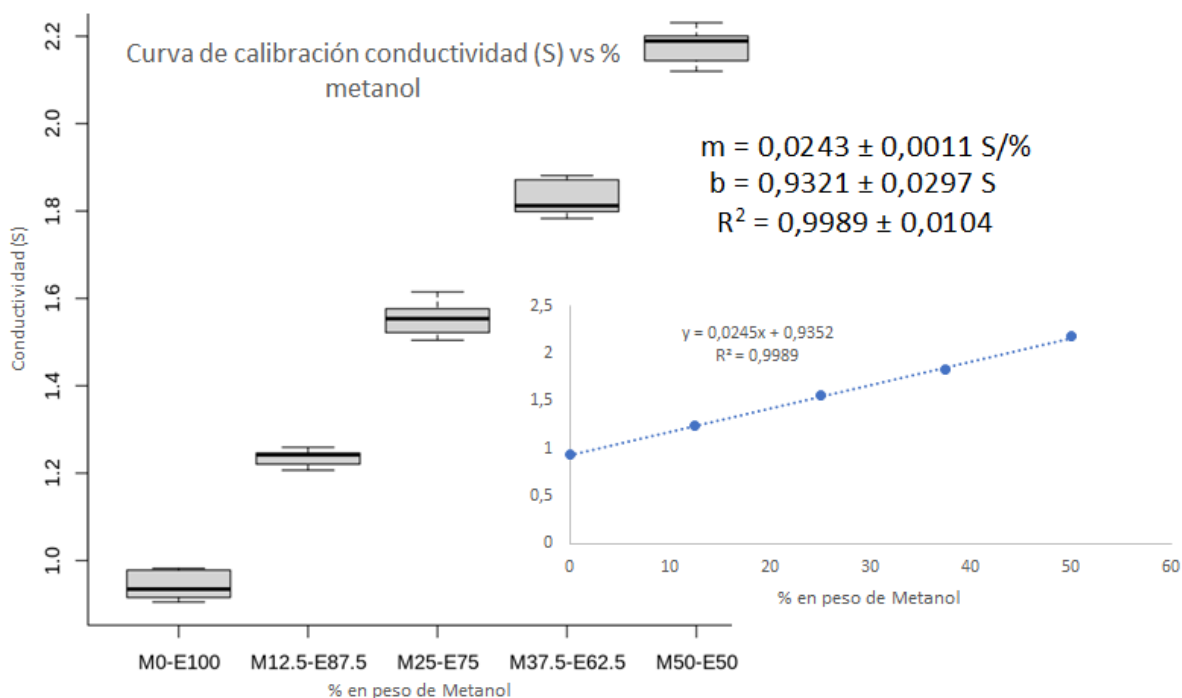


Figura 25. Curva de calibración para mezclas metanol-etanol sin agua

A partir de los datos de la figura 25 se calculó el límite de detección tomando el punto de corte " $b = 0,9321 \pm 0,0297 \text{ S}$ " como el dato corregido por la curva para M0-E100 (0% de metanol-100% etanol) y el dato real la media obtenida por el boxplot para M0-E100 fue de $0,9431 \pm 0,035 \text{ S}$, la diferencia absoluta de los dos se considera el error, es decir $0,011 \text{ S}$, por lo que, al dividirlo en el valor de la pendiente, el valor resultante $0,4527 \%$ es el error en la concentración de metanol. Para determinar el límite de detección de metanol se multiplicó este valor por 5 dando un resultado de $2,26 \%$. Para determinar el límite de cuantificación se multiplicó el valor del error por 10 dando un resultado de $4,53 \pm 0,23 \%$, siendo estos resultados prometedores para el análisis de bebidas adulteradas que tienen del 10 al 80% de porcentaje de metanol (Salahshour, B., Sadeghi, S., & Soltaninejad, K. 2020; Paine, AJ, y Dayan, AD 2001; Ndikumana, E et al.,2024).

Con el análisis anterior se demostró la capacidad del biosensor para alcoholes puros, pero, teniendo en cuenta que las bebidas alcohólicas también contienen agua, se procedió a realizar esta misma metodología incluyéndola, logrando los resultados mostrados en la figura 25.

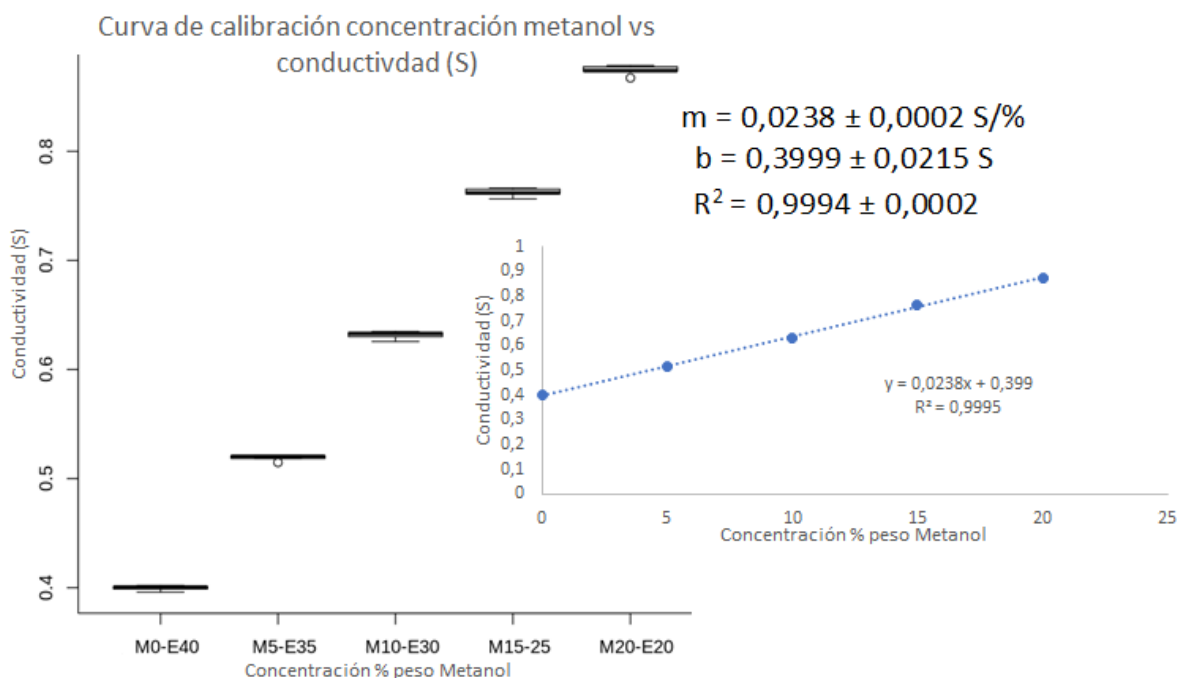


Figura 26. Curva de calibración de metanol y etanol en agua, con porcentajes de concentración de alcoholes en el eje X.

