



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**“ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE
BIOPELÍCULAS ELABORADAS CON QUITOSANO
Y ADICIONADAS CON PARTÍCULAS DE ALMIDÓN”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

José Aldo Escobar Guadarrama

ASESORA: Dra. Ma. Del Carmen Hernández Jaimes

COASESOR: Dr. Delfino Reyes Contreras



Toluca de Lerdo, Edo. De México, Marzo 2020

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias y Facultad de Química Campus el Cerrillo de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM). La supervisión del mismo estuvo a cargo de la Dra. Ma. Del Carmen Hernández Jaimes y el Dr. Delfino Reyes Contreras miembros del Cuerpo Académico de Procesos Biotecnológicos.

Índice

Resumen.....	11
I. Introducción.....	13
II. Marco Teórico.....	15
2.1. Recubrimientos alimenticios.....	15
2.2. Materiales de recubrimientos alimenticios.....	16
2.2.1. Proteínas.....	16
2.2.2. Lípidos.....	16
2.2.3. Gelatina.....	17
2.2.4. Quitosano.....	18
2.2.4.1 Propiedades funcionales del quitosano.....	19
2.2.5. Polisacáridos.....	20
2.2.5.1 Almidón de maíz.....	21
2.2.5.1.1 Partículas de almidón.....	22
2.3. Mezcla de biopolímeros.....	23
2.4. Plastificantes.....	25
2.4.1. Glicerol.....	26
2.4.2. Sorbitol.....	26
2.4.3. Polietilenglicol.....	26
2.5. Biopelículas.....	27
2.6. Factores influyentes en las propiedades de las biopelículas.....	28
2.6.1. Efecto del espesor.....	28
2.6.2. Efecto del plastificante.....	28
2.6.3. Efecto de la temperatura durante el secado.....	29
2.7. Métodos de elaboración de biopelículas.....	30
2.7.1. Casting.....	30

2.7.2. Coater.....	30
2.7.3. Extrusión.....	31
2.7.4. Electrospinning.....	31
2.8. Aplicaciones de las biopelículas en la industria alimentaria.....	32
2.9. Principales propiedades de las biopelículas.....	34
2.9.1. Propiedades físicas.....	34
2.9.1.1. Color.....	34
2.9.1.2. Espesor.....	34
2.9.1.3. Solubilidad.....	35
2.9.2 Propiedades mecánicas.....	35
2.10. Biopelículas en la conservación de alimentos.....	36
III. Justificación.....	37
IV. Objetivos.....	38
4.1. Objetivo General.....	38
4.2. Objetivos Específicos.....	38
V. Hipótesis.....	39
VI. Materiales y Métodos.....	40
6.1. Materiales.....	40
6.2. Métodos.....	40
6.2.1. Obtención de las partículas de almidón.....	40
6.2.2. Elaboración de biopelículas.....	40
6.2.3. Evaluación del color.....	40
6.2.4. Evaluación de microscopía óptica.....	41
6.2.5. Determinación del espesor.....	41
6.2.6. Determinación de la solubilidad.....	41

6.2.7.	Determinación de las propiedades mecánicas y texturales.....	42
6.2.8.	Evaluación del espectro de infrarrojo con transformada de Fourier.....	42
6.2.9.	Evaluación de difracción de rayos X.....	42
6.2.10.	Análisis Estadístico.....	43
VII.	Resultados y Discusión.....	44
7.1.	Resultados de evaluación del color.....	44
7.2.	Evaluación de microscopía óptica.....	46
7.3.	Resultados de la determinación de espesor y solubilidad.....	47
7.4.	Resultados de las propiedades mecánicas y texturales.....	49
7.5.	Resultados del espectro de infrarrojo con transformada de Fourier....	50
7.6.	Resultados de difracción de rayos X.....	52
VIII.	Conclusiones.....	54
IX.	Perspectivas.....	56
X.	Referencias.....	57

Lista de Figuras

Figura 1. Estructura del quitosano.....	18
Figura 2. Modelos esquemáticos de geles formados por mezcla binaria de polisacáridos.....	24
Figura 3. Estructura del glicerol.....	26
Figura 4. Esquema del método convencional Casting.....	30
Figura 5. Esfera de color.....	45
Figura 6. Biopelículas con partículas de almidón.....	45
Figura 7. Microscopia óptica de biopelículas con partículas de almidón.....	46
Figura 8. Gráfica de esfuerzo-deformación de las biopelículas de quitosano adicionadas con partículas de almidón.....	49
Figura 9. Espectros FT-IR de las biopelículas de quitosano adicionadas con partículas de almidón.....	50
Figura 10. Patrones de difracción de rayos X de las biopelículas de quitosano adicionadas con partículas de almidón.....	52

Lista de Tablas

Tabla 1. Aplicaciones de biopelículas en alimentos.....	33
Tabla 2. Propiedades ópticas de las diferentes formulaciones de biopelículas.....	44
Tabla 3. Valores promedio de las variables de espesor y solubilidad de las diferentes formulaciones de biopelículas.....	47

Resumen

En los últimos años, la contaminación ambiental resultante de los materiales derivados de petróleo se ha convertido en un grave problema a nivel mundial, gran parte es debida a la cantidad de materiales y empaques de las diferentes industrias principalmente la alimenticia. Materiales tales como poliestireno (PS), polietileno (PE), polipropileno (PP) y el tereftalato de polietileno (PET) se han utilizado ampliamente en las industrias de alimentos y envases. Estos materiales requieren cientos de años para degradarse en compuestos básicos. En la actualidad, se están realizando esfuerzos en el diseño de películas a base de productos orgánicos, que brinden propiedades de barrera y que mantengan la calidad de los productos.

A grandes rasgos el desarrollo y aplicación específica de biopelículas es un reto, ya que estas no pueden ser usadas de forma universal. Entre los materiales más utilizados para el desarrollo de las películas se encuentran los polisacáridos, como gomas, almidones, quitosano, carrageninas, proteínas, etc. El quitosano es el segundo polisacárido más abundante que se encuentra en la naturaleza, tiene características de biocompatibilidad, biodegradabilidad y actividad antimicrobiana, que son de gran interés en los empaques alimenticios.

Debido a sus propiedades de formación de película y su carácter antimicrobiano, el quitosano es un material potencialmente útil en el embalaje de alimentos. Sin embargo, las biopelículas presentan propiedades físicas y mecánicas que deben mejorarse para competir con los polímeros derivados del petróleo. Actualmente se están investigando combinaciones de polisacáridos y plastificantes para mejorar dichas características.

El objetivo del presente proyecto de tesis fue la elaboración y caracterización de biopelículas hechas a base de quitosano adicionadas con partículas de almidón de maíz. Para ello se procedió a la elaboración de las películas, a la obtención de las partículas de almidón de maíz, para posteriormente evaluar las propiedades físicas,

ópticas y mecánicas de las diferentes formulaciones que se analizaron. Las biopelículas resultantes fueron translúcidas, la adición de las partículas de almidón de maíz en la formulación provocó que el porcentaje de solubilidad en agua de la biopelícula disminuyera este valor de 61.44% a 56.17%. Las propiedades físicas y mecánicas de las biopelículas obtenidas fueron aceptables comparadas con las reportadas en estudios donde usaron quitosano y almidón de maíz. El análisis de color mostró que la adición de partículas de almidón de maíz en las biopelículas provoca diferencias significativas en la coordenada b^* teniendo una influencia hacia el color azul o amarillo de las biopelículas. La microscopía óptica mostró que la adición de partículas de almidón de maíz provocó irregularidades en las biopelículas debido a la aglomeración de las mismas. Al aumentar la concentración de partículas aumentaron las irregularidades, sin embargo, esto no tuvo un efecto significativo en el espesor de las biopelículas, estas fueron delgadas y homogéneas de 0.05 mm de espesor. Las propiedades mecánicas indicaron que la adición de partículas de almidón disminuye la resistencia a la tracción de 5 MPa hasta 4.3 MPa de las biopelículas. Esto significa que la adición de las partículas de almidón hace que las biopelículas se estiren menos y se rompan con menor fuerza aplicada.

I. Introducción

En los últimos años ha aumentado el interés por el uso de productos naturales como materias primas para la elaboración de recubrimientos comestibles, debido a que este tipo de recubrimientos presentan ventajas que incluyen el uso de ingredientes de envasado biodegradables en comparación con los materiales de envasado tradicionales. De tal forma que éstos en un futuro puedan llegar a sustituir parte de los materiales generados a base de polímeros sintéticos, lo cual podría contribuir a reducir la contaminación ambiental (Wittaya, 2008).

Actualmente, uno de los principales propósitos de la sociedad es la preservación del medio ambiente. Se está optando por cambiar formas de vida y tratar de mejorar costumbres para poder ofrecer un mundo, al menos como lo conocemos a futuras generaciones. Sin embargo, no todo es tan sencillo como parece, el ser humano día a día ha hecho que esto cada vez sea más complicado, por lo que comienzan a tomarse medidas drásticas para poder remediar un poco el daño que ya se ha hecho al medio ambiente. Es por ello que como una contribución amigable con el medio ambiente, se están diseñando recubrimientos comestibles (biopelículas) a base de productos biodegradables, que brinden propiedades de barrera, sean ópticamente aceptables y que mantengan las características organolépticas del producto que contengan. Lo anterior, brinda una importante característica a la tendencia natural del mercado, ya que los mismos consumidores han optado por adquirir productos “más naturales” de buena calidad (Wittaya, 2008).

El desarrollo de biopelículas como recubrimientos biodegradables que son aplicados a productos frescos como los mínimamente procesados, ha generado impacto positivo sobre la vida de anaquel de dichos alimentos (Quintero *et al.*, 2010). Sin embargo, a pesar de tener una amplia información técnica sobre las biopelículas, estas no pueden ser usadas de forma universal en todos los alimentos, cada biopelícula tendrá propiedades de barrera y mecánicas específicas en función de su formulación, por lo que el desarrollo y aplicación de cada uno de los recubrimientos es un reto (Bosquez, 2003). Con base en lo anterior, en este trabajo

se propuso la elaboración y caracterización de biopelículas elaboradas con quitosano y adicionadas con partículas de almidón de maíz.

II. Marco Teórico

2.1. Recubrimientos alimenticios

Actualmente, los recubrimientos cumplen innumerables funciones y poseen características que les permiten tanto conservar los productos como atraer e informar a los consumidores. Los materiales utilizados han evolucionado desde las hojas de palma o plátano hasta complejos envases multicapas que no requieren refrigeración, así como otros de tipo activo o inteligente (Marsh *et al.*, 2007). Debido al cambio histórico que han tenido los materiales utilizados para elaborar recubrimientos y empacar productos alimenticios, se han dividido en tres generaciones:

Primera generación: Aquí se incluyen los materiales usados como bolsa de centro comercial hecha de polietileno de baja densidad de 5 a 15% de fibras de almidón con aditivos pro oxidativos y auto oxidativos, los cuales tienen una lenta fragmentación que se convierte en pequeñas moléculas no biodegradables (Robertson, 2008).

Segunda generación: Materiales formados por una mezcla de almidón 40-75% y polietileno de baja densidad más la adición de copolímeros hidrofílicos tales como polivinil alcohol y acetato de vinilo, cuya función es actuar como agente de compatibilidad. La degradación completa del almidón toma alrededor de 40 días y la degradación final de la película entre 2 y 3 años (Robertson, 2008).

Las características físicas que tienen estos empaques dejan en duda la credibilidad de la degradación que supuestamente poseen, por lo que no son del todo aceptados en el sector comercial.

Tercera generación: Los materiales usados, a su vez se dividen en tres categorías, a) polímeros extraídos de biomasa, b) polímeros producidos por síntesis química de monómeros de biomasa y c) biopolímeros producidos naturalmente o de organismos genéticamente modificados (Robertson, 2008). En esta última

clasificación se incluyen materiales de origen natural como las proteínas, lípidos, almidones, etc.

2.2. Materiales de recubrimientos alimenticios

2.2.1. Proteínas

Las proteínas son macromoléculas con secuencias de aminoácidos y estructuras moleculares específicas. Dependiendo del orden secuencial pueden asumir diferentes estructuras mediante diversos tipos de enlaces (electrostático, hidrófobo, Van der Waals, puentes de hidrógeno, y las interacciones entre enlaces cruzados disulfuro) (Cheftel *et al.*, 1986). Así, este tipo de recubrimientos se verá influenciado por la composición de aminoácidos, la carga electrostática, las propiedades anfílicas, así como los cambios de estructura secundaria, terciaria y cuaternaria debido al calor, la presión, la irradiación, el tratamiento mecánico, los ácidos, los álcalis, los iones metálicos, las sales, la hidrólisis química, etc., que permitan formar estructuras más extendidas y conseguir propiedades deseables (Bourtoom, 2008; Han, 2005; Krochta, 2002).

Las proteínas utilizadas en la formulación de recubrimientos biodegradables pueden ser de origen animal (colágeno, gelatina, proteína miofibrilar de pescado, queratina, proteína de clara de huevo, caseína y proteína de suero de leche) o de origen vegetal (zeína de maíz, gluten de trigo, proteína de soja) (Kester *et al.*, 1986). Las proteínas de alto peso molecular y fibrilar como el colágeno, la gelatina y las proteínas miofibrilares pueden formar redes más amplias con buenas propiedades mecánicas (Guillbert *et al.*, 1995).

