



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE BIOPELÍCULAS A BASE DE QUITOSANO-
ALMIDÓN DE MAÍZ Y QUITOSANO-ALGINATO DE SODIO COMO POSIBLES
SUSTITUTOS DE RECUBRIMIENTOS ALIMENTICIOS”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

P R E S E N T A

Fernando Primo Salazar

ASESORA: Dra. Ma. Del Carmen Hernández Jaimes

COASESOR: Dr. Delfino Reyes Contreras

Toluca de Lerdo, mayo 2024

Índice

<i>I.</i>	Resumen	4
<i>II.</i>	Introducción	6
<i>III.</i>	Marco teórico	7
	3.1 Empaques alimenticios	7
	3.1.1 Materiales de películas y recubrimientos	8
	3.1.1.1 Proteínas	8
	3.1.1.2 Lípidos	9
	3.1.1.3 Polisacáridos	10
	3.1.1.3.1 Quitosano	10
	3.1.1.3.2 Almidón	12
	3.1.1.3.3 Alginato	13
	3.1.2 Plastificantes	14
	3.1.2.1 Glicerol	15
	3.1.2.2 Sorbitol	15
	3.1.3 Agentes acoplantes	16
	3.1.4 Agente desestructurante	16
	3.1.5 Biopelículas	17
	3.1.6 Tipos de biopelículas (Bioactivas)	17
	3.1.6.1 Biopelículas o recubrimientos inteligentes	17
	3.1.6.2 Recubrimientos y biopelículas con propiedades antimicrobianas	18
	3.2 Métodos de producción de biopelículas y revestimientos	19
	3.2.1 Casting	21
	3.2.2 Extrusión	21
	3.2.3 Inmersión	21
	3.2.4 Spray	22
	3.3 Propiedades de las biopelículas y recubrimientos comestibles como materiales de empaque	22
	3.3.1 Propiedades de barrera	23
	3.3.2 Permeabilidad al vapor de agua	23
	3.3.3 Permeabilidad a los gases	24
	3.3.4 Propiedades ópticas	24
	3.3.5 Propiedades mecánicas	25
	3.4 Aplicaciones de las biopelículas en la industria alimentaria	25

<i>IV.</i>	Justificación	28
<i>V.</i>	Objetivos	29
	5.1 General	29
	5.1.1 Particulares	29
<i>VI.</i>	Hipótesis	29
<i>VII.</i>	Materiales y métodos	29
	7.1 Materiales	29
	7.2 Síntesis de biopelículas a base de quitosano-almidón de maíz y quitosano- alginato de sodio	29
	7.3 Caracterización de biopelículas de quitosano-almidón y quitosano-alginato	30
	7.3.1 Evaluación de la solubilidad	30
	7.3.2 Evaluación del espesor	30
	7.3.3 Colorimetría de la biopelícula	30
	7.3.4 Determinación de la Opacidad	31
	7.3.5 Microscopía óptica	31
	7.3.6 Determinación por microscopía electrónica de barrido (SEM)	32
	7.3.7 Evaluación del espectro infrarrojo con transformada de Fourier	32
	7.3.8 Caracterización de propiedades mecánicas y texturales	32
	7.3.9 Evaluación de la funcionalidad y eficiencia de la biopelícula	32
	7.3.10 Análisis Estadístico	32
<i>VIII.</i>	Resultados y discusión	33
	8.1 Solubilidad de las biopelículas	33
	8.2 Espesor de las biopelículas	35
	8.3 Colorimetría de las biopelículas	36
	8.4 Opacidad de las biopelículas	38
	8.5 Microscopía óptica de las biopelículas	39
	8.6 Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las biopelículas	41
	8.7 Espectro de infrarrojo con transformada de Fourier de las biopelículas	42
	8.8 Propiedades mecánicas y texturales de las biopelículas	43
	8.9 Funcionalidad y eficiencia de las biopelículas en un producto alimenticio	45
<i>IX.</i>	Conclusiones	47
<i>X.</i>	Perspectivas	48
<i>XI.</i>	Referencias	48

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: PROCESO DE DESACETILACIÓN DE LA QUITINA	11
FIGURA 2: ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA AMILOSA Y AMILOPECTINA.....	12
FIGURA 3: ESTRUCTURA QUÍMICA DEL ALGINATO.....	14
FIGURA 4: MÉTODOS DE PRODUCCIÓN DE PELÍCULAS Y RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	20
FIGURA 5: INVESTIGACIONES RELACIONADAS A PELÍCULAS Y RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES.....	27
FIGURA 6: FOTOGRAFÍA DONDE SE OBSERVAN LAS MUESTRAS: A) CONTROL DE QUITOSANO, B)1% ALMIDÓN, C)2% ALMIDÓN, D)1% ALGINATO, E)2% ALGINATO Y F) MUESTRA COMERCIAL.....	38
FIGURA 7: MICROGRAFÍAS DE LAS BIOPELÍCULAS VISTAS A 40X: A) COMERCIAL, B) QUITOSANO, C) 1% ALMIDÓN, D) 2% ALMIDÓN, E)1% ALGINATO Y F) 2% ALGINATO.	39
FIGURA 8: MICROGRAFÍAS DE LAS BIOPELÍCULAS VISUALIZADAS A 1000X: A) COMERCIAL, B) QUITOSANO, C) 1% ALMIDÓN, D) 2% ALMIDÓN, E) 1% ALGINATO, F) 2% ALGINATO	41
FIGURA 9: ESPECTRO FTIR DE LAS BIOPELÍCULAS	42
FIGURA 10: GRAFICO DEL MÓDULO DE ELASTICIDAD DE LAS BIOPELÍCULAS	44
FIGURA 11: EVALUACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD DE LAS BIOPELÍCULAS COMO RECUBRIMIENTOS EN PAPAYA	46