A partir de los datos de la figura 26, se puede apreciar menor dispersión estadística para las lecturas en el boxplot de las 10 réplicas, con datos estadísticamente correctos para curvas de calibración lineal. Adicionalmente, al calcular el error tal como se explicó anteriormente, se tiene que $b = 0,3999 \pm 0,0215 \text{ S}$ y $M0-E40 = 0,4010 \pm 0,0045 \text{ S}$, la concentración error es de $0,0011 \%$ de metanol, por lo que el límite de detección es de $2,31 \pm 0,12 \%$ de metanol y el límite de cuantificación es de $0,462 \pm 0,21 \%$ de metanol. Lo anterior, evidencia que la inclusión del agua como matriz disminuye ligeramente los límites de detección y cuantificación del metanol en el sistema de detección. Estos resultados concuerdan con la alta afinidad mostrada por la biopelícula en los valores de permeabilidad en agua, disminuyendo la interacción metanol y etanol con los agregados de cobre. Vázquez-Luna, A., et al., 2019 mencionan que debido a su naturaleza hidrofílica, las biopelículas son altamente sensibles a la interacción con el agua, lo que afecta significativamente su permeabilidad. La absorción de agua tiene un efecto plastificante en estas películas, aumentando su permeabilidad al vapor de agua. Este fenómeno se debe a que el agua adsorbida modifica la estructura de la matriz de almidón, influyendo tanto en

la solubilidad como en la difusividad de las moléculas de agua dentro de la película. sin embargo, se resaltan los buenos resultados obtenidos que podrían ser eficaces en la identificación de alcoholes adulterados.

CONCLUSIONES

A partir de los tubérculos de arracha se logró extraer almidón en un porcentaje en base seca del $29,32 \pm 0,76\%$, con: grupos funcionales característicos para cadenas de amilosa y amilopectina, un porcentaje de amilosa de $20,42 \pm 0,85\%$, una humedad de $4,97\%$, morfología redonda elíptica y una estabilidad térmica hasta $345,07^{\circ}\text{C}$.

La elaboración del hidrolato etanólico del romero permitió evidenciar la extracción de terpenos y di terpenos con un porcentaje de disolución en base seca de $7,54 \pm 0,53\%$. Adicionalmente, se realizó un método de seguimiento de la extracción para varias replicas empleando la segunda derivada del espectro ATR-FTIR en la región de 1.800 a 500 cm^{-1} , que permitió corroborar en el plano factorial de un PCA (para dos variables) que la extracción fue efectiva.

Se logró la formación de agregados de cobre con tamaños de $16,82 \pm 2,71\text{ nm}$ y $34,067 \pm 1,007\text{ nm}$ a partir de los compuestos químicos disueltos de las hojas de romero. Estos agregados demostraron reproducibilidad, y su tamaño permitió la determinación del tamaño del plasmón mediante UV-Vis.

Se obtuvieron biopelículas de almidón y agregados de cobre, con una buena dispersión de los componentes, con morfología homogénea y formación de agregados esféricos en la superficie lisa de la biopelícula acorde con el SEM, con grupos funcionales característicos para las materias primas incorporadas, presentando una permeabilidad a vapor de agua de $5,69 \pm 0,42\text{ gmm/m}^2\text{kPa}\cdot\text{h}$, estabilidad térmica hasta los 230°C .

Las biopelículas sintetizadas mostraron capacidad de medida de la resistencia eléctrica con un multímetro en escala $\text{M}\Omega$, logrando determinar la conductividad de la biopelícula sintetiza en alrededor de $0,04457 \pm 0,0006\text{ Siemens}$, a partir de los cuales se diseñó un sensor laminado con filamentos de cobre.

El diseño de la cámara de detección permitió la determinación de curvas de calibración. Para soluciones de etanol-metanol sin agua, la ecuación de la curva de calibración lineal fue: $Y = 0,0243 \pm 0,0011X + 0,9321 \pm 0,0297$, y para etanol-metanol-

agua la ecuación de la curva de calibración lineal fue: $Y=0,0238x \pm 0,0002 + 0,3999 \pm 0,0215$. Con estos valores se estableció que el límite de detección para las mezclas etanol-metanol fue de $2,26 \pm 0,23 \%$, y para las mezclas metanol-etanol-agua fue de $2,31 \pm 0,12 \%$, mientras que, los límites de cuantificación fueron de $4,53 \pm 0,23 \%$ y $0,462 \pm 0,12 \%$ respectivamente.

RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con la investigación estableciendo el efecto matriz en bebidas comerciales de alcohol adulteradas.

Se recomienda estudiar la capacidad de reutilización de las láminas usadas como sensores.

BIBLIOGRAFÍA

Abdus Sobhan, kasiviswanathan, Muthukumarappan, lin Wei (2021) Biosensores y nanocompuestos basados en biopolímeros para envases inteligentes de alimentos: desafíos y oportunidades. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100745>

Adarve-cobo, mayra a.; mejia-giraldo, luis m(2012) obtención y caracterización físico-química de almidón fermentado de arracacha (arracacia xanthorriza)

Ahmad, Mohamad M., Hicham Mahfoz Kotb, Shehla Mushtaq, Mir Waheed-Ur-Rehman, Christopher M. Maghanga y Mir Waqas Alam. 2022. "Síntesis ecológica de nanopartículas bimetálicas de Mn + Cu utilizando extracto de *Vinca rosea* y sus actividades antioxidantes, antibacterianas y catalíticas". *Crystals* 12, n.º 1: 72. <https://doi.org/10.3390/cryst12010072>

Akhgari, M., Panahianpour, M. H., Bazmi, E., Etemadi-Aleagha, A., Mahdavi, A., & Nazari, S. H. (2013). Fatal methanol poisoning: features of liver histopathology. *Toxicology and industrial health*, 29(2), 136-141.