2.2.2 Lípidos

Los recubrimientos hechos a base de lípidos se usan como barreras efectivas para limitar la migración de humedad/ vapor de agua dentro de los alimentos, debido a su naturaleza apolar (Debeaufort *et al.*, 1998). Los lípidos consisten en ceras, aceites y resinas. Durante varias décadas, las ceras (cera de carnauba, cera de abejas y cera de parafina) y aceites (aceite mineral y vegetal) se han utilizado

comercialmente como revestimientos protectores para frutas y verduras frescas (Kapetanakou *et al.*, 2014), pues retardan su respiración y disminuyen la pérdida de humedad. Los lípidos no tienen influencia sobre las propiedades mecánicas pero algunos de ellos (ácidos grasos, fosfolípidos) se usan en la formulación como emulsionantes y agentes tensoactivos que aumentan la flexibilidad debilitando las fuerzas intermoleculares entre las cadenas del polímero (Milovanović *et al.*, 2001), además se utilizan algunas veces como barreras para los gases y / o la humedad en los pescados o productos cárnicos (Debeaufort *et al.*, 2009). Sin embargo, tienen propiedades limitadas de barrera al oxígeno y el uso de grasas como una cubierta protectora para los alimentos puede tener inconvenientes, como el comienzo de rancidez en las grasas, así como revestimiento superficial graso que las grasas pueden impartir (Rhim *et al.*, 2007). Dado que estos materiales lipídicos no son polímeros, generalmente no forman películas cohesivas autónomas, es decir, forman películas frágiles.

2.2.3 Gelatina

La gelatina se obtiene mediante hidrólisis controlada de la proteína fibrosa insoluble, colágeno, que se encuentra ampliamente en la naturaleza como el constituyente principal de la piel, los huesos y el tejido conectivo (Bourtoom, 2008). Sus características difieren de otros hidrocoloides como una proteína completamente digerible, que contiene casi todos los aminoácidos esenciales (alto contenido de glicina, prolina e hidroxiprolina), excepto el triptófano (Fakhouri *et al.*, 2015). Aproximadamente a 35°C (punto de fusión), la gelatina forma una disolución viscosa de cadenas de polipéptidos lineales en espiral y al enfriar forman un gel físico termorreversible, recuperando la estructura de hélices de colágeno, aunque no muy largas (Kapetanakou *et al.*, 2014; Skurtys *et al.*, 2014).

La gelatina produce recubrimientos resistentes flexibles cuando se homogeniza junto con glicerina o sorbitol (Tharanathan, 2003). (Guilbert *et al.*, 1995) sugiere una preparación con gelatina al 20-30% y agregar plastificante al 10-30% (glicerina o sorbitol). Generalmente la gelatina se utiliza para encapsular ingredientes de alimentos de baja humedad o fase de aceite y productos farmacéuticos. En

alimentos, como recubrimientos en carnes, Han & Gennadios *et al.* (2005) exponen que se han formado recubrimientos de gelatina para reducir el transporte de oxígeno, humedad y aceite. Las propiedades y capacidad de formación de la gelatina varían dependiendo del origen de la materia prima, así como del peso molecular, es decir, cuanto mayor es el peso molecular promedio, mejor es la calidad del recubrimiento. Usualmente las gelatinas de mamíferos suelen tener mejores propiedades físicas y termoestabilidad que las gelatinas de pescado, lo cual se relaciona con su mayor contenido de aminoácidos (Skurtys *et al.*, 2014).

2.2.4 Quitosano

El quitosano es el principal derivado de la quitina, el material que comprende los exoesqueletos de crustáceos, moluscos, esqueletos de insectos y hongos, y se produce mediante una desacetilación alcalina de la quitina. Después de la celulosa, la quitina es el siguiente polisacárido más abundante en el planeta (Nieto, 2009; Tzia *et al.*, 2016).

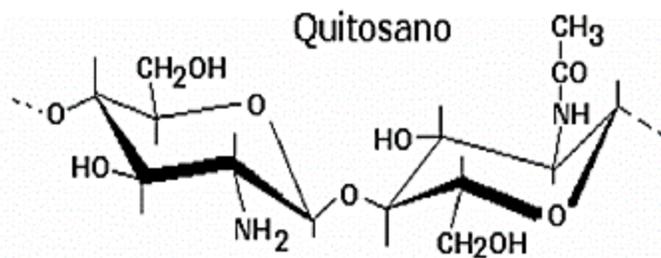


Figura 1. Estructura del quitosano (Lárez, 2006).

El quitosano es un polisacárido lineal y catiónico que consiste en 2-amino-desoxi-β-D-glucano con enlaces (1,4) (Figura 1), es un derivado desacetilado de quitina (Nieto, 2009; Tzia *et al.*, 2016). Este polisacárido es relativamente insoluble en agua pero soluble en ácido debido al grupo amino de carga positiva en el C2 del monómero de glucosamina a un pH inferior a 6. Es soluble en ácido acético glacial y HCl diluido (Nieto, 2009; Pereda *et al.*, 2011).

El quitosano es un polisacárido interesante debido a su baja toxicidad, alta biodegradabilidad y estabilidad y costo relativamente bajo, ya que es un

subproducto y un material renovable de algunas industrias (Kurek *et al.*, 2014). Los recubrimientos de quitosano tienen actividad antimicrobiana, pero no poseen buenas propiedades mecánicas y una permeabilidad moderada a los gases (CO₂ y O₂). Sin embargo, estos recubrimientos son altamente permeables al vapor de agua, lo que limita su uso. Este es un inconveniente importante porque un control efectivo de la transferencia de humedad es una propiedad deseable para la mayoría de los alimentos, especialmente en ambientes húmedos (Elsabee *et al.*, 2013; Nieto, 2009). Una forma alternativa de mejorar las propiedades físicas y mecánicas de las películas es mediante la combinación de proteínas (por ejemplo, proteínas de la leche, proteína de soja, colágeno y gelatina) con polisacáridos (por ejemplo, almidones, alginatos, celulosa y quitosano) (Elsabee *et al.*, 2013; Vargas *et al.*, 2009). Pereda *et al.* (2011) desarrollaron recubrimientos biodegradables basadas en compuesto de quitosano/gelatina y quitosano/gelatina de dos capas y sus propiedades fisicoquímicas, como la resistencia al agua, la transparencia y el color, y verificaron que tanto los sistemas bicapa como los laminados resultaron en alternativas más efectivas para reducir la permeación al vapor de agua (WVP) en comparación con el recubrimiento control elaborado sólo con quitosano. Xu *et al.* (2005) elaboraron recubrimientos laminados de quitosano/pectina mediante la interacción de los grupos catiónicos de quitosano con los grupos aniónicos de pectina y verificaron una disminución en las tasas de transmisión de vapor de agua al combinar el quitosano con dos almidones de maíz gelatinizados térmicamente.

2.2.4.1 Propiedades funcionales del quitosano

El quitosano es el segundo polisacárido más abundante que se encuentra en la naturaleza y tiene características de biocompatibilidad, biodegradabilidad y actividad antimicrobiana, que son de gran interés en los empaques alimenticios. El quitosano es un polímero natural derivado de la desacetilación de la quitina, que es insoluble en los solventes habituales. Sin embargo, cuando el grado de desacetilación de la quitina alcanza aproximadamente el 50%, se vuelve soluble en medios ácidos acuosos y se llama quitosano (Rinaudo, 2006). La solubilidad del quitosano depende del grado de desacetilación, la distribución de los grupos acetilo

a lo largo de la cadena principal, el peso molecular y la naturaleza del ácido utilizado para la protonación (Pillai *et al.*, 2009), pero es soluble en soluciones ácidas diluidas por debajo de pH 6.0 debido a la presencia de grupos amino. Además de la solubilidad, el peso molecular del quitosano también puede afectar la calidad de la película final, como la elasticidad o la fragilidad (Hwang *et al.*, 2003).

Debido a sus propiedades de formación de película y su carácter antimicrobiano, el quitosano es un material potencial para el embalaje de películas. Sin embargo, las películas de quitosano son rígidas y necesitan plastificantes para reducir las fuerzas de fricción entre las cadenas de polímeros, como los enlaces de hidrógeno o las fuerzas iónicas, a fin de mejorar las propiedades mecánicas (Park, 2002).

2.2.5 Polisacáridos

Los materiales formadores de película incluyen almidones, gomas vegetales (por ejemplo alginatos, pectinas y goma arábica), almidones modificados químicamente y fibras. Los polisacáridos tienen monómeros simples, sin embargo, la conformación de la estructura de polisacáridos es más complicada e impredecible. Debido al gran número de grupos hidroxilo u otros restos hidrófilos en la estructura de hidratos de carbono neutros, los enlaces de hidrógeno juegan el papel más significativo en la formación de los recubrimientos y sus características (Han, 2005). A pesar de que la mayoría de los carbohidratos son neutrales, materiales como los alginatos y las pectinas requieren la adición de un ion polivalente, usualmente calcio (Greener *et al.*, 1994), para facilitar la formación del recubrimiento. El peso molecular del polisacárido también juega un papel importante en las propiedades. Los polímeros lineales de alto peso molecular y no iónico forman películas fuertes, como es el caso del agar y la metilcelulosa. En cambio, los polisacáridos más ramificados, con o sin carga aniónica, forman recubrimientos más débiles (Nieto, 2009). Ellos, al igual que las proteínas, son susceptibles a cambios de pH debido a su estado cargado.

En general las películas y recubrimientos comestibles producidos por los polisacáridos son transparentes, cohesivos y homogéneos (Bourtoom, 2008). La principal ventaja es que proporcionan propiedades mecánicas adecuadas, y su capacidad para retrasar la transmisión de O₂ y CO₂ (Kester, 1986; Pavlath *et al.*,

2009), no obstante al ser polímeros hidrófilos, presentan propiedades de barrera a la humedad y vapor de agua muy bajas (Rhim *et al.*, 2007).

2.2.5.1 Almidón de maíz

El almidón es el polisacárido de reserva de la mayoría de las plantas, se encuentra ampliamente en la naturaleza y se usa comúnmente como hidrocoloide alimentario. Esto se debe en parte a la amplia gama de propiedades funcionales que puede proporcionar en sus formas naturales y modificadas, y en parte debido a sus bajos costos en relación con las alternativas (Tzia *et al.*, 2016). Es un recurso renovable que está ampliamente disponible y se puede obtener de diferentes restos de cosecha e industrialización de materias primas. Los almidones son polímeros que se encuentran naturalmente en una variedad de fuentes botánicas, como cebada, trigo, guisantes, arroz, maíz, papas y tapioca (Barzegar *et al.*, 2014).

El almidón tiene una estructura granular y está compuesto por dos macromoléculas: amilosa y amilopectina. La amilosa es una cadena lineal de residuos de D-glucosa unidos a través de enlaces glicosídicos α -1,4, y la amilopectina, una molécula ramificada que consiste en unidades de glucosa conectadas por enlaces α -1,4 y α -1,6 (Tzia *et al.*, 2016). La relación amilosa:amilopectina depende de la fuente de almidón y varía entre 15:85 y 35:65 (Cano *et al.*, 2014). En variedades de almidón waxy y almidón de maíz con alto contenido de amilosa, el contenido de amilosa es de aproximadamente 5% y 50% -85%, respectivamente (Tzia *et al.*, 2016). Estos dos polímeros son responsables de la cristalización del almidón, lo que conduce a cambios en la respuesta mecánica (aumento de la rigidez) de los productos de almidón (Cano *et al.*, 2014).

Las cadenas laterales de amilopectina forman hélices dobles que dan como resultado regiones cristalinas. Las regiones menos ordenadas en los gránulos de almidón contienen zonas de ramificación amorfa rígidas de amilopectina y amilosa. La amilosa es principalmente amorfa en los gránulos de almidón, pero también puede formar hélices dobles con cadenas laterales de amilopectina y cristalizar (Talja *et al.*, 2008).

El uso del almidón para la producción de recubrimientos biodegradables ha sido estudiado debido a que es de origen natural, es renovable, abundante, de bajo costo y tiene una gran capacidad para formar recubrimientos inodoros, incoloros y transparentes (Barzegar *et al.*, 2014; Cano *et al.*, 2014; Nascimento *et al.*, 2012). Sin embargo, no se han desarrollado aplicaciones mucho más amplias de productos a base de almidón en el envasado debido a sus propiedades débiles de barrera al agua, fragilidad, naturaleza hidrofílica del almidón, alta retrogradación y bajas propiedades mecánicas en comparación con los materiales basados en polímeros sintéticos. Sin embargo, esta matriz polimérica tiene una baja permeabilidad al oxígeno, lo cual es muy interesante para la conservación de alimentos (Cano *et al.*, 2014).

2.2.5.1.1 Partículas de almidón

Las partículas de almidón se obtienen de la ruptura de los gránulos del almidón, los cuales están compuesto por dos tipos de moléculas:

- Amilosa: normalmente representa un 20-30% del total.
- Amilopectina: normalmente en un 70-80% del total.

Ambos son polímeros de unidades de α -D-glucosa (Fanelli, 2009). Recientemente, la producción de partículas en la industria alimentaria ha recibido mucha atención debido a sus características de liberación controlada, estabilidad, biodisponibilidad y capacidad para administrar varios ingredientes activos en alimentos y dentro del cuerpo humano (Joyce *et al.*, 2013).

Las partículas de polisacáridos como la celulosa y el almidón son fuentes potenciales de refuerzo. Savadekar y Mhaske (2012) informaron el efecto de las fibras de nanocelulosa en las propiedades del almidón termoplástico. Sus hallazgos mostraron que las biopelículas adicionadas con partículas de almidón tenían mayor resistencia a la tracción, menor alargamiento a la rotura y disminución de las tasas de transmisión de vapor de agua y oxígeno.

Los nanocristales de almidón de maíz, obtenidos por hidrólisis ácida de gránulos nativos, se han utilizado como agente de refuerzo en el almidón termoplástico (Angellier *et al.*, 2006). Angellier *et al.* (2006) informaron que las propiedades

mecánicas del almidón termoplástico reforzado con nanocristales de almidón de maíz eran obviamente más altas que las del almidón termoplástico sin refuerzo. Piyada *et al.* (2013) mostraron que las propiedades mecánicas de recubrimientos de almidón de arroz mejoraron con la adición de nanocristales de almidón de maíz, observaron un aumento significativo del módulo de Young y la resistencia a la tracción, así como una disminución significativa en alargamiento a la rotura después de agregar nanocristales de almidón de maíz a los recubrimientos.

2.3 Mezcla de biopolímeros

El objetivo de mezclar polímeros con diversas estructuras físicas y químicas, compatibles parcialmente o totalmente incompatibles, en proporciones adecuadas, en general se debe a la búsqueda de la optimización de las propiedades de los componentes, para dar un producto final que tenga propiedades más deseables o costo menor que los de los componentes individuales, o, en algunos casos, para producir nuevos materiales para fines específicos (Cazacu *et al.*, 2005). En el caso de los polisacáridos, las interacciones polímero - polímero o polímero - solvente determinarán las propiedades del sistema resultante. En los casos de geles binarios de polisacáridos, pueden ser propuestos cuatro modelos esquemáticos de la red del gel. Aunque simples, estos modelos constituyen la base para establecer ciertas relaciones entre el gel mixto y sus componentes. Estos modelos de geles han sido denominados como: redes hinchadas, redes de interpenetración, redes de fase separada y redes acopladas (Figura 2).

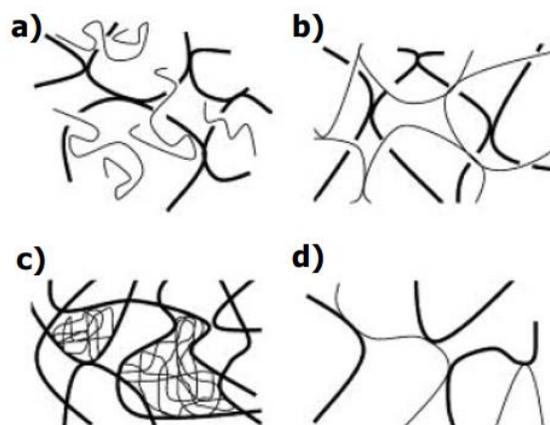


Figura 2. Modelos esquemáticos de geles formados por mezcla binaria de polisacáridos. (a) Red hinchada, (b) red de interpenetración, (c) red de fase separada y (d) red acoplada Fuente: (Morris, 2007).

- **Redes hinchadas:** este tipo de gel se da en mezclas de un polisacárido gelante y otro no gelante, o las mezclas de dos polisacáridos gelantes bajo condiciones donde sólo uno de los polímeros es inducido a formar gel. Los polímeros no gelantes se considera que residen dentro e hinchan la red de gel. Este tipo de estructura sólo es probable que ocurra si la tasa de desmezclado de los dos polisacáridos es baja en comparación con la tasa de gelación, tal que el polímero no gelificante se distribuya bastante uniformemente dentro de la red de gel.
- **Redes de interpenetración:** se considera que constan de dos redes de espacio de llenado independientes que se interpenetran una con la otra. Verdaderas redes de interpenetración a nivel molecular son poco probables debido a la tendencia de los polisacáridos a formar fase separada. Sin embargo, para mezclas de polisacáridos cargados y no cargados puede ser inhibida la separación de fase.
- **Redes de fase separadas:** una solución diluida bajo condiciones de equilibrio ha mostrado que, polisacáridos incluso químicamente muy similares, presentarán fases separadas. Algunos ejemplos incluyen amilosa y amilopectina, pectinas y hemicelulosas. Si la concentración de almidón es suficientemente alta entonces, cuando se enfrían, los geles de amilosa dan lugar a una red de amilosa interpenetrante a través de los gránulos hinchados. Esto puede considerarse como un gel compuesto con los gránulos actuando como partículas de relleno reforzando la red de amilosa. Esto es un ejemplo de un gel de fase separada porque la amilopectina todavía en gran medida está contenida en los restos de los gránulos hinchados.
- **Redes acopladas:** están formadas por mezclas de polisacáridos bajo condiciones donde los componentes individuales por si solos no forman gel,

pero las mezclas sí lo hacen. Los mecanismos para gelación son aún controvertidos pero hay evidencia considerable en todos los casos de que algún tipo de enlace intermolecular entre los dos polisacáridos contribuye a la formación de una red permanente.

En la siguiente sección se incluyen plastificantes como el glicerol, sorbitol, etc., los cuales nos permiten suavizar dichas redes.

2.4 Plastificantes

Además del componente de naturaleza polimérica y de alto peso molecular (matriz), otro componente importante de los recubrimientos comestibles son los plastificantes. Estos son moléculas pequeñas de bajo peso molecular, de baja volatilidad y con una naturaleza química similar a la del polímero formador de recubrimiento. Se usan para mejorar la flexibilidad y la funcionalidad de los recubrimientos.

Generalmente se requieren plastificantes como el glicerol en las formulaciones a base de polisacáridos y de proteínas, para aumentar la flexibilidad de los recubrimientos al aumentar el volumen libre o la movilidad molecular de los polímeros ya que reducen los enlaces hidrógeno internos entre las cadenas de polímeros. Los plastificantes afectan la capacidad de atracción de agua del sistema y generalmente suelen aumentar la permeabilidad al oxígeno de los recubrimientos comestibles (Sothornvit *et al.*, 2000).

2.4.1 Glicerol

El glicerol, o glicerina, es un poliol incoloro, inodoro y soluble en agua, formador de soluciones neutras y aprobadas por la FDA para aplicarse en alimentos sin riesgo alguno. Su fórmula química es $C_3H_8O_3$ (Figura 3) y su peso molecular es 92.09 g/mol (Burdock, 2010).

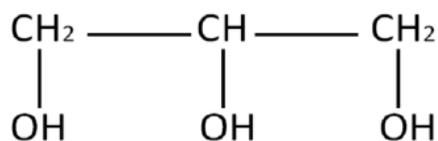


Figura 3. Estructura del glicerol. Fuente: Badui (2012)

El glicerol es el plastificante más utilizado en la elaboración de recubrimientos y películas comestibles, adicionado generalmente a bajas concentraciones, ya que de lo contrario, el plastificante influye negativamente en la permeabilidad de los recubrimientos (Arvanitoyannis *et al.*, 1998).

2.4.2 Sorbitol

El sorbitol es un polialcohol de azúcar que se obtiene por reducción del monosacárido más común, la glucosa. Es un líquido con consistencia de jarabe, de aspecto claro, inodoro, incoloro, viscoso, de pH neutro y libre de partículas en suspensión. Su sabor es dulce y refrescante. Es totalmente soluble en agua, glicerina y propilenglicol. Es utilizado además como plastificante, generalmente de productos a base de goma y gelatina, aportando cuerpo y sabor (Arvanitoyannis *et al.*, 1998).

2.4.3 Polietilenglicol

El polietilenglicol es un polímero con buenas propiedades lubricantes y formadoras de películas (Dhawan *et al.*, 2005). Es un polímero con una estructura repetitiva de $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ y con dos grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) finales, con lo que puede ser afín al almidón por su carácter hidrofílico. En los estudios de Kondo y Sawatari (1994) y Tuncer *et al.* (2005), se observó que los grupos hidroxilo de la celulosa, la metilcelulosa y del alginato de sodio pueden formar puentes de hidrógeno con el grupo éter del polietilenglicol. Por lo que el almidón también podría formar puentes de hidrógeno con el grupo éter del polietilenglicol.

2.5 Biopelículas

A partir de los años 70, los polímeros petroquímicos, han sido el material más extensamente usado para embalar debido a su alto rendimiento y su bajo precio (Callegarin *et al.*, 1997). Sin embargo, debido al aumento de los materiales de desecho no biodegradables y la dificultad para reciclar la mayoría de los empaques sintéticos disponibles se ha estado impulsando la investigación hacia el desarrollo

de nuevos materiales biodegradables que sean adecuados para el envasado de alimentos (Davis *et al.*, 2006).

Los recubrimientos comestibles fueron usados por cientos de años. Por ejemplo, la cera ha sido aplicada a los cítricos para retrasar su deshidratación desde el siglo XII en China (Debeaufort *et al.*, 1998). En el siglo XVI las grasas fueron usadas para cubrir cortes de carne con el fin de prevenir el encogimiento. La grasa de cerdo o cera fue usada para cubrir la fruta y otros productos alimenticios en Inglaterra (Miller *et al.*, 1997). Más tarde, en el siglo XIX, las películas de gelatina fueron usadas para cubrir carnes y la sacarosa fue escogida como un recubrimiento comestible protector sobre almendras y avellanas, para prevenir la oxidación y la rancidez (Debeaufort *et al.*, 1998). Recubrimientos de cera sobre frutas y verduras, recubrimientos de zeína sobre caramelos y de azúcar sobre almendras son los ejemplos comerciales más comunes de recubrimientos comestibles. Éteres de celulosa (carboximetil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa y metilcelulosa) han sido usados como ingredientes en recubrimientos para frutas, verduras, carnes, almendras, productos de confitería, panadería, granos y otros productos agrícolas (Han *et al.*, 2005).

Las biopelículas se definen como una o varias capas delgadas de un material que puede ser consumido por los seres vivos y que a la vez pueden actuar como barrera a la transferencia de agua, gases y solutos de alimentos (Guilbert, 1986). Sin embargo, existen muchos factores que influyen en las características de las mismas los cuales se presentan en la siguiente sección.

2.6. Factores influyentes en las propiedades de las biopelículas

Las propiedades de las biopelículas elaboradas con polímeros dependen de las características de sus componentes, del espesor de las mismas y de las condiciones de secado y almacenamiento.

2.6.1 Efecto del espesor

Las propiedades de barrera de las películas varían con el espesor de las mismas, ya que el espesor determina la distancia que el permeato (vapor de agua y gases) debe recorrer para difundir de un lado a otro de la película (Park, 1995).

2.6.2 Efecto del plastificante

Los plastificantes son los principales componentes que afectan a las propiedades barrera y mecánicas de las biopelículas. Los plastificantes interfieren en las uniones entre las cadenas del polímero reduciendo así su cohesión. Estos aumentan la movilidad entre las cadenas de polímero y, por tanto la flexibilidad y elasticidad del mismo, aumentan el volumen libre, aumentando la permeabilidad y disminuyendo la temperatura de transición vítrea (McHugh, 1994). La habilidad del plastificante para romper los enlaces entre las cadenas de polímero depende de la naturaleza química, tamaño, forma, polaridad, longitud de cadena, estado físico y número de grupos funcionales del plastificante capaces de interaccionar con el polímero (Sothornvit, 2001).

En general, los mejores plastificantes, en términos de mejorar las propiedades mecánicas son aquellos de pequeño volumen y con muchos grupos polares distanciados entre sí en su molécula. Los plastificantes de molécula lineal difunden con mayor facilidad en la matriz polimérica que los que presentan anillos en su molécula (Sothornvit *et al.*, 2002). La afinidad del plastificante por el agua determina su capacidad para atraer agua al sistema, la cual, a su vez, contribuye a la plastificación del mismo y afecta la permeabilidad de las películas. Así, la mayor higroscopicidad del plastificante potencia la capacidad del plastificante para mejorar las propiedades mecánicas de las películas, pero reduce la barrera al vapor de agua y a los gases (CO₂ y O₂) (Sothornvit, 2005). El estado físico de los plastificantes también modifica su efectividad. Sothornvit *et al.*, (2002) observaron que el glicerol, polietilenglicol y propilenglicol, gracias a su estado líquido, plastifican mejor las películas proteicas de β -Lactoglobulina que otros plastificantes, como la sacarosa, que a temperatura ambiente se encuentran en estado sólido.

La naturaleza hidrofílica o hidrofóbica del plastificante determina su efecto en las propiedades barrera de la biopelícula. Así, los plastificantes hidrofílicos aumentan

de manera más pronunciada la permeabilidad al vapor de agua de la película que la permeabilidad a los gases; mientras que con los plastificantes hidrofóbicos sucede lo contrario; la mayor compatibilidad de los plastificantes hidrofílicos con la matriz de hidrocoloide mejora su eficacia como plastificante frente a los hidrofóbicos. Por este motivo la tendencia es combinar los dos tipos para lograr las ventajas de ambos y minimizar las desventajas. El contenido y tipo de plastificante de la formulación afecta tanto a las propiedades de barrera como a las propiedades mecánicas de la película (Sothornvit, 2005).

En general, el aumento de la concentración del plastificante aumenta el efecto del mismo en las propiedades mecánicas y barrera al vapor de agua y al O₂, aumentando la flexibilidad y elongación y la permeabilidad de la película. Sin embargo, en determinadas condiciones ciertos plastificantes pueden producir efectos contrarios a los deseados.