Alayo Sánchez, B. (2015). Caracterización fisicoquímica y reológicas del almidón de la arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) variedad amarilla procedente de la Provincia de San Ignacio - Departamento de Cajamarca. Universidad Cesar Vallejo.

Alvis, A., Vélez, C. A., Villada, H. S., & Rada-Mendoza, M. (2008). Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa y determinación de la viscosidad de las pastas. *Información tecnológica*, 19(1), 19-28.

Alvis, A.; C. Vélez; H. Villada; M. Mendoza. 2008. Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa. Determinación de la viscosidad de las pastas. *Inf. Tec.* 19: 19-28.

Amine, A., Mohammadi, H., Bourais, I. y Palleschi, G. (2006). Biosensores basados en inhibición enzimática para la seguridad alimentaria y el seguimiento ambiental. *Biosensores y Bioelectrónica* , 21 (8), 1405-1423.

Arango, A. M. P., Loaiza, L. M. R., & Cabra, J. L. R. (2018). Identificación de componentes químicos del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) proveniente de cultivos orgánicos en la zona alta andina. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 5(1), 6-19.

Bachan Upadhyay, LS y Verma, N. (2013). Biosensores basados en inhibición enzimática: una revisión. *Cartas analíticas* , 46 (2), 225–241. <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/00032719.2012.713069>

Barreto Calderon, A. (2014). La adulteración de licores extranjeros en Colombia:¿ Cómo se reconoce y procede ante un producto extranjero adulterado y de dudosa procedencia?

Barroso, J., Diez-Buitrago, B., Saa, L., Möller, M., Briz, N., y Pavlov, V. (2018). Ensayos bioanalíticos ópticos y fotoelectroquímicos específicos para la detección de metanol en bebidas alcohólicas. *Biosensores y Bioelectrónica* , 101 , 116-122.

Bello-Pérez, L.; S. Contreras.; R. Romero; J. Solorza; A. Jiménez. 2002b. Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano (*Musa paradisiaca* L.) (var. Macho). *Agrociencia* 36: 169-180.

Bergo, P.; Sobral, PJDA; Prison, JM Efecto del glicerol en las propiedades físicas de las películas de almidón de yuca. *J. Food Process. Preserv.* 2010 , 34 , 401–410.

Boufetacha, M., Ayad, A., Thiebault, N., Boussetta, N., Gharibi, E., y Benali, M. (2024). Extracción selectiva de ácido carnósico, carnosol y ácido rosmarínico de *Rosmarinus officinalis* L. utilizando fluidos supercríticos y su actividad antioxidante. *The Journal of Supercritical Fluids* , 106344.

Boyaci, I. H., Genis, H. E., Guven, B., Tamer, U., & Alper, N. (2012). A novel method for quantification of ethanol and methanol in distilled alcoholic beverages using Raman spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*, 43(8), 1171-1176.

Brahmi, N., Blel, Y., Abidi, N., Kouraichi, N., Thabet, H., Hedhili, A., & Amamou, M. (2007). Methanol poisoning in Tunisia: report of 16 cases. *Clinical toxicology*, 45(6), 717-720.

Calizaya Ramos, C. A. (2017). Elaboración de Galletas con Incorporación de Harina de Arracacha (*Arracacia Xanthorrhiza* Bancroft).

Camacho-Romero, O. I., Melgarejo-Gómez, S., & De-la-Rosa-Torres, C. (2017). Extracción y evaluación de los metabolitos secundarios de extractos etéreos del fruto *Syzygium cumini* (Jambool). *Revista Tecnología en Marcha*, 30(1), 113-120

Cárdenas Romero, J. (2024). *Estudio de casos fatales de intoxicación por alcohol metílico que ingresaron a la sede central del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Bogotá, Colombia, noviembre del 2022 a enero del 2023*. Universidad Nacional de Colombia.

Carranza Saavedra, D., Alvarado Nunez, JA, Méndez Reyes, DA, Valenzuela Real, CP, & Solanilla Duque, JF (2015). Pretratamiento de residuos de plátano (*Musa paradisiaca* (L.) AAB) y arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) para la obtención de azúcares fermentables.

Carrascal Sánchez, J. J. (2003). *Acetilación del almidón de Arracacia xanthorrhiza y evaluación de su aplicación como posible auxiliar farmacéutico* (Doctoral dissertation).

Carrasquero-Durán, A., & Navas, P. B. (2015). Determinación de amilosa en presencia de amilopectina en almidón de arroz aplicando la espectroscopía derivada.

Castanha, N., da Matta Junior, M. D., & Augusto, P. E. D. (2017). Potato starch modification using the ozone technology. *Food Hydrocolloids*, 66, 343-356.

Castanha, N., Villar, J., da Matta Junior, M. D., Dos Anjos, C. B. P., & Augusto, P. E. D. (2018). Structure and properties of starches from Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) roots. *International journal of biological macromolecules*, 117, 1029-1038.

Castillo Silva, P. D. R., & Santacruz Burbano, M. P. (2010). Extracción, caracterización y purificación de aceites esenciales de las hojas de laurel de cera (*Morella pubescens*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) como alternativa de desarrollo agroindustrial para el departamento de Nariño.

Chaqroune, A., y Taleb, M. (2022). Efectos de la técnica de extracción y el disolvente sobre los fitoquímicos y las actividades antioxidantes y antimicrobianas del romero cultivado y silvestre (*Rosmarinus officinalis* L.) de la región de Taounate. *Biointerface Res. Appl. Chem* , 12 , 8441-8452.

Cheng, S., Huang, A., Wang, S. y Zhang, Q. (2016). Efecto de diferentes temperaturas de tratamiento térmico en la composición química y la estructura de la madera de abeto chino. *BioResources* , 11 (2).

Chrastil, J. (1987). Improved colorimetric determination of amylose in starches or flours. *Carbohydrate Research*, 159(1), 154-158. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)90013-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)90013-2)

D. Aycan, N. Dolapci, O.G. Karaca, N. Alemdar (2019) Fabricación de películas conductoras basadas en biopolímeros para aplicaciones de detección. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.05.069>

D.W. Lachenmeier(2016) 21 - Avances en la Detección de la Adulteración de Bebidas Alcohólicas Incluyendo el Alcohol No Contabilizado. DOI: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1016/B978-0-08-100220-9.00021-7>

Dâmaris Carvalho Lima, James Villar, Nanci Castanha, Bianca Chiaregato Maniglia, Manoel Divino Matta Junior, Pedro Esteves (2020) Modificación con ozono del almidón de arracacha: Efecto sobre la estructura y propiedades funcionales DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106066>

Debebe, A., Redi-Abshiro, M., & Chandravanshi, B. S. (2017). Non-destructive determination of ethanol levels in fermented alcoholic beverages using Fourier transform mid-infrared spectroscopy. *Chemistry Central Journal*, 11, 1-8.

Dias, A. A., Cardoso, T. M., Chagas, C. L., Oliveira, V. X., Munoz, R. A., Henry, C. S., ... & Coltro, W. K. (2018). Detection of analgesics and sedation drugs in whiskey using electrochemical paper-based analytical devices. *Electroanalysis*, 30(10), 2250-2257.

Diyana, ZN, Jumaidin, R., Selamat, MZ, Ghazali, I., Julmohammad, N., Huda, N. e Ilyas, RA (2021). Propiedades físicas del almidón termoplástico derivado de recursos naturales y sus mezclas: una revisión. *Polímeros* , 13 (9), 1396.

Doreen B, Eyu P, Okethwangu D, Biribawa C, Kizito S, Nakanwagi M, Nguna J, Nkonwa IH, Opio DN, Aceng FL, Alitubeera PH, Kadobera D, Kwesiga B, Bulage L, Ario AR, Zhu BP. Fatal Methanol Poisoning Caused by Drinking Adulterated Locally Distilled Alcohol: Wakiso District, Uganda, June 2017. *J Environ Public Health*. 2020 Apr 28;2020:5816162. doi: 10.1155/2020/5816162. PMID: 32405303; PMCID: PMC7204301.

Elamrani, A., Zrira, S., Benjilali, B. y Berrada, M. (2000). Un estudio de los aceites de romero marroquí. *Journal of Essential Oil Research* , 12 (4), 487-495.

Espín Susana, Villacrés Elena, Brito Beatriz. Caracterización Físico-Química, Nutricional y Funcional de Raíces y Tuberculosis Andinos. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias- pg.101.

Flamini, G., Cioni, PL, Morelli, I., Macchia, M., & Ceccarini, L. (2002). Principales características agronómicas y productivas de dos ecotipos de *Rosmarinus officinalis* L. y composición química de sus aceites esenciales. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 50 (12), 3512-3517.

Garzoli, S., Laghezza Masci, V., Franceschi, S., Tiezzi, A., Giacomello, P., & Ovidi, E. (2021). Headspace/GC–MS analysis and investigation of antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of essential oils and hydrolates from *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Miller. *Foods*, 10(8), 1768.

Habtemariam, S. (2023). Mecanismos terapéuticos antiinflamatorios de productos naturales: perspectivas a partir de los diterpenos del romero, el ácido carnósico y el carnosol. *Biomedicinas* , 11 (2), 545.

Hernández Sierra, K. A. (2017). Evaluación de propiedades de almidones de diferentes fuentes botánicas (achira, papa, yuca, maíz) y sus películas.

Hogg, C., Boots, S., Howorth, D., Williams, C., Heginbothom, M., Salmon, J., & Howe, R. (2023). Test performance of lateral flow rapid antigen tests for COVID-19 in Welsh adult care home staff using routine surveillance data. *Plos one*, 18(8), e0290406.

Huitong Gong, Guping He, Jing Xue, Anqi Li, Yanhong Ji, Fengqiang Sun, Un sensor de gas fotoactivado de matriz de poros esféricos ordenados de SnO₂ : construcción basada en electrodeposición y aplicación en la detección de gas etanol a temperatura ambiente DOI: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1016/j.surfin.2024.104313>

Ilvis, P., Acosta, J., Arancibia, M., & Casado, S. (2024). Nanoscopic Characterization of Starch-Based Biofilms Extracted from Ecuadorian Potato (*Solanum tuberosum*) Varieties. *Polymers*, 16(13), 1873.

International Organization for Standardization. (1981). ISO 3593:1981 - Starches -- Determination of ash. Geneva, Switzerland: ISO.

International Organization for Standardization. (1987). ISO 6647:1987 - Starch - Determination of amylose content. Geneva, Switzerland: ISO.

Jian, Y., Hu, W., Zhao, Z. et al. Sensores de gas basados en nanomateriales funcionales híbridos quimiorresistivos. *Nano-Micro Lett.* 12 , 71 (2020). <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1007/s40820-020-0407-5>

Jiang, B., Zhou, T., Zhang, L., Yang, J., Han, W., Sun, Y., ... & Lu, G. (2023). Separated detection of ethanol and acetone based on SnO₂-ZnO gas sensor with improved humidity tolerance. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 393, 134257.

Jimenez, R., Sandoval-Flores, G., Alvarado-Reyna, S., Aleman-Castillo, S. E., Santiago-Adame, R., & Velazquez, G. (2021). Extraction of starch from Hass avocado seeds for the preparation of biofilms. *Food Science and Technology*, 42, e56820.

Jorge Isaac Necochea-Chamorro, Roberto Carlos Carrillo-Torres, Raúl Sánchez-Zeferino, Mario Enrique Álvarez-Ramos (2029), Sensor de fibra óptica que utiliza

ZnO para detección de tequila adulterado con metanol, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yofte.2019.101982>.

Julian Eastoe, Martin J. Hollamby, Laura Hudson, Avances recientes en la síntesis de nanopartículas con micelas invertidas. DOI: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1016/j.cis.2006.11.009>

Karim, NA, Muhamad, II (2018). Métodos de detección y avances en el análisis de alimentos y bebidas: una breve reseña sobre la adulteración y la autenticación halal. Springer, Singapur. https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1007/978-981-10-7257-4_36

Lachenmeier, DW (2016). Avances en la detección de la adulteración de bebidas alcohólicas incluido el alcohol no declarado. En Avances en las pruebas de autenticidad de los alimentos (págs. 565-584). Publicación Woodhead.