2.6.3 Efecto de la temperatura durante el secado

Las propiedades de barrera de las películas y la permeabilidad al vapor de agua se ven afectadas por la temperatura. Conforme a la Ley de Arrhenius, tanto la permeabilidad de los materiales como la difusividad de los gases aumentan exponencialmente con la temperatura (Pascot, 1985). Además, hay que considerar que la temperatura condiciona el estado físico de los componentes estructurales (lípidos, plastificantes e hidrocoloides), modificando sus propiedades mecánicas y de barrera, además condiciona también la hidratación de las biopelículas, lo que también afecta las propiedades de las mismas. Por tanto, el efecto de la temperatura en las propiedades mecánicas y barrera de la película dependerá de los cambios que produzca en los componentes que la integran. Asimismo, el incremento de la permeabilidad al vapor de agua al reducir la temperatura de almacenamiento se ha observado en distintas películas comestibles a base de lípidos (Landman *et al.*, 1960; Biquet, 1988). Además, la temperatura modifica la capacidad de las películas para absorber agua lo que afecta las propiedades mecánicas y de barrera de las mismas. Así por ejemplo, Noguchi (1981) observó que en películas de polisacárido

un descenso de la temperatura de 20°C a 0°C duplicaba la hidratación de las mismas.

2.7 Métodos de elaboración de biopelículas

2.7.1 Casting

El método de “casting” o vaciado en caja es un proceso mediante el cual un líquido es vertido en un molde almacenado a ciertas condiciones para formar un material rígido que reproduce la misma cavidad del molde (Figura 4). Las ventajas de este método incluyen distribución de espesor uniforme, máxima pureza óptica, las biopelículas elaboradas por este método poseen una excelente planitud y estabilidad dimensional (Sayyar *et al.*, 2017).

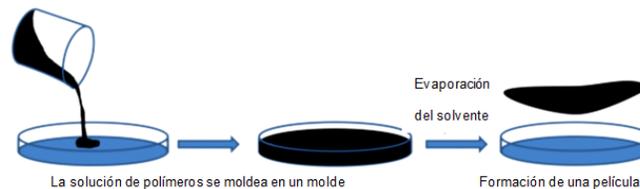


Figura 4. Esquema del método convencional Casting. Fuente: Sayyar *et al.*, (2017)

2.7.2 Coater

Las películas también se pueden preparar mediante la técnica de coater, a una escala mayor que las que se reportan en la literatura utilizando la técnica de casting (Scheibe *et al.*, 2014). La técnica de coater también se conoce como fundición en tiras o revestimiento con cuchilla, y es bien conocida en las industrias de fabricación de plástico, cerámica, papel y pintura (Moraes *et al.*, 2013; Richard *et al.*, 2000; Scheibe *et al.*, 2014). Esta técnica permite la propagación de una suspensión formadora de película en un soporte grande y en correas de transporte continuo y permite el control del grosor de la película con una cuchilla ajustable en la parte inferior del dispositivo de propagación, llamada cuchilla (Moraes *et al.*, 2013; Susarla *et al.*, 2013).

El secado de la película se puede realizar en el soporte a través de un secado por conducción, secado por convección, radiación infrarroja o una combinación de estos

métodos de calentamiento que resultan en una reducción de su espesor (Moraes *et al.*, 2013).

2.7.3 Extrusión

La extrusión se utiliza para la producción de envases de plástico comerciales convencionales. Este proceso utiliza uno o dos tornillos giratorios instalados en un barril para aumentar progresivamente la presión y empujar hacia adelante y mezclar los ingredientes necesarios para fabricar el polímero comercial a través de una matriz donde se puede expandir (Espitia *et al.*, 2014; Nur Hanani *et al.*, 2012; Zink *et al.*, 2016). Sin embargo, la calidad de las películas formadas (por ejemplo, películas basadas en almidón) a menudo se ve afectada por las altas tasas de cizallamiento y las altas temperaturas del proceso (Mali *et al.*, 2010; Scheibe *et al.*, 2014).

2.7.4 Electrospinning

La técnica de electrospinning o electrohilado, permite crear fibras de polímeros, en escala micro y nanométrica, para una gran variedad de aplicaciones; esta técnica aporta a las fibras desarrolladas diversas características como amplia superficie por unidad de área, porosidad y buenas propiedades mecánicas, siendo atractivas a nivel biotecnológico. La técnica es versátil y de fácil implantación lo que permite procesar una gran variedad de polímeros, integrando en los últimos años otras clases de materiales. En el electrospinning un campo eléctrico es aplicado a una disolución de polímero con cierta viscosidad, que fluye por un tubo capilar, induciendo una gran densidad de carga a la superficie líquida, lo que provoca una fuerza de repulsión opuesta a la tensión superficial de la disolución (Sill, 2008).

2.8 Aplicaciones de las biopelículas en la industria alimentaria

Las biopelículas han sido una tecnología utilizada desde hace varios años. En los años 60s este tipo de tecnología era muy poco comercial y estaba limitada principalmente a capas de cera en las frutas (Pavlath & Orts, 2009), no obstante un

mayor aprovechamiento de los componentes encontrados en los recursos naturales ha permitido a esta mantenerse y diversificarse en una amplia gama de productos. Más de 90 patentes y artículos científicos sobre la fabricación de envases comestibles se han publicado desde 1990 (Debeaufort *et al.*, 1998). Actualmente las biopelículas se aplican en alimentos frescos, mínimamente procesados y procesados. Estos incluyen a las frutas y vegetales; carnes, aves y pescados (congelados y ahumados); lácteos (helado y queso), granos (panificación y botanas), confitería y frutos secos (nueces). Las potencialidades de las biopelículas dependerán de acuerdo con la aplicación específica, el tipo de producto alimenticio y sus principales mecanismos de deterioro (Guilbert, 2005; Zhang, Han, & Liu, 2008). A continuación se muestra la Tabla 1, con aplicaciones de las biopelículas en alimentos.

Tabla 1. Aplicaciones de biopelículas en alimentos

Materiales para biopelículas	Alimentos	Efecto
Frutas y Vegetales		

Alginato	Seta	Mantener firmeza, retrasar oscurecimiento y apertura de capa.
Almidón de Yuca	Fresa	Retraso del deterioro.
Ésteres de sacarosa y cera	Aguacate, manzana, melones, cítricos	Proteger, aumentar el brillo y extender la vida útil.
Proteína de soya	Manzanas	Cambios retardados en firmeza, color y acidez.
Pectina	Mango	Reducción tasa del color, textura y aumento de vida útil.
Quitosano	Pimientos y pepinos	Respiración reducida, pérdida de color, marchitamiento e infección por hongos.
	Cítricos	Barrera de O ₂ / H ₂
	Brócoli	Reducción de microorganismos mesófilos y psicrófilos.
Carnes, aves, pescados		
Colágeno	Salchicha	Costo reducido y mayor uniformidad.
Gelatina + Aceite de orégano	Pez Bagre	Inhibición de <i>S. typhimurium</i> , y <i>E. coli</i> a 4°C.
Proteína de suero	Salmón	Reducir pérdida de humedad y oxidación de lípidos.
Quitosano	Carpa plateada	Buenas características fisicoquímicas, microbiológicas y mayor vida útil.
Zeína	Bola de pescado	Conservar alimento rico en lípidos.
Lacteos y Snacks		
Almidón	Nueces	Retraso en la rancidez.
Cera o ácidos grasos	Queso	Evitar el crecimiento del moho.
Pectina / Celulosa	Patatas fritas	Reducción de la absorción de grasa.

Tabla 1. Fuente (Cagri *et al.*, 2004; Dhall, 2016; Suput *et al.*, 2015; Umaraw & Verma, 2017)

2.9 Principales propiedades de las biopelículas

2.9.1. Propiedades físicas

2.9.1.1 Color

El color de las películas está directamente influenciado por el tipo y la concentración del material agregado (Atarés & Chiralt, 2016). Las características de color y la opacidad están directamente relacionadas con el aspecto visual de la película. Deben ser atractivos para los consumidores y no deben influir en el color del producto envasado como resultado del tiempo de almacenamiento. La transparencia y opacidad del polímero se debe a la morfología o la estructura química relacionada con el peso molecular del material. El color se puede definir en términos de L^* , a^* y b^* y los valores individuales representan las características del color. L^* es la luminosidad del color y concierne a la relación entre la luz reflejada y absorbida. Los valores iguales a 0 y 100 denotan los colores blanco y negro, respectivamente. Los valores de color positivos de a^* y b^* en el rango de 0 a 60 representan un grado de enrojecimiento y amarilleamiento, respectivamente (Fai *et al.*, 2016).

2.9.1.2. Espesor

La mayoría de los recubrimientos comestibles son de naturaleza hidrofílica según Park y Chinnan (1995). Se ha encontrado una relación dependiente positiva entre la permeabilidad al vapor del agua y el espesor de los recubrimientos. Se considera que a medida que el espesor aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través del recubrimiento, por lo que la presión parcial de vapor del agua de equilibrio en la superficie inferior de la cubierta se incrementa. Otros autores atribuyen el efecto del espesor a cambios en la estructura del recubrimiento ocasionados por el hinchamiento que provoca el agua en el polímero (Park & Chinnan 1995).

2.9.1.3. Solubilidad

La solubilidad es la medida o magnitud que indica la cantidad máxima de soluto que puede disolverse en una cantidad determinada de solvente, a una temperatura dada.

Esta propiedad es de gran importancia para determinar la funcionalidad de la biopelícula. La resistencia al agua de las biopelículas portadoras de antimicrobianos es deseable para mantener la integridad de la biopelícula si la misma debe utilizarse para la conservación de alimentos de humedad intermedia a alta (Ozdemir & Floros, 2007). Una biopelícula antimicrobiana con pobre resistencia al agua se disuelve rápidamente en contacto con altos contenidos de humedad, provocando que la biopelícula libere el agente antimicrobiano (Ozdemir & Floros, 2007). Sin embargo, estas coberturas podrían utilizarse en alimentos listos para consumir donde es deseable un alto porcentaje de solubilidad en la boca.

Baruk (2008) estudió la solubilidad en agua de películas elaboradas con almidón modificado de plátano y con quitosano a temperaturas de 25°C y 80°C. A 25°C se obtuvieron valores menores en comparación con los obtenidos a 80°C, evidenciando así el efecto de la temperatura en la solubilidad.

2.9.2 Propiedades mecánicas

Las películas de quitosano se caracterizan a menudo a través de ensayos texturales, de los cuales se obtienen distintas propiedades mecánicas, por ejemplo el esfuerzo tensil de la película, su deformación, el módulo elástico. El esfuerzo se calcula dividiendo la fuerza necesaria para fracturar la película por la sección transversal de la película (Phan *et al.*, 2005). El valor de deformación representa la flexibilidad de la película y se define como el porcentaje del cambio en la longitud de la muestra respecto a la longitud libre original. El valor del módulo elástico, también conocido como módulo de Young, se calcula a partir de la pendiente lineal inicial de la curva esfuerzo - deformación. Cuantos más altos son los valores del módulo de las películas, mayor carácter sólido de las mismas (Mali *et al.*, 2005).

2.10 Biopelículas en la conservación de alimentos

Hasta ahora se ha tratado a las películas comestibles como materiales inertes, sin embargo, cuando ya están protegiendo a cualquiera que sea el alimento, su degradación va a depender de muchos de los factores y condiciones de dicho alimento, por lo que también es importante tomar en cuenta las condiciones en las que se encuentra y por supuesto, las que demanda para que sea un recubrimiento óptimo que ayude a cumplir el objetivo de la película que es contener, proteger y transportar.

Por lo tanto, no es posible caracterizar un material sin tener en cuenta cuáles son sus circunstancias. Siempre se define en función del producto a acondicionar, de las tecnologías de conservación que se están utilizando, de la vida comercial deseada y de las condiciones de almacenamiento a las que serán sometidos, desde su fabricación hasta el consumo, sin que dicho material tenga alguna alteración que pueda llegar a ser perjudicial para el consumidor. La cinética de degradación de un producto alimentario depende de los distintos factores que influyen en las características del material de embalaje, como temperatura, humedad relativa, presión parcial del oxígeno, luz, etc. (Guilbert, 1995). En esta última clasificación se incluyen biopelículas de origen natural como las elaboradas con quitosano.

III. Justificación

En la actualidad con el aumento de los materiales de empaque no biodegradables y la dificultad para reciclar la mayoría de los envases sintéticos disponibles se

presenta un grave problema ambiental a nivel mundial, esto ha impulsado la investigación hacia el desarrollo de nuevos materiales biodegradables que sean adecuados para el empaque de productos alimentarios.

Las biopelículas de quitosano tienen buenas propiedades mecánicas y antimicrobianas y una permeabilidad moderada a los gases (CO₂ y O₂). Sin embargo, estas biopelículas son altamente permeables al vapor de agua, lo que limita su uso. Este es un inconveniente importante porque un control efectivo de la transferencia de humedad es una propiedad deseable para la mayoría de los alimentos, especialmente en ambientes húmedos (Elsabee & Abdou, 2013; Nieto, 2009). Una forma alternativa de mejorar las propiedades físicas y mecánicas de estas biopelículas es mediante la combinación con polisacáridos (por ejemplo, almidones, alginato, celulosa) (Vargas *et al.*, 2009). El almidón es una alternativa viable para mejorar las características de las biopelículas de quitosano debido a que es un polisacárido de reserva de la mayoría de las plantas, se encuentra ampliamente en la naturaleza y se usa comúnmente como hidrocoloide alimentario (Tzia *et al.*, 2016). Esto se debe en parte a la amplia gama de propiedades funcionales que puede proporcionar en sus formas naturales y modificadas, y en parte debido a sus bajos costos en relación con otras alternativas además de su bajo costo, su gran capacidad para formar una biopelícula inodora, incolora y transparente (Barzegar *et al.*, 2014).