Liendo Jilber, Perdomo Brunilda y Techeira Nora (2011). Uso de almidón de apio (*Arracacha xanthorrhiza* B.) en colados de durazno (*Prunus persica* L.). Rev. Fac. Agron.

Liendo, J., & Perdomo, B. (2011). Uso de almidón de apio (*Arracacha xanthorrhiza* B.) en colados de durazno (*Prunus persica* L.). 37(3), 93–104.

Londoño-Restrepo, SM, Rincón-Londoño, N., Contreras-Padilla, M., Millán-Malo, BM y Rodríguez-García, ME (2018). Caracterización morfológica, estructural, térmica, composicional, vibracional y pastosa de almidones y harinas tipo Lego de *Arracacha* (*Arracacia xanthorrhiza*) de color blanco, amarillo y morado. Revista internacional de macromoléculas biológicas , 113 , 1188-1197

López Calderón, R. (2017). Caracterización fisicoquímica de almidón procedente de Camote (*ipomoea batatas*), arracacha (*arracacia xanthorrhiza bancroft.*) y Oca (*oxalis tuberosa*).

López, W. Y. V., Galindo, A. S., Medina, M. D. D., Facio, A. O. C., Valdes, J. A. A., & Alvarado, C. J. C. (2023). Obtención de compósitos con propiedades

antibacterianas a base de tela no tejida y extractos de romero *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Basic Sciences*, 9(26), 48-63.

Luchese, CL, Frick, JM, Patzer, VL, Spada, JC, & Tessaro, IC (2015). Síntesis y caracterización de biopelículas utilizando almidón de piñón nativo y modificado. *Food Hydrocolloids* , 45 , 203-210.

M.J.C. Pontes, S.R.B. Santos, M.C.U. Araújo, L.F. Almeida, R.A.C. Lima, E.N. Gaião, U.T.C.P (2006). Souto, Clasificación de bebidas alcohólicas destiladas y verificación de adulteración mediante espectrometría de infrarrojo cercano. Doi: <https://doi.org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1016/j.foodres.2005.07.005>

Ma, Z., Jiang, H. y Wang, J. (2019). Análisis clínico de la pérdida visual severa causada por intoxicación por metanol inhalado en un proceso crónico de inicio agudo: un análisis clínico retrospectivo. *Oftalmología BMC* , 19 , 1-7.

Maamouri Rym , Nabi Wijden , Maamouri Héra , Sassi Héra , Brahmi Nozha y Monia Cheour (2023) Manifestaciones oculares después de una intoxicación aguda por metanol, *neurooftalmología*, 47:4, 193-198, DOI:10.1080/01658107.2023.2205926

Magda I. Pinzon, Leidy T. Sanchez, Cristian C. Villa (2020) Caracterización química, estructural y térmica de almidones de cuatro frutas de Arracacha amarilla (*Arracacia xanthorrhiza*) raíces producidas en Colombia. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04763>

Mane, NS, Hemadri, V. y Tripathi, S. (2024). Explorando el papel de los biopolímeros y tensioactivos en la conductividad eléctrica de CuO, Fe₃O₄ y nanofluidos híbridos a base de agua. *Revista de ciencia y tecnología de dispersión* , 45 (5), 900–908. <https://doi.org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/01932691.2023.2186428>

María Krizel Anne G, Tabago, Mariafe N, Calingacion, Joel García (2021) Avances recientes en la metabolómica de bebidas alcohólicas basada en RMN DOI: <https://doi.org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1016/j.fochms.2020.100009>

Marroquin-Garcia, R., van Wissen, G., Cleij, T. J., Eersels, K., van Grinsven, B., & Diliën, H. (2024). Single-use dye displacement colorimetry assay based on molecularly imprinted polymers: Towards fast and on-site detection of xylazine in alcoholic beverages. *Food Control*, 161, 110403.

Martín-Sánchez, M., Martín-Sánchez, M. T., & Pinto, G. (2013). Reactivo de Lugol: Historia de su descubrimiento y aplicaciones didácticas. *Educación química*, 24(1), 31-36.

Masuda, T., Kirikihira, T., y Takeda, Y. (2005). Recuperación de la actividad antioxidante de la carnosol quinona: antioxidantes obtenidos a partir de una conversión de carnosol quinona promovida por agua. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 53 (17), 6831-6834.

Mathew, R., Das, A. (2022). Avances recientes en sensores electroquímicos de gas etileno basados en ZnO para la evaluación de la madurez de la fruta. En: Krupanidhi, SB, Gupta, V., Sharma Kaushik, A., Singh, AK (eds) *Advanced Functional Materials and Devices*. Springer Proceedings in Materials, vol 14. Springer, Singapur. https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1007/978-981-16-5971-3_24

Matos Medina, IY, & Díaz Milla, JB (2022). Caracterización de bandejas biodegradables de almidón y fibra de semilla de Persea americana y almidón de Mangifera indica.

Meriem Rafya, Abdullah Hafidi, Naima Zehhar, Fatih Benkhalti (2023). Adsorbentes modificados de bajo costo derivados del residuo sólido de Rosmarinus officinalis L. para la absorción de metales pesados <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116317>

Miljanović, A., Dent, M., Grbin, D., Pedisić, S., Zorić, Z., Marijanović, Z., ... & Bielen, A. (2023). Subproductos de la hidrodestilación de salvia, romero y laurel como fuente de compuestos bioactivos. *Plants*, 12 (13), 2394.

Mohit, E., Rostami, Z. y Vahidi, H. (2021). Una revisión comparativa de inmunoensayos para la detección de COVID-19. *Revisión de expertos en*

inmunología clínica , 17 (6), 573-599.

Monteiro, M. K. S., Oliveira, V. R. L. D., Santos, F. K. G. D., Neto, E. B., Leite, R. D. L., Aroucha, E. M. M., ... & Silva, K. D. O. (2018). Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction of water vapor permeability. *Food Research International*, 105, 637-644.