Por otra parte, las partículas de almidón han recibido mucha atención debido a sus características de liberación controlada, estabilidad, biodisponibilidad y capacidad para administrar varios ingredientes activos en alimentos y dentro del cuerpo humano (Joyce *et al.*, 2013).

Con base en lo anterior en este trabajo se propone la elaboración y caracterización de biopelículas hechas a base de quitosano adicionadas con partículas de almidón de maíz.

IV. Objetivos

4.1. Objetivo General

- Elaborar y caracterizar biopelículas hechas con quitosano y adicionadas con partículas de almidón.

4.2. Objetivos Específicos

- Lograr la formación de biopelículas de quitosano adicionando diferentes concentraciones de partículas de almidón.
- Evaluar las propiedades ópticas de las biopelículas.
- Determinar el espesor y solubilidad de las biopelículas.
- Determinar las propiedades mecánicas y texturales.
- Evaluar la interacción de los biopolímeros en las biopelículas

V. Hipótesis

El quitosano puede ser utilizado como material biopolimérico para elaborar biopelículas con propiedades modificadas por las partículas de almidón de maíz, como una alternativa potencial de material de empaque en la industria alimenticia.

VI. Materiales y Métodos

6.1 Materiales

Las biopelículas fueron elaboradas con Quitosano ($\geq 75\%$ desacetilado) de la marca Sigma-Aldrich, Almidón de maíz (Sigma-Aldrich), Glicerol (J.T.Baker), Ácido acético glacial (Fermont).

6.2 Métodos

6.2.1 Obtención de las partículas de almidón

Las partículas fueron sintetizadas a partir de dispersiones de almidón de maíz gelatinizado (Vernon-Carter *et al.*, 2015). Se realizaron dispersiones de almidón de maíz al 5% (w/w) las cuales fueron sometidas a tratamiento térmico (ebullición) durante 20 min con agitación suave. Posteriormente se realizó una centrifugación a 2500 rpm durante 20 min, seguido de un proceso de decantación del sobrenadante que contiene las partículas de interés.

6.2.2 Elaboración de biopelículas

Las películas poliméricas fueron elaboradas por el método de “casting” descrito por Ren (2017) con algunas modificaciones. Se homogenizó la solución formadora de película con 98% de ácido acético al 1% y 1% de quitosano la cual se calentó a 60 °C durante 1 h 15 min con agitación constante, después se filtró dicha solución, se añadió 1% de glicerol y se agitó por 15 min. Posteriormente se vaciaron 15 mL de solución en cajas Petri donde se añadieron concentraciones de 5% y 10% de partículas de almidón, se colocaron en un horno de secado a 37°C por 24 horas.

6.2.3 Evaluación del color

Se evaluó empleando la metodología descrita por Miramont (2012) con algunas modificaciones, utilizando un colorímetro Konica Minolta (modelo Chroma Meter CR-400, Sesing, Inc., Japan), con placa de calibración número 12633047 y estándares de $L=97.3$, $a=0.17$, $b= 1.9$. Las muestras fueron colocadas sobre una base color blanca estándar, el colorímetro previamente calibrado se colocó sobre la biopelícula y se realizó un disparo registrándose los valores en escala Hunter L, a^* ,

b*, donde L con valores de 0% = negro y 100% = blanco; +a > 0 = rojo, -a < 0 = verde, +b > 0 = amarillo, -b < 0 = azul.

La diferencia de color (ΔE^*) se calculó de la siguiente manera:

$$\Delta E = (\Delta a^2 + \Delta b^2 + \Delta L^2)^{1/2}$$

Donde:

$$\Delta L = L^*_{\text{estándar}} - L^*_{\text{muestra}} \quad \Delta a = a^*_{\text{estándar}} - a^*_{\text{muestra}} \quad \Delta b = b^*_{\text{estándar}} - b^*_{\text{muestra}}$$

6.2.4 Evaluación de microscopía óptica

Las muestras fueron observadas en un microscopio óptico (Olympus. Inc., Rockville, MD, USA) con una cámara digital C3030 y analizadas con el software Pro-Plus versión 4.5

6.2.5 Determinación del espesor

Se realizaron 3 mediciones siguiendo la metodología descrita por Bourtoom (2008) con algunas modificaciones. Utilizando un micrómetro vernier digital Caliper en diferentes partes de las biopelículas de forma aleatoria.

6.2.6 Determinación de la solubilidad

Los valores de solubilidad (S) se calcularon empleando la Metodología descrita por Gontard, (1992) con algunas modificaciones. Inicialmente, se almacenaron tres rectángulos de 2x3 cm de cada película en un desecador que contenía Silica gel (~0% HR) durante 48 h. Las muestras se pesaron, con el fin de obtener el peso seco inicial (W_i), y posteriormente se sumergieron en 50 mL de agua desionizada a 25°C durante 24 h, bajo agitación esporádica. Después este periodo, la solución que contenía las muestras se filtró y la materia insoluble se secó a 105°C durante 24 h. Las muestras resultantes se pesaron para la determinación del peso seco final (W_f). Los análisis se llevaron a cabo por cuadruplicado, y la solubilidad en agua (%) de las películas se calculó de acuerdo con la Ecuación (1):

$$S = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100, \quad (1)$$

Donde W_i es el peso seco inicial de la muestra (g), y W_f es el peso seco final de la muestra (g).

6.2.7 Determinación de las propiedades mecánicas y texturales

El esfuerzo de tensión (ET) y el porcentaje de elongación (% E) de las películas fueron medidos siguiendo el método descrito por Bourtoom (2008) bajo el estándar D 882-09 (ASTM, 2009) en un texturómetro TA.XT plus. Las películas (previamente acondicionadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5% HR por 48 h), cortadas en tiras de 2x6 cm fueron sometidas a tensión con separación de 40 mm entre las mordazas.

6.2.8 Evaluación del espectro de infrarrojo con transformada de Fourier

Los espectros ATR-FTIR de las películas obtenidas se midieron empleando la metodología descrita por Silva-Pereira (2015) con algunas modificaciones utilizando un Espectrofotómetro PerkinElmer con un accesorio ATR (Nicolet, EE. UU.) Para investigar las interacciones del quitosano y las partículas de almidón en las películas. La sonda de medición tocó directamente la superficie de las películas. Se empleó una resolución espectral de 4 cm^{-1} y se adquirieron 12 scans para cada espectro en el rango de $4000\text{--}700\text{ cm}^{-1}$.

6.2.9 Evaluación de difracción de rayos X

El patrón de difracción de rayos X de cristalinidad (XRD) de las películas se midió empleando la metodología descrita por Xu (2005) con algunas modificaciones utilizando un difractómetro de rayos X Rigaku D/max-2500 (Rigaku Corporation, Tokio, Japón) con radiación de Cu-Ka ($\lambda = 1.542\text{ \AA}$) a 40 kV y 250 mA. Los patrones de difracción de rayos X se registraron a temperatura ambiente en el rango 2θ de $3\text{--}50^\circ\text{C}$, a una velocidad de $2^\circ\text{C}/\text{min}$. La cristalinidad de las películas se determinó a partir de la relación de las áreas de los picos de difracción al área de todo el patrón de difracción después de restar los patrones de fondo amorfos.

6.2.10 Análisis Estadístico

Los datos obtenidos en las determinaciones fueron sometidos a un análisis de varianza unifactorial (ANOVA) y una prueba Tukey de comparación de medias con una significancia estadística de $p \leq 0.05$ con el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI.I.

VII. Resultados y Discusión

7.1. Resultados de evaluación del color

Los atributos de color son de primordial importancia debido a que influyen directamente en el atractivo visual del producto y la aceptabilidad del consumidor (Silva *et al.*, 2015). Por tanto, para comprender mejor las propiedades ópticas de las biopelículas, se analizaron los parámetros de color L^* , a^* , b^* y se determinó la diferencia total de color (ΔE). La tabla 2 muestra los valores de estos parámetros ópticos en las biopelículas estudiadas.

Tabla 2. Propiedades ópticas de las diferentes formulaciones de biopelículas

Biopelícula	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
0 %	85.45 ± 0.58 a	1.02 ± 0.03 b	-0.15 ± 0.29 cd	19.39 ± 0.59 e
5 %	86.01 ± 0.60 a	0.96 ± 0.06 b	0.05 ± 0.25 c	19.89 ± 0.65 e
10 %	86.20 ± 0.75 a	1.08 ± 0.08 b	-0.58 ± 0.29 d	20.22 ± 0.80 e

Los valores son promedios ± SD (n =3).

Las diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$), de acuerdo con la prueba de Tukey.

Para la variable L , que es luminosidad, al llevar a cabo el análisis de varianza ANOVA, mostró que la adición de partículas de almidón no tuvo una diferencia significativa ($p < 0.05$) para las diferentes formulaciones de biopelículas, determinando que la concentración en que se adicionaron las partículas de almidón de maíz, no afectó este parámetro. Como puede observarse en la Tabla 2 las biopelículas presentaron valores de alta luminosidad (85.45 a 86.20). Estos valores son similares a los obtenidos por Silva *et al.*, 2015 quien evaluó la interacción de extracto de *Brassica oleraceae* sobre películas de quitosano con almidón de maíz. Con respecto a la coordenada cromática a^* , la adición de las partículas de almidón no tuvo diferencia significativa ($p < 0.05$), mostrando un comportamiento positivo (0.96 a 1.08), que indica una coloración con tendencia al rojo. Respecto a la coordenada b^* , los valores presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las biopelículas adicionadas con partículas de almidón lo que indica que la concentración de estas, tiene una influencia en las biopelículas hacia el color azul o amarillo. Los valores presentaron un comportamiento negativo (-0.15 a -0.58), para las biopelículas con 0% y 10 % de partículas de almidón que indica una coloración con tendencia al azul y un comportamiento positivo (0.05) para la biopelícula con

5% de partículas de almidón que indica una coloración con tendencia al amarillo; todo lo anterior con base en la ubicación en las coordenadas situadas en la esfera de color (Figura 5).

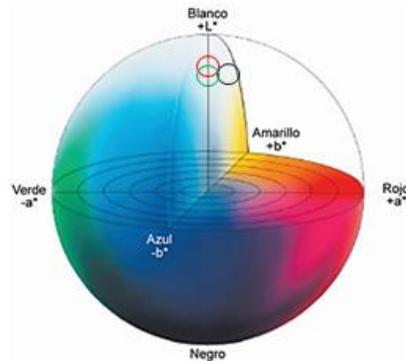


Figura 5. Esfera de color. Konica Minolta Sensing Americas, Inc. Muestra las coordenadas de las biopelículas con partículas de almidón (○) 0%, (○) 5% y (○) 10%.

La ΔE indica la diferencia de color total de la biopelícula con respecto a la placa de calibración estándar. Al realizar el análisis de varianza ANOVA, no hubo una diferencia significativa ($p < 0.05$) en las biopelículas de quitosano adicionadas con 0 % (19.39 ± 0.59), 5 % (19.89 ± 0.65) y 10 % (20.22 ± 0.80) de partículas de almidón, lo que indica que la formulación no tuvo un efecto en la ΔE entre las diferentes biopelículas. Las biopelículas obtenidas en el presente estudio presentaron un color translúcido para aquellas con 0% de partículas de almidón mientras que las biopelículas adicionadas con las partículas de almidón presentaron mayor opacidad como se muestra en la Figura 6.

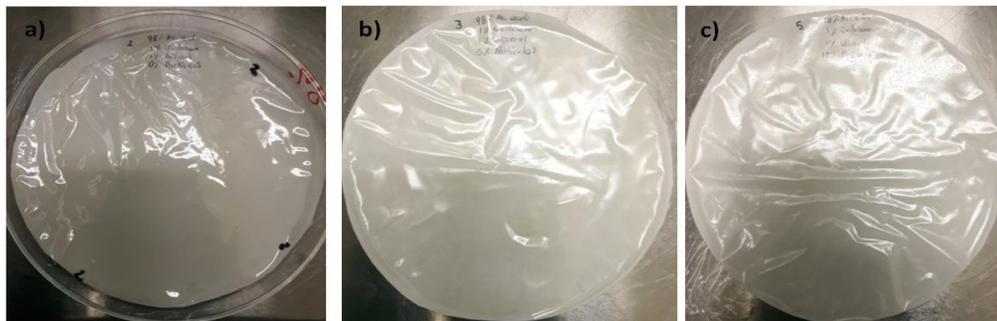


Figura 6. Biopelículas con partículas de almidón a) 0%, b) 5% y c) 10%.