Muscat, D.; Adhikari, B.; Adhikari, R.; Chaudhary, DS Estudio comparativo del comportamiento de formación de películas de almidones con bajo y alto contenido de amilosa utilizando glicerol y xilitol como plastificantes. *J. Food Eng.* **2012** , 109 , 189–201

Nanci Castanha, James Villar, Manoel Divino da Matta Junior, Carlota Boralli Prudente dos Anjos, Pedro Esteves Duarte August (2018) Estructura y propiedades de los almidones de las raíces de Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.015>.

Nanci Castanha, James Villar, Manoel Divino da Matta Junior, Carlota Boralli Prudente dos Anjos, Pedro Esteves Duarte Augusto. Estructura y propiedades de los almidones de Arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) raíces. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.015>

Narang, J., Singhal, C., Mathur, A., Dubey, AK, PN, AK, Anil, A. y Pundir, CS (2018). Ensayo cuantitativo a simple vista en un dispositivo de papel para la detección de drogas de violación en una cita a través de una aplicación para teléfonos inteligentes. *Vacío* , 153 , 300-305.

Ndikumana, E., Niyonizera, E., Kabera, JN y Pandey, A. (2024). Análisis del contenido de metanol y etanol en bebidas alcohólicas ilegales mediante cromatografía de gases de espacio de cabeza: estudios de casos en el Instituto Forense de Ruanda.

Newman, I. M., Qian, L., Tamrakar, N., & Zhang, B. B. (2018). Chemical composition and safety of unrecorded grain alcohol (Bai Jiu) samples from three provinces in

China. International journal of environmental research and public health, 15(12), 2710.

Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A review. *Medicines*, 5(3), 98.

Nili-Ahmadabadi, A., Sedaghat, M., Ranjbar, A., Poorolajal, J., Nasiripour, H., & NiliAhmadabadi, M. (2016). Quantitative analysis and health risk assessment of methanol in medicinal herbal drinks marketed in Hamadan, Iran. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(7), 049-052.

Olivero García, K. D. (2020). Producción de almidón de la arracacha (*ARRACACIA XANTHORRIZA*) para la obtención de un biopolímero de probable aplicación industrial.

Orsuwan, A.; Sothornvit, R. Desarrollo y caracterización de una película de harina de plátano con montmorillonita incorporada y nanopartículas de almidón de plátano. *Carbohydr. Polym.* **2017** , 174 , 235–242.

Paine, AJ, y Dayan, AD (2001). Definición de una concentración tolerable de metanol en bebidas alcohólicas. *Toxicología humana y experimental* , 20 (11), 563-568.

Paulina Wiśniewska, Magdalena Śliwińska, Tomasz Dymerski, Waldemar Wardencki & Jacek Namieśnik (2015) Aplicación de la cromatografía de gases al análisis de bebidas alcohólicas a base de alcohol . DOI: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/10408347.2014.904732>

Pavia, DL, Lampman, GM, Kriz, GS y Vyvyan, JR (2015). Introducción a la espectroscopia.

Pérez, E.; R. Borneo; C. Melito; J. Tovar. 1999. Chemical, physical and morphometric properties of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorriza* B.) starch. *Acta Cien. Ven.* 50: 240-244

Pico, C.; De la Vega, J.; Tubón, I.; Arancibia, M.; Casado, S. Caracterización nanoscópica de biopelículas de almidón extraídas de los tubérculos andinos *Ullucus tuberosus* , *Tropaeolum tuberosum* , *Oxalis tuberosa* y *Solanum tuberosum* . *Polymers* 2022 , 14 , 4116.

Politi, M., Ferrante, C., Menghini, L., Angelini, P., Angeles, G., & Salgueiro, L. R. Hidrosoles de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* y *Cupressus sempervirens*: Análisis fitoquímico y evaluación de la bioactividad.

Pozo, C., Rodríguez-Llamazares, S., Bouza, R., Barral, L., Castaño, J., Müller, N., & Restrepo, I. (2018). Estudio del orden estructural de gránulos de almidón nativo mediante análisis combinado de FTIR y XRD. *Journal of Polymer Research* , 25 , 1-8.

Prieto-Simón, B., Campàs, M., Andreescu, S. y Marty, JL (2006). Tendencias en sistemas de biodetección basados en flujo para la evaluación de pesticidas. *Sensores* , 6 (10), 1161-1186.

Quintero Arenas ,Mónica Alexandra, Meza-Márquez ,Ofelia Gabriela, Velázquez-Hernández ,José Luis, Gallardo-Velázquez ,Tzayhri, Osorio-Revilla ,Guillermo (2020) Cuantificación de adulterantes en mezcal mediante espectroscopía FT-MIR y FT-NIR acoplada a análisis multivariado DOI: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/19476337.2020.1740327>

Quintero Arenas, MA, Meza-Márquez, OG, Velázquez-Hernández, JL, Gallardo-Velázquez, T., & Osorio-Revilla, G. (2020). Cuantificación de adulterantes en mezcal mediante espectroscopía FT-MIR y FT-NIR acoplada a análisis multivariado. *CyTA - Journal of Food* , 18 (1), 229–239. <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/19476337.2020.1740327>

Ramiro Marroquin-Garcia, Gil van Wissen, Thomas J. Cleij, Kasper Eersels, Bart van Grinsven, Hanne Diliën (2024) Ensayo de colorimetría por desplazamiento de tinte de un solo uso basado en polímeros impresos molecularmente: hacia una detección rápida e in situ de xilazina en bebidas alcohólicas DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110403>

Renata S da Costa, Sérgio R.B Santos, Luciano F Almeida, Elaine C.L Nascimento, Márcio J.C Pontes, Ricardo A.C Lima, Simone S Simões, Mario César U Araújo (2004) Una novedosa estrategia para la verificación de adulteración en bebidas alcohólicas basada en mediciones del efecto Schlieren y técnicas quimiométricas.DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.03.006>

Rezanejad, R., Ojagh, S. M., Heidarieh, M., Raeisi, M., Rafiee, G., & Alishahi, A. (2019). Characterization of gamma-irradiated *Rosmarinus officinalis* L.(Rosemary). Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences, 16(1), 43.