7.2. Evaluación de microscopía óptica

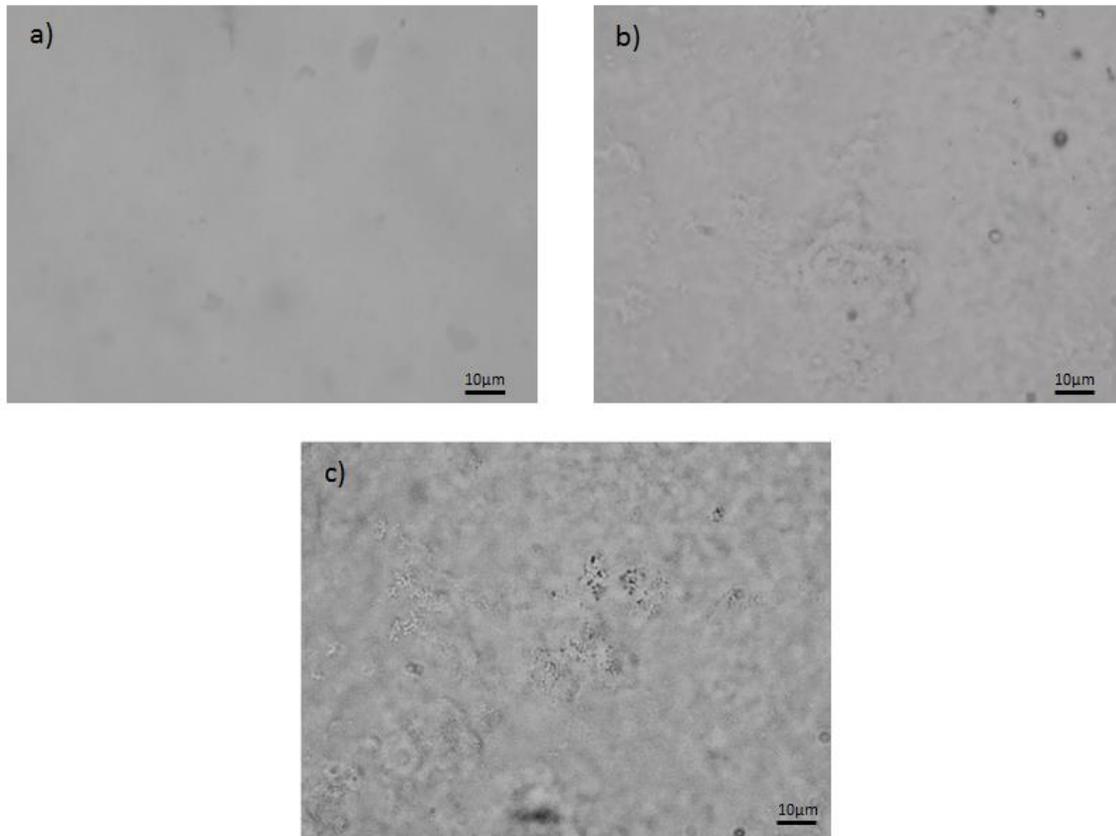


Figura 7. Microscopía óptica de biopelículas con partículas de almidón a) 0%, b) 5% y c) 10%.

La Figura 7 muestra las imágenes de las biopelículas con una magnificación de 40x. En la biopelícula con 0% de partículas de almidón se puede observar una superficie lisa y más homogénea en comparación con las biopelículas adicionadas con las partículas de almidón. En las biopelículas adicionadas con partículas de almidón se pueden observar irregularidades en la superficie de la biopelícula. Los puntos negros e irregularidades que aparecen en la superficie de la biopelícula pueden asignarse a la aglomeración de las partículas de almidón, que estas tienden a aglomerarse en la matriz polimérica (Silva *et al.*, 2013). A medida que aumenta la concentración de partículas de almidón aumentan las irregularidades de las películas. Además, no se observaron burbujas de aire y agujeros en las biopelículas. Lo anterior indica que la interacción de las moléculas de quitosano y partículas de almidón permiten la formación de una matriz polimérica continua, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Silva *et al.*, 2015 cuando se evaluó la interacción

de extracto de *Brassica oleraceae* sobre películas de quitosano con almidón de maíz.

7.3. Resultados de la determinación de espesor y solubilidad

Tabla 3. Valores promedio de las variables de espesor y solubilidad de las diferentes formulaciones de biopelículas.

Partículas de almidón	Espesor (mm)	Solubilidad (%)
0 %	0.05 ± 0.00 a	61.44 ± 1.01 b
5 %	0.05 ± 0.00 a	60.33 ± 1.70 b
10 %	0.05 ± 0.00 a	56.17 ± 0.70 c

Los valores son promedios ± SD (n =3).

Las diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa (P < 0.05), de acuerdo con la prueba de Tukey.

Las biopelículas resultantes de la solución formadora de película de quitosano con glicerol como plastificante resultaron ser lisas y delgadas, con superficies homogéneas, exhibiendo una coloración transparente (Figura 6a). Por otra parte, en las biopelículas que se adicionaron 5% y 10% de partículas de almidón se observó una coloración opaca con tono blanco (Figura 6b y 6c), así como una textura rugosa esto debido a la presencia de partículas de almidón de maíz. Las partículas de almidón de maíz fueron adicionadas 2 días después de su síntesis. De acuerdo con Vernon *et al.*, 2015 la solución de partículas de almidón obtenidas por centrifugación después de 7 días de su síntesis desarrolla una apariencia turbia lechosa, el análisis de microscopía óptica y confocal que presentaron estos autores indica que las partículas tienen una morfología cristalina en forma de aguja que se aglomeran alrededor de estructuras lamelares.

En la Tabla 3, se muestran los valores promedio de las variables de espesor y solubilidad de las biopelículas adicionadas con partículas de almidón a 0%, 5% y 10% respectivamente, al llevar a cabo un análisis de varianza ANOVA. Los resultados de ANOVA (p<0.05) indicaron que el porcentaje de partículas de almidón adicionadas en las biopelículas no tuvo un efecto significativo sobre el espesor de las mismas. Es decir que a pesar de que las partículas provocan la formación de irregularidades en las biopelículas, estas no afectan en el espesor de las mismas.

La solubilidad es una propiedad física relacionada con la capacidad de las biopelículas para disolverse en el agua, por lo que cuando se ingiere puede digerirse adecuadamente o, si se vierte al medio ambiente, se puede descomponer de forma natural (Arham *et al.*, 2016). Por lo que la solubilidad deseada de una biopelícula dependerá de su aplicación o intención de uso. En este estudio, todas las películas demostraron ser solubles, la matriz de las biopelículas es hidrofílica lo que hace que la biopelícula se disuelva fácilmente en agua, por lo que estas biopelículas no podrían aplicarse en alimentos con alto contenido de humedad. Sin embargo, la solubilidad alta y su biocompatibilidad las hacen candidatas a funcionar como recubrimientos comestibles de alimentos de baja humedad, vehículos de compuestos bioactivos, por ejemplo en recubrimientos con antioxidantes o antimicrobianos en donde es deseable que éstos difundan fácilmente del recubrimiento al alimento, películas o partículas con bioactivos en donde éstos deben liberarse una vez disuelta la partícula o película (vehículos de fármacos, probióticos, etc), entre otras aplicaciones.

En la Tabla 3, se muestran los valores promedio de la variable solubilidad de las biopelículas adicionadas con partículas de almidón a 0%, 5% y 10%. El intervalo de los valores de porcentajes de esta propiedad se encontró de 56.17 a 61.44%.

Valores de solubilidad similares (40.9-64.2) fueron reportados por Pitak y Rakshit (2011) en biopelículas compuestas a base de quitosano y almidón de plátano. Los resultados del ANOVA obtenidos, indicaron que la adición de las partículas de almidón de maíz tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en la solubilidad de las biopelículas adicionadas con 10% de partículas de almidón.

Lo anterior puede deberse a que el porcentaje de partículas de almidón añadidas contienen mayor cantidad de amilosa la cual es insoluble en el agua, como resultado, las partículas de almidón de maíz disminuyeron la solubilidad de las películas. Cabe mencionar que a pesar de que las biopelículas con 10% de partículas de almidón, presentaron menor solubilidad que las demás, su porcentaje de solubilidad 56.17% está dentro de los valores considerados de alta solubilidad (Andrade *et al.*, 2012).

7.4. Resultados de las propiedades mecánicas y texturales

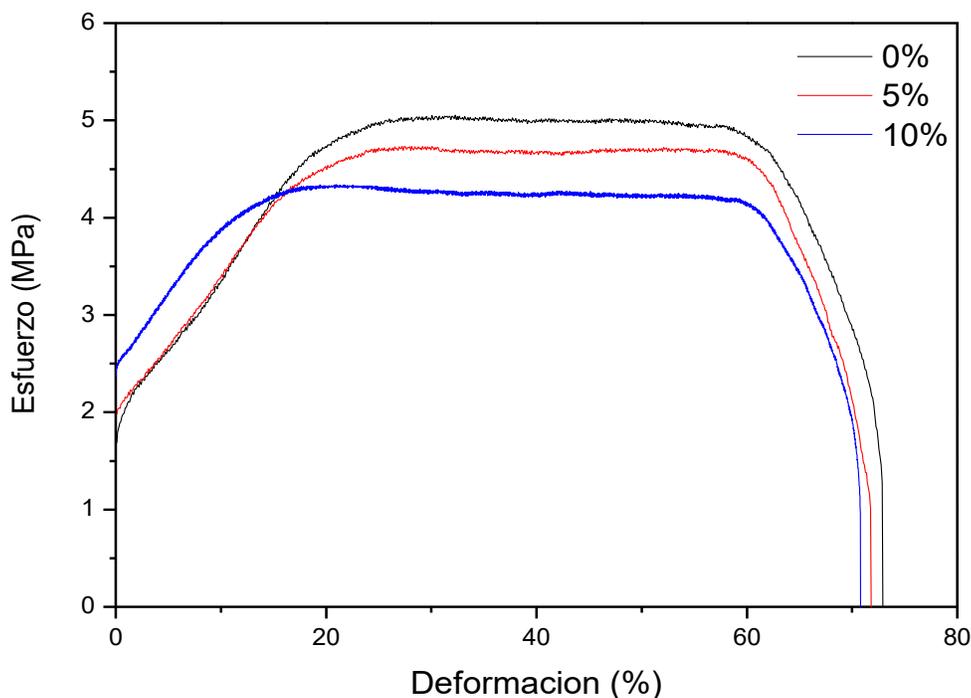


Figura 8. Gráfica de esfuerzo-deformación de las biopelículas de quitosano adicionadas con partículas de almidón.

Una película biodegradable debe resistir el estrés normal que se encuentra durante su aplicación y manipulación de los alimentos para mantener su integridad así como sus propiedades de barrera. La resistencia a la tracción es el esfuerzo de tracción máximo sostenido por la muestra durante la prueba de tensión. Si se produce una tensión de tracción máxima en el punto de fluencia o en el punto de rotura, se designa resistencia a la tracción en la fluencia o en la rotura, respectivamente (ASTM, 1991). Generalmente se requiere una alta resistencia a la tracción, pero los valores de deformación deben ajustarse de acuerdo con la aplicación prevista de las biopelículas (Gontard *et al.*, 1992).

En el estudio de textura se analizó la curva esfuerzo-deformación de las biopelículas de quitosano adicionadas con partículas de almidón. En la Figura 8 se puede

observar el comportamiento de la deformación, la adición de las partículas de almidón disminuye la resistencia a la tracción en las biopelículas desde 5 MPa hasta 4.3 MPa, esto debido a formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares entre el quitosano y las partículas de almidón (Mathew *et al.* 2006). Esto concuerda con los resultados obtenidos por Mathew *et al.* (2006), los valores de resistencia a la tracción de las películas de almidón de papa-quitosano disminuyeron desde 37.5 MPa hasta 23 MPa, debido a la formación de enlaces de hidrógeno entre el quitosano y el almidón. Todas las biopelículas mostraron un esfuerzo de fractura a partir del 60% de deformación de las mismas.

7.5. Resultados del espectro de infrarrojo con transformada de Fourier

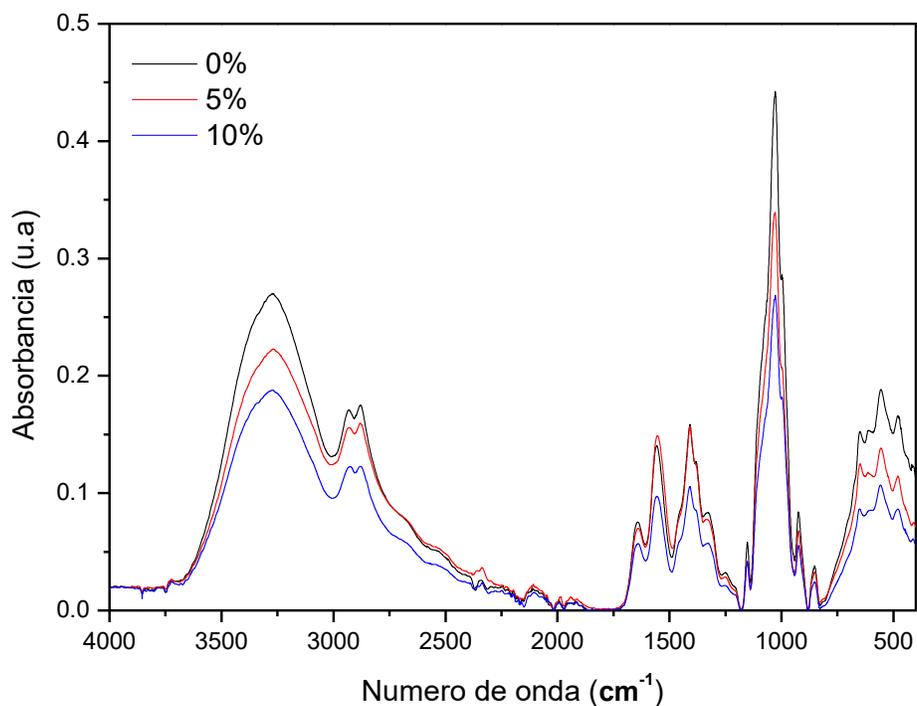


Figura 9. Espectros FT-IR de las biopelículas de quitosano adicionadas con partículas de almidón.

La espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier es una herramienta de mucha utilidad para detectar la interacción en mezclas poliméricas, por lo que en

este trabajo, empleamos FT-IR para examinar las posibles interacciones entre los componentes de la biopelícula, así como el tipo de interacciones (Silva *et al.*, 2013). La Figura 9 muestra los espectros FT-IR obtenidos de muestras de biopelículas adicionadas con partículas de almidón a 0%, 5% y 10%. Los espectros de las biopelículas son similares, muestran una banda de tensión típica de una amida I (C=O) a 1637 cm^{-1} , mientras que a 1559 cm^{-1} hay una banda de flexión de una amida II (C-N), estas bandas de absorción corresponden a la matriz polimérica en las biopelículas, que son características de la solución de quitosano (Silva-Pereira *et al.*, 2015). Es posible observar para todas las biopelículas el pico de la región $3500\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ que corresponde al enlace OH- del agua presente en las biopelículas, dicho pico disminuye su absorbancia con el aumento de la concentración de las partículas de almidón, esto puede deberse a que las partículas de almidón interactúan con el agua disminuyendo los enlaces de hidrógeno. En el pico de la región $2980\text{--}2860\text{ cm}^{-1}$ se encontró el estiramiento C-H y las características de los picos de polisacáridos en la región alrededor de 1000 cm^{-1} .

7.6. Resultados de difracción de rayos X

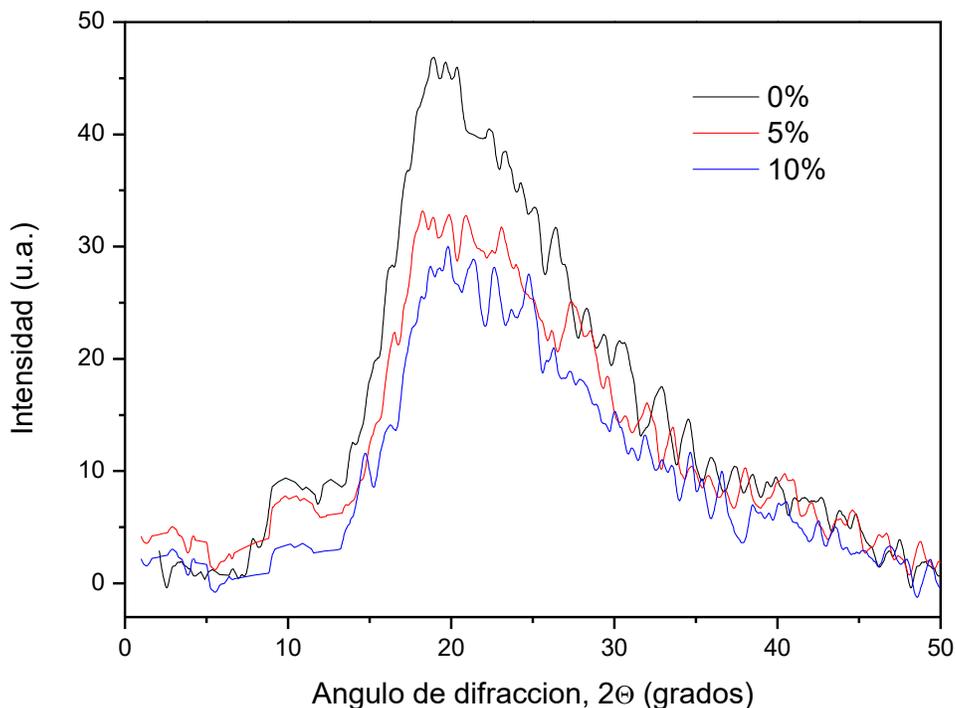


Figura 10. Patrones de difracción de rayos X de las biopelículas de quitosano adicionadas con de partículas de almidón.

Las estructuras atómicas ordenadas, están presentes en una gran variedad de materiales y éstas pueden apreciarse mediante patrones de difracción que se presentan mediante la interacción de ciertas longitudes de onda, como los rayos X. Cuando una muestra es difractada, un difractor de rayos X transforma esa señal en intensidades que van en función del ángulo Bragg “ 2θ ” (Lavorgna *et al.*, 2010). Los patrones de difracción de rayos X de las biopelículas de quitosano adicionadas con 0 %, 5 % y 10 % de partículas de almidón se muestran en la Fig. 10. Los picos característicos de la biopelícula de quitosano adicionadas con 0 % de partículas de almidón se muestran alrededor de $2\theta = 9^\circ$, 11° , 18° y 22° , estos ángulos coinciden con lo reportado por Giannaakas *et al.*, 2014 y Lavorgna *et al.*, 2010. Los picos con una intensidad alta indican una estructura de cristalito hidratado debido a la integración de moléculas de agua en la red cristalina. El pico a 18° se atribuye a la red cristalina regular de quitosano (Kittur *et al.*, 2003), lo anterior parece indicar que la adición de las partículas de almidón disminuye la intensidad de dicho pico de

absorción debido a la interacción de las partículas con la matriz polimérica de quitosano, esta tendencia se aprecia con el aumento de concentración de partículas de almidón. Estudios previos realizados por Xu *et al.* 2005 y Liu *et al.* 2013 demostraron que el enlace de hidrógeno intermolecular entre quitosano y el almidón limita los movimientos del segmento de la cadena molecular y restringe el proceso de cristalización en la matriz polimérica. En el resto de los picos se aprecia un comportamiento similar.

VIII. Conclusiones

La adición de partículas de almidón de maíz en las biopelículas provoca diferencias significativas en la coordenada b^* teniendo una influencia hacia el color azul o amarillo de las biopelículas.

Las películas obtenidas fueron translúcidas y maleables, esto es un aspecto benéfico para su aplicación en alimentos, porque pueden ser utilizadas en alimentos como frutas o vegetales, en los que mostrar la “frescura de su apariencia”, el color o brillo, es importante para conocer las condiciones de consumo en que se encuentra el producto.

La adición de partículas de almidón de maíz provocó irregularidades en las biopelículas debido a la aglomeración de las mismas. Al aumentar la concentración de partículas aumentaron las irregularidades, sin embargo, esto no tuvo un efecto significativo en el espesor de las biopelícula, estas fueron delgadas y homogéneas de 0.05 mm de espesor.

La adición de partículas de almidón de maíz tuvo un efecto significativo en la solubilidad de las biopelículas, los valores obtenidos fueron mayores al 56%. Esto indica relativa facilidad de degradación de las biopelículas y posibles aplicaciones en alimentos de baja humedad y en vehículos de compuestos bioactivos.

Las propiedades físicas y mecánicas de las biopelículas obtenidas fueron aceptables comparadas con las reportadas en estudios donde usaron quitosano y almidón de maíz.

La adición de partículas de almidón disminuye la resistencia a la tracción de las biopelículas. Es decir, la adición de las partículas de almidón hace que las biopelículas se estiren menos y se rompan con menor fuerza aplicada.

IX. Perspectivas

Es conveniente realizar el análisis de permeabilidad al vapor de agua para observar el grado de permeabilidad en las biopelículas frente al vapor de agua y otro tipo de gases.

Realizar un estudio de biodegradabilidad de las biopelículas para conocer su tiempo de degradación.

Probar la adición de partículas de almidón waxy sobre las biopelículas de quitosano, ya que presenta características que podrían tener un efecto positivo.

X. Referencias

Andrade-Mahecha, M. M., Tapia-Blácido, D. R., & Menegalli, F. C. (2012). *Development and optimization of biodegradable films based on achira flour*. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 449–458.

Angellier, H., Molina-Boisseau, S. M., Dole, P., & Dufresne, A. (2006). *Thermoplastic starch-waxy maize starch nanocrystals nanocomposites*. *Biomacromolecules*, 7, 531–539.

Arham, R., Mulyati, M. T., Metusalach, M., & Salengke, S. (2016). *Physical and mechanical properties of agar based edible film with glycerol plasticizer*. *International Food Research Journal*, 23(4).

Arvanitoyannis, I., Nakayama, A., & Aiba, S-i. (1998). *Edible films made from hydroxypropyl, starch and gelatin and plasticized by polyols and water*. *Carbohydrate Polymers*, 36, 105-119.

ASTM. (2000). *Standard test method of water vapor transmission of materials (E96-00)*. In *Annual book of ASTM standards*. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

Atarés, L., Chiralt, A. (2016). *Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging*. *Trends Food Sci. Technol.* 48, 51–62.

Badui, D. S. (2012). *Química de los Alimentos*. 5^o edición. Pearson, pp. 78-80.

Baruk, P. (2008). *Caracterización estructural de películas elaboradas con almidón modificado de plátano y con quitosano*. Tesis para obtener el grado de Doctorado en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos.

Barzegar, H., Azizi, M.H., Barzegar, M., Hamidi-Esfahani, Z. (2014). *Effect of potassium sorbate on antimicrobial and physical properties of starch-clay nanocomposite films*. Carbohydr. Polym. 110, 26–31.

Barzegar, H., Azizi, M.H., Barzegar, M., Hamidi-Esfahani, Z. (2014). *Effect of potassium sorbate on antimicrobial and physical properties of starch-clay nanocomposite films*. Carbohydr. Polym. 110, 26–31.

Biquet, B.; Labuza, T.P. (1988). *Evaluation of the moisture permeability characteristics of chocolate films as an edible moisture barrier*. J. Food Sci., 53(4):989-998.

Bourtoom, T. (2008). *Edible films and coatings: characteristics and properties*. International Food Research Journal, 15(3), 237–248.

Burdock, G. A. (2010). *Fenaroli's handbook of flavor ingredients*. Taylor and Francis Group.

Cagri, A., Ustunol, Z., & Ryser, E. T. (2004). *Antimicrobial edible films and coatings*. Journal of food protection, 67(4), 833–848.

Callegarin, F., & Quezada-Gallo, J. A. (1997). *Lipid and biopackaging*, JAOCS, 74, 1183– 1192.

Cano, A., Jiménez, A., Cháfer, M., González, C., Chiralt, A. (2014). *Effect of amylose:amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties*. Carbohydr. Polym. 111, 543–555.

Cazacu, G., Popa, V. (2005). *Polysaccharide: Structural Diversity and functional versatility*. Chapter 48: Blends and Composites Based on Cellulose Materials. Copyright by Marcel Dekker.

Cheftel, J.C. (1986). *Nutritional effects of extrusion-cooking*. Food Chemistry, 20(4), 263-283.

Davis, G., & Song, J. H. (2006). *Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management*. Industrial Crops and Products, 23(2), 147-161.

Debeaufort F., Quezada-Gallo, J. A., Voilley A. (1998). *Edible films and coatings: tomorrow's packaging: a review*. Crit. Rev. Food Sci., 38(4), 299–313.

Debeaufort, F., & Voilley, A. (2009). *Lipid-Based Edible Films and Coatings*. Edible Films and Coatings for Food Applications (pp. 135–168). Springer, New York, NY.

Del Nobile, M. A., Fava P, Piergiovanni L (2002). *Water transport properties of cellophane flexible films intended for food packaging applications*. J. Food Engng, 53, 295–300.

Dhall, R. K. (2016). *Application of Edible Films and Coatings on Fruits and Vegetables*. Edible Films and Coatings (Vols. 1–0, pp. 361–390). CRC Press.

Dhawan, S.; Dhawan, K.; Varma, M.; Sinha, V. R. (2005). *Applications of poly(ethylene oxide) in drug delivery systems*. Part II. Pharmaceutical technology, 29(9), 82–96.

Elsabee, M.Z., Abdou, E.S. (2013). *Chitosan based edible films and coatings: a review*. Mater. Sci.Eng. 33, 1819–1841.

Espitia, P.J.P., Du, W., Avena-Bustillos, R., de, J., Soares, N., de, F.F., et al., (2014). *Edible films from pectin: physical-mechanical and antimicrobial properties: a review*. Food Hydrocoll. 35, 287–296.

Fai, A.E.C., Souza, M.R.A., Barros, S.T., Vinhosa Bruno, N.V., Ferreira, M.S.L., Édira, E.C.B.A.G. (2016). *Development and evaluation of biodegradable films and coatings obtained from fruit and vegetable residues applied to fresh-cut carrot (Daucus carota L.)*. Postharv. Biol. Technol. 112, 194–294.

Fakhouri, F. M., Martelli, S. M., Caon, T., Velasco, J. I., & Mei, L. H. I. (2015). *Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes*. Postharvest Biology and Technology, 109, 57–64.

Fanelli, B. (2009). *Almidón*. Universidad Nacional de Quilmes. Área química de los alimentos.

Gauna, M., y Nuñez, N. (2004). *Efecto del ultrasonido en la desacetilación de quitina de conchas de camarón*. Trabajo especial de grado para optar al título de ingeniero químico. Universidad del Zulia. p.55

Gennadios, A., Weller C L, Gooding C H (1994). *Measurement errors in water vapor permeability of highly permeable, hydrophilic edible films*. J. Food Engng, 21, 395–409.

Giannakas, K. Grigoriadi, A. Leontiou, N.M. Barkoula, A. Ladavos. (2014). *Preparation, characterization, mechanical and barrier properties investigation of chitosan-clay nanocomposites*. Carbohydr. Polym. 108 103–111.

Gontard, N., Guilbert, S., & Cuq, J.-L. (1992). *Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology*. Journal of Food Science, 57(1), 190-195.

Greener-Donhowe, I., & Fennema, O. (1994). *Edible films and coatings: characteristics, formation definitions and testing methods*. Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. CRC Press.

Guilbert, S. (1986). *Technology and application of edible protective films*. In Mathlouthi, M. (Ed.), *Food packaging and preservation*, p. 371–394. London, UK: Elsevier Applied Science.