Rhim, J. W., & Ng, P. K. (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. Critical reviews in food science and nutrition, 47(4), 411-433.

Rohitraj Ray, Anusha Prabhu, Dinesh Prasad, Vijay kumar Garlapati, Tejraj M. Aminabhavi, Naresh Kumar Mani, Jesus Simal-Gan (2022) Dispositivos de microfluidos basados en papel para adulterantes de alimentos: sistemas de monitoreo tecnológicos rentables DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133173>

Rómulo R. Facci,Paulo S. de O. Cezário,Jefferson S. de Gois,Aderval S. Luna&Wagner F. Pacheco (2020) Identificación de vodka falsificado mediante espectroscopia de fluorescencia sincrónica y análisis quimiométrico.DOI: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/00032719.2020.1810694>

Salahshour, B., Sadeghi, S. y Soltaninejad, K. (2020). Análisis del contenido de metanol en bebidas alcohólicas falsificadas durante un brote de intoxicación masiva por metanol (Bojnourd-Noreste de Irán, 2018). Asia Pacific Journal of Medical Toxicology , 9 (4).

Sandra M. Londoño-Restrepo, Natalia Rincón-Londoño, Margarita Contreras-Padilla, Beatriz M. Millan-Malo, Mario E. Rodriguez (2018) Caracterización

morfológica, estructural, térmica, compositiva, vibracional y de empastamiento de almidones y harinas tipo Lego de Arracacha blanca, amarilla y morada (*Arracacia xanthorrhiza*) <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.021>

Schulz, H., y Baranska, M. (2007). Identificación y cuantificación de sustancias vegetales valiosas mediante espectroscopia IR y Raman. *Vibrational Spectroscopy* , 43 (1), 13-25.

Sierra, K. A. H. (2017). Evaluación de propiedades de almidones de diferentes fuentes botánicas (achira, papa, yuca, maíz) y sus películas (Doctoral dissertation, Uniandes).

Song, W., Zhang, M., Zhao, W., Zhao, Q., Hao, H., Lin, H., ... y Yan, S. (2022). Matriz de sensores de gas basada en microesferas de SnO₂ nanoestructuradas mejorada mediante impronta molecular para la detección discriminativa de metanol y etanol. *ACS Applied Nano Materials* , 5 (9), 12765-12777.

Sougandhi, PR, Ramanaiah, S. y Shobha Rani, T. (2022). Preparación y caracterización de películas de bionanocompuestos que incorporan nanopartículas de cobre. *Química inorgánica y nanometálica* , 52 (5), 661–667. <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/24701556.2021.1946697>

Szumny, A., Figiel, A., Gutiérrez-Ortíz, A., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2010). Composición del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) según el método de secado. *Journal of Food engineering* , 97 (2), 253-260.

Tan, Y., y Zhang, J. (2023). Sensores de gas etanol de alta sensibilidad basados en nanocintas de SnO₂ co-dopadas y nanocintas de SnO₂ puro. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures* , 147 , 115604.

Tarique, J.; Sapuan, SM; Khalina, A. Efecto de la carga de plastificante de glicerol en las propiedades físicas, mecánicas, térmicas y de barrera de los biopolímeros de almidón de arrurruz (*Maranta arundinacea*). *Sci. Rep.* **2021** , 11 , 13900.

Trepiana Fica, D. A. (2015). Síntesis de suspensiones de nanopartículas de cobre y quitosano, y evaluación de sus propiedades antimicrobianas frente a *Streptococcus mutans*.

Trepiana Fica, D. A. (2015). Síntesis de suspensiones de nanopartículas de cobre y quitosano, y evaluación de sus propiedades antimicrobianas frente a *Streptococcus mutans*.

Ulises Contreras, O. Barbosa-García, J.L. Pichardo-Molina, G. Ramos-Ortíz, J.L. Maldonado, M.A. Meneses-Nava, N.E. (2010) Método de detección para la identificación de tequilas adulterados y falsos mediante espectroscopía UV-VIS y quimiometría .DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.001>.

Upadhyay, LSB y Kumar, N. (2017). Síntesis verde de nanopartículas de cobre utilizando glucosa y polivinilpirrolidona (PVP). *Química inorgánica y nanometálica* , 47 (10), 1436-1440. <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/24701556.2017.1357576>

Vasudevan, M., Perumal, V., Karuppanan, S., Ovinis, M., Bothi Raja, P., Gopinath, SCB y Immanuel Edison, TNJ (2022). Una revisión completa sobre compuestos de nanomateriales mediados por biopolímeros y sus aplicaciones en sensores electroquímicos. *Reseñas críticas en química analítica* , 1–24. <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/10408347.2022.2135090>

Vázquez-Luna, A., Santiago, M., Rivadeneyra-Domínguez, E., & Díaz-Sobac, R. (2019). Películas comestibles a base de almidón nanoestructurado como material de barrera a la humedad. *CienciaUAT*, 13(2), 152-164.

Veiga-Santos, P., & dos Ouros, L. F. (2024). Starch-based packaging and coating polymers for food. In *Starch Industries: Processes and Innovative Products in Food and Non-Food Uses* (pp. 295-310). Academic Press.

Voronova, EA, Iliasov, PV y Reshetilov, AN (2008). Desarrollo, investigación de parámetros y estimación de la posibilidad de adaptación de un sensor microbiano basado en *Pichia angusta* para la detección de etanol. *Analytical Letters* , 41 (3),

377–391.

[https://doi-](https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/00032710701645729)

[org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/00032710701645729](https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/00032710701645729)

Wexler A. Formulación de presión de vapor para agua en un rango de 0 a 100 °C. Una revisión. J Res Natl Bur Stand A Phys Chem. 1976 sep-dic;80A(5-6):775-785. doi: 10.6028/jres.080A.071. Publicación electrónica 1 de octubre de 1976. PMID: 32196299; PMCID: PMC5312760.

William Gustavo Sganzerla, Luiz Eduardo Nochi Castro, Cleonice Gonçalves da Rosa, Aline da Rosa Almeida, Francisco Weshley (2023) Producción de películas nanocompuestas funcionalizadas con nanopartículas de plata bioeducidas con aceite esencial de romero (Rosmarinus officinalis L.) DOI: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1016/j.jafr.2022.100479>

Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., & Kunz, W. (2016). Actividad antioxidante de residuos de agua de hidrodestilación de hojas de Rosmarinus officinalis L. determinada mediante ensayos DPPH. *Comptes Rendus. Chimie* , 19 (6), 754-765.

Xiao, L., Zhang, Z., Wu, C., Han, L. y Zhang, H. (2017). Método basado en papel injertado con polímero de impresión molecular para la detección de 17 β -estradiol. *Química de los alimentos* , 221 , 82-86.

Xiong Qing,Yizhou Li,Kailai Xu,Pengchi Deng&Xiandeng Hou (2021).Una descripción general de la discriminación de bebidas alcohólicas y un estudio sobre la identificación de licores chinos suaves mediante espectros de 13 C-NMR y 1 H-NMR, DOI: <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/05704928.2021.1988960>

Xu, S., Sun, F., Pan, Z., Huang, C., Yang, S., Long, J. y Chen, Y. (2016). Películas macroporosas ordenadas basadas en óxido de grafeno reducido sobre una superficie curva: fabricación general y aplicación en sensores de gas. *ACS Applied Materials & Interfaces* , 8 (5), 3428-3437.

Xu, S., Sun, F., Yang, S., Pan, Z., Long, J. y Gu, F. (2015). Fabricación de un sensor de gas monocapa poroso ordenado con película de óxido de grafito reducido con

SnO₂ con sensibilidad ajustable mediante irradiación de luz ultravioleta. *Scientific Reports* , 5 (1), 8939.

Yasnó Serrato, N., & Rodríguez Ortigosa, L. (2019) Diagnóstico de los residuos de botellas de vidrio de bebidas alcohólicas en el casco urbano del municipio de Neiva.

Yoshiro SAITO, Akira SHIGA, Yasukazu YOSHIDA, Takuya FURUHASHI, Yoji FUJITA, Etsuo NIKI, Efectos de un nuevo sistema antioxidante gaseoso que contiene un extracto de romero sobre la oxidación inducida por dióxido de nitrógeno y radiación ultravioleta, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* , Volumen 68, Número 4, 1 de enero de 2004, Páginas 781–786, <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1271/bbb.68.781>

Yousefi, M., Afshari, R., Sadeghi, M., & Salari, R. (2018). Measurement of methanol and ethanol contents in most commonly used herbal distillates produced by three famous brands. *Iranian journal of public health*, 47(6), 901.

Yu Jiang, Junlin Ma, Jian Lv, Hongting Ma, Hongbo Xia, Jun Wang, Cheng Yang, Mianqi Xue, Gongyi Li, y Nan Zhu (2019) Sensor de metanol anfíbio fácil y portátil de vapor/líquido DOI: <https://doi.org/10.1021/acssensors.8b01111>

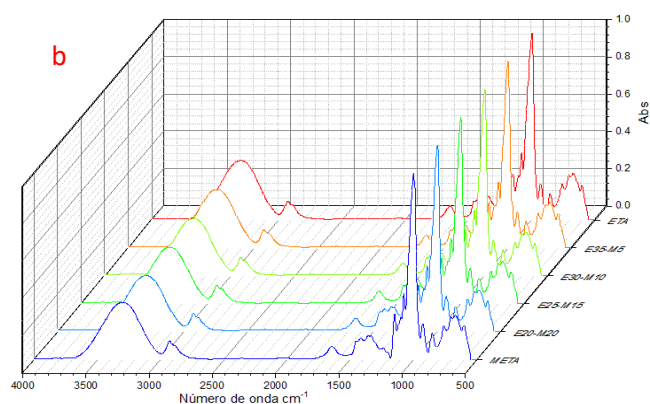
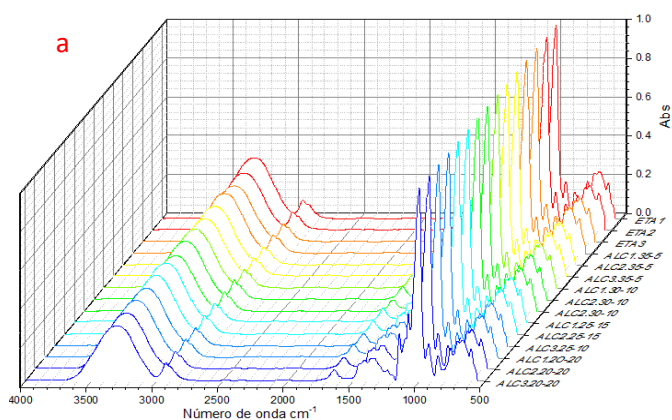
Zahra Nekoukar, Zakaria Zakariaei, Fatemeh Taghizadeh, Fatemeh Musavi, Elham Sadat Banimostafavi, Ali Sharifpour, Nasrin Ebrahim Ghuchi (2023) La intoxicación por metanol como nuevo desafío mundial: una revisión. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.102445>

Zapata, J. G., Sabogal, A., Montes, A. C., Rodríguez, G., & Castillo, J. (2012). *Una estimación de la adulteración y la falsificación de bebidas alcohólicas en Colombia*.

Zarrabi, A. y Ghasemi-Fasaei, R. (2021). Preparación de nanopartículas verdes de óxido de cobre sintetizadas para la eliminación eficiente de plomo de aguas residuales. *Revista Internacional de Fitorremediación* , 24 (8), 855–866. <https://doi-org.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/10.1080/15226514.2021.1984385>

ANEXOS

Anexo A: Réplicas de los espectros de infrarrojo de las mezclas de alcoholes a diferentes concentraciones. El gráfico (a) muestra las distintas réplicas de los alcoholes, incluyendo el efecto de la matriz de agua. El gráfico (b) presenta las réplicas de los alcoholes puros en sus diferentes concentraciones.



Anexo b: Espectros de infrarrojo de las hojas de romero antes y después de la extracción. El gráfico A muestra los espectros de las hojas de romero antes de la extracción. El gráfico B presenta los espectros de las hojas de romero después de la extracción del hidrolato. El gráfico C ofrece una comparación de los espectros de las hojas de romero antes y después de la extracción del hidrolato, permitiendo observar los cambios en su composición.