Guilbert, S., Gontard, N., & Cuq, B. (1995). *Technology and applications of edible protective films*. *Packaging Technology and Science*, 8(6), 339–346.

Han, J. H., Gennadios. (2005). *Edible films and coatings: a review*. In: Han J H (Ed.), *Innovations in Food Packaging*. Oxford, UK: Elsevier Academic Press, pp. 239– 262.

Hwang, K. T., Kim, J. T., Jung, S. T., Cho, G. S., & Park, H. J. (2003). *Properties of chitosan based biopolymer films with various degrees of deacetylation and molecular weights*. *Journal of Applied Polymer Science*, 89, 3476–3484.

Joye, I.J., McClements, J.D. (2013). *Production of nanoparticles by antisolvent precipitation for use in food systems*. *Trends in Food Science and Technology* 34, 109-123.

Kapetanakou, A., Manios, S., & Skandamis, P. (2014). *Application of Edible Films and Coatings on Food*. I. Boziaris (Ed.), *Novel Food Preservation and Microbial Assessment Techniques* (pp. 237–273). CRC Press.

Kester, J. J., & Fennema, O. R. (1986). *Edible films and coatings: a review*. *Food Technology (USA)*.

Kittur, F.S., Kumar, A.B.V., Tharanathan, R.N. (2003). *Low molecular weight chitosans preparation by depolymerization with Aspergillus niger pectinase and characterization*. *Carbohydr. Res.* 338; 1283–1290.

Kondo, T.; Sawatari, C. (1994). *Inter molecular hydrogen bonding in cellulose/polyethylene oxide blends: thermodynamic examination using 2, 3-di-o- and 6-o-methyl celluloses model compounds*. Polymer, 35 (20), 4423-4428.

Krochta, J. M. (2002). *Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status and opportunity*. Protein-Based Films and Coatings (p. 22). CRC Press.

Kurek, M., Guinault, A., Voilley, A., Galic', K., Debeaufort, F., (2014). *Effect of relative humidity on carvacrol release and permeation properties of chitosan-based films and coatings*. Food Chem. 144, 9–17.

Landmann, W.; Lovegren, N.V.; Feuge, R.O. (1960). *Permeability of some fat products to moisture*. J. Am. Oil Chem. Soc., 37:1-4.

Lárez Cristóbal. (2003). *Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos*. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 4(2), 91-109.

Lárez, C. (2006). *Quitina y quitosano: Materiales del pasado para el presente y el futuro*. Avances de Química 1:15-21.

Lavorgna, M., Piscitelli, F., Mangiacapra, P., Buonocore, G.G. (2010). *Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties of chitosan films*. Carbohydr. Polym. 82 291–298.

Liu, H.H., Adhikari, R., Guo, Q.P., Adhikari, B. (2013). *Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch-chitosan films*, J. Food Eng. 116, 588–597.

Mali, S., Grossmann, M. V. E., Garcia, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. (2005). *Mechanical and thermal properties of yam starch films*. Food Hydrocoll., 19, 157–164.

Mali, S., Grossmann, M.V.E., Yamashita, F. (2010). *Starch films: production, properties and potential use*. Review article. Semin. Ciênc. Agrár. 1, 137–156.

Mármol Pérez, Zulay. *Alternativas tecnológicas para el Aprovechamiento de las conchas de Camarón*. Trabajo de Ascenso para optar a la categoría de Titular. Universidad del Zulia. Facultad de Ingeniería. Escuela de química. (2003) 56p.

Marsh, K., & Bugusu, B. (2007). *Food Packaging-Roles, Materials, and Environmental Issues*. Journal of Food Science, 72(3), 39-55.

Mathew, S., Brahmakumar, M., & Abraham, T. E. (2006). *Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal, and swelling properties of starch-chitosan blend films*. Biopolymers, 82(2), 176-187.

McHugh, T. H.; Krochta, J.M. (1994). *Sorbitol-vs glycerol-plasticized whey protein edible films: integrated oxygen permeability and tensile property evaluation*. J. Agr. Food Chem., 42(4): 841-845.

Miller, K. S., Krochta, J. M. (1997). *Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review*. Trends Food Sci. Technol., 8, 228–237.

Milovanović, M., & Pićurić-Jovanović, K. (2001). *Lipids and biopackaging: Usage of lipids in edible films*. Journal of Agricultural Sciences, 46(1), 79–87.

Moraes, J.O., Scheibe, A.S., Sereno, A., Laurindo, J.B. (2013). *Scale-up of the production of cassava-starch-based films using tape-casting*. J. Food Eng. 119, 800–808.

Morris, V. J. (2007). *Understanding and controlling the microstructure of complex foods*. Chapter 1: Polysaccharides: their role in food microstructure. Woodhead Publishing Limited.

Nascimento, T., Calado, V., Carvalho, C.W.P. (2012). *Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles*. Food Res. Int. 49, 588–595.

Nieto, M. B. (2009). *Structure and Function of Polysaccharide Gum-Based Edible Films and Coatings*. Edible Films and Coatings for Food Applications (pp. 57–112). Springer, New York, NY.

Noguchi, H. (1981). *Hydratation around hydrophobic groups*. Water activity: influences on food quality. Ed. L.B. Rockland; G.F. Stewart, Academic Press, Inc. New York U.S.A., pp. 281-293.

Norma ASTM (2009). *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting* (D 882-09). Philadelphia (EE.UU.): American Society for Testing and Materials.

Nur Hanani, Z.A., Beatty, E., Roos, Y.H., Morris, M.A., Kerry, J.P. (2012). *Manufacture and characterization of gelatin films derived from beef, pork and fish sources using twin screw extrusion*. J. Food Eng. 113, 606–614.

Ozdemir, M., Floros, J. D. (2007). *Optimization of edible whey protein films containing preservatives for water vapor permeability, water solubility and sensory characteristics*. Journal of Food Engineering 86; 215–224.

Park H.J., Chinnan M. S. (1995). *Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic materials*. J Food Eng. 25:497-507.

Park, S. Y, Marsh, K. S., & Rhim, J. W. (2002). *Characteristics of different molecular weight chitosan film affected by the type of organic solvents*. Journal of Food Science, 67, 194–197.

Pascatt, B. (1985). *Study of some factors affecting permeability*. Polymer permeability. Ed. J. Comyn, Elsevier Applied Science Publishers, New York, U.S.A., pp. 7-24.

Pavlath, A. E., & Orts, W. (2009). *Edible Films and Coatings: Why, What, and How?*. Edible Films and Coatings for Food Applications, 1–23.

Pereda, M., Ponce, A.G., Marcovich, N.E., Ruseckaite, R.A., Martucci, J.F., 2011. *Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity*. Food Hydrocoll. 25, 1372–1381.

Phan, T. D., Debeaufort, F., Luu, D., Voilley, A. (2005). *Functional properties of edible agar-based and starch-based films for food quality preservation*. J. Agric. Food Chem., 53, 973–981.

Pillai, C. K. S., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). *Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation*. Progress in Polymer Science, 34, 641–678.

Pitak, N., & Rakshit, S. K. (2011). *Physical and antimicrobial properties of banana flour/chitosan biodegradable and self-sealing films used for preserving Fresh-cut vegetables*. LWT - Food Science and Technology, 44(10), 2310–2315.

Piyada, K., Waranyou, S., & Thawien, W. (2013). *Mechanical, thermal and structural properties of rice starch films reinforced with rice starch nanocrystals*. International Food Research Journal, 20, 439–449.

Ramírez, L., Plascencia, M., Huerta, S., Vázquez, H., Shirai, K. (2002). *Obtención y caracterización de quitinas parcialmente desacetiladas mediante tratamiento*

biológico-químico. VIII Simposio Latinoamericano de polímeros, II Simposio Iberoamericano de Quitina. México. Libro de resúmenes. 593-594.

Ren, L., Yan, X., Zhou, J., Tong, J., & Su, X. (2017). *Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films*. International Journal of Biological Macromolecules, 105, 1636–1643.

Rhim, J.-W., & Ng, P. K. W. (2007). *Natural Biopolymer-Based Nanocomposite Films for Packaging Applications*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47(4), 411–433.

Richard, M.E., Twiname, Eric. R. (2000). *Tape casting: theory and practice*. American Ceramics Society, USA, p. 293.

Rinaudo, M. (2006). *Chitin and chitosan: Properties and applications*. Progress in Polymer Science, 31, 603–632.

Robertson G.L (2008). *State of the art biobased food packaging materials*. E. Chiellini (Ed.), environmentally compatible food packaging (p. 3-28). Woodhead Publishing Limited.

Savadekar, N. R. & Mhaske, S. T. (2012). *Synthesis of nano cellulose fibers and effect on thermoplastics starch based films*. Carbohydrate Polymers, 89, 146–151.

Scheibe, A.S., De Moraes, J.O., Laurindo, J.B. (2014). *Production and characterization of bags from biocomposite films of starch-vegetal fibers prepared by tape casting*. J. Food Process Eng. 37, 482–492.

Sill T.J., Von Recum H.A. (2008). *Electrospinning: Applications in Drug Delivery and Tissue Engineering*. Biomaterials, 29.

Silva-Pereira, M. C., Teixeira, J. A., Pereira-Júnior, V. A., & Stefani, R. (2015). *Chitosan/corn starch blend films with extract from Brassica oleraceae (red cabbage) as a visual indicator of fish deterioration*. LWT - Food Science and Technology, 61(1), 258–262.

Silva-Weiss, A., Bifani, V., Ihl, M., Sobral, P. J., & Gómez-Guillén, M. C. (2013). *Structural properties of films and rheology of film-forming solutions based*. Food Hydrocolloids, 458-466.

Skurtys, O., Acevedo, C., Pedreschi, F., Enronoe, J., Osorio, F., & Aguilera, J. M. (2014). *Food hydrocolloid edible films and coatings*. Nova Science Publishers, Incorporated.

Sothornvit, R., Krochta, J.M. (2000). *Plasticizer effect on oxygen permeability of β -lactoglobulin films*. J. Agric. Food Chem. 48: (2000) 6298-6302.

Sothornvit, R. & Krochta, J. M. (2001). *Plasticizer effect on mechanical properties of β -lactoglobulin films*. Journal of Food Engineering, 50, 149-155.

Sothornvit, R., Krochta, J.M. (2005). *Plasticizers in edible films and coatings*. Innovations in Food Packaging. Ed. J.H. Han, Elsevier Publishers, New York, U.S.A., pp.403-433.

Sothornvit, R., Reid, D.S., Krochta, J.M. (2002). *Plasticizer effect on the glass transition temperature of beta-lactoglobulin (β -Lg) films*. Trans. Am. Soc. Agr. Eng., 45(5), 1479-1484.

Susarla, R., Sievens-Figueroa, L., Bhakay, A., Shen, Y., Jerez-Rozo, J.I., Engen, W., Michniak-Kohn, B. (2013). *Fast drying of biocompatible polymer films loaded with poorly water-soluble drug nano-particles via low temperature forced convection*. Int. J. Pharma. 455, 93–103

Talja, R.A., Peura, M., Serimaa, R., Jouppila, K. (2008). *Effect of amylose content on physical and mechanical properties of potato-starch-based edible films*. *Biomacromolecules* 9, 658–663.

Tetlow, I. J., M. K. Morell, and M. J. Emes. (2004). *Recent developments in understanding the regulation of starch metabolism in higher plants*. *J. Exp. Bot.* 55: 2131-2145.

Tharanathan, R. (2003). *Biodegradable films and composite coatings: past, present and future*. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71–78.

Tuncer, C.; Serkan, D.; Mehmet, S.E.; Olgun, G. (2005). *Poly(ethylene oxide) and its blends with sodium alginate*. *Polymer*, 46 (24), 10750-10757.

Tzia, C., Tasios, L., Spiliotaki, T., Chranioti, C., Giannou, V. (2016). *Edible coating and films to preserve quality of fresh fruits and vegetables*. In: Varzakas, T., Tzia, C. (Eds.), *Handbook of Food Processing: Food Preservation*. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 719.

Vargas, M., Albors, A., Chiral, A., González-Martínez. (2009). *Characterization of chitosan–oleic acid composite films*. *Food Hydrocoll.* 23, 536–547.

Vernon-Carter, E. J., Hernandez-Jaimes, C. & Alvarez-Ramirez, J. (2015). *Physico-chemical characterization and in vitro digestibility of gelatinized corn starch dispersion fractions obtained by centrifugation*. *Starch/Stärke*, 67, 701–708.

Wittaya, T. (2009). *Microcomposites of rice starch film reinforced with microcrystalline cellulose from palm pressed fiber*. *International Food Research Journal*, 16, 493–500.

Xu, Y.M., Kim, K.M., Hanna, M.A., Nag, D. (2005). *Chitosan-starch composite film: preparation and characterization*. Ind. Crops Prod. 21, 185–192.

X.Y. Xu, K.M. Kim, M.A. Hanna, D. Nag. (2005). *Chitosan-starch composite film: preparation and characterization*. Ind. Crops Prod. 21; 185–192.

XI.

Zhang, Y., Han, J. H. (2006). *Mechanical and Thermal Characteristics of Pea Starch Films Plasticized with Monosaccharides and Polyols*. Journal of Food Science, 71(2), 109–118.

Zink, J., Wyrobnik, T., Prinz, T., Schmid, M. (2016). *Physical, chemical and biochemical modifications of protein-based films and coatings: an extensive review*. Int. J. Mol. Sci. 17, 1376–145.