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: DATOS DE SOLUBILIDADES PRESENTADOS EN PORCENTAJES	33
TABLA 2: DATOS DEL ESPESOR DE LAS BIOPELÍCULAS (EN MILÍMETROS)	35
TABLA 3: PROPIEDADES ÓPTICAS DE LAS BIOPELÍCULAS	37
TABLA 4: VALORES DE OPACIDAD DE LAS BIOPELÍCULAS EN ($A_{BS\ 290}$) MM^{-1}	38
TABLA 5: VALORES DE OPACIDAD DE LAS BIOPELÍCULAS EN ($A_{BS\ 290}$) MM^{-1}	38
TABLA 6: VALORES DE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS DE LAS BIOPELÍCULAS	44
TABLA 7: PESO Y PORCENTAJE DE PÉRDIDA DE MASA	46

I. Resumen

En los últimos años, el consumo de materiales de embalaje derivados del petróleo ha aumentado de manera alarmante y, dentro de la producción de estos envases, la industria alimentaria ha sido la de mayor crecimiento, siendo uno de los principales contribuyentes a la problemática ambiental y de salud que se vive actualmente. Con el objetivo de mitigar este problema, empresas e investigadores han estado desarrollando nuevas estrategias de embalaje con características confiables, basadas en materiales más amigables con el ambiente, elaborados a partir de moléculas y polímeros de origen natural como el almidón, quitosano, celulosa, algunas proteínas y alginatos, los cuales ha demostrado ser atractivas debido a sus propiedades sustentables, de baja toxicidad, alta biodegradabilidad y biocompatibilidad. Es por ello, que en el presente trabajo se tiene como objetivo sintetizar y caracterizar biopelículas a base de quitosano-almidón de maíz y quitosano-alginato de sodio como posibles sustitutos de recubrimientos alimenticios.

Por el método de “casting” (usando ácido acético como disolvente), se sintetizaron biopelículas a base de quitosano, quitosano adicionado con 1 y 2% de almidón de maíz, y quitosano con 1 y 2% de alginato de sodio; además, se usó glicerol como plastificante. Las biopelículas fueron caracterizadas y comparadas con una película comercial de grado alimenticio de la marca Aurrera®. Todas las biopelículas presentaron una solubilidad mayor al 50%, mientras que la muestra comercial arrojó una solubilidad menor al 10%, lo cual es favorable para cierto tipo de aplicaciones. El espesor de la muestra comercial fue menor al de las biopelículas, las cuales tuvieron un espesor de entre 0.07 y 0.14 mm, siendo las adicionadas con alginato al 2% las de mayor espesor; en contraste, la adición de almidón no afectó el espesor de las biopelículas con matriz de quitosano.

La colorimetría de las biopelículas adicionadas con almidón y alginato presentó una tendencia hacia los colores rojo y azul del espectro (respectivamente). También presentaron valores de apariencia opaca, en contraste con la muestra comercial que obtuvo un valor de 0.1 (valor de alta luminosidad) de opacidad. Las biopelículas fueron

maleables, lo cual es un aspecto benéfico para su aplicación en alimentos con altas tasas de degradación a estrés oxidativo.

Por otro lado, la muestra comercial y las biopelículas adicionadas con almidón al 1 y 2 % tuvieron módulos de Young de 0.1, 0.5 y 0.6 MPa respectivamente, lo que refleja su flexibilidad; las adicionadas con alginato fueron rígidas (9 MPa). Se observó que en pequeñas concentraciones hubo buena compatibilidad entre los componentes (quitosano-almidón y quitosano-alginato). A grandes concentraciones la adición de alginato disminuye la resistencia a la tracción, lo cual no sucede con el almidón.

Finalmente, se recubrieron muestras de papaya cortada, con la película comercial, biopelículas de quitosano y con las adicionadas al 1 y 2% de almidón, debido a que mostraron las mejores propiedades. El alimento recubierto con la muestra comercial obtuvo un 7% de pérdida de masa, en cambio las muestras recubiertas con las biopelículas obtuvieron una pérdida de masa de más del 50%, lo cual podría explicarse debido a la baja capacidad de conservación de las biopelículas en frutas con alta tasa de humedad. Sin embargo, para aplicaciones específicas las biopelículas adicionadas con almidón e incluso las adicionadas con alginato en bajas concentraciones serían buenas candidatas debido a su biocompatibilidad y demás propiedades reportadas en el presente estudio.

II. Introducción

En la actualidad, el consumo de plásticos obtenidos de fuentes fósiles está ocasionando graves problemas ambientales, a saber, el sector de empaques alimenticios es responsable del uso de estos compuestos en un 50% de sus productos comerciales (Rozo *et al.*, 2016). El plástico puede descomponerse en micro y/o nanoplasticos, lo que complica su detección y cuantificación (Hernández *et al.*, 2019). Los microplásticos, en especial, son un contaminante de preocupación ambiental debido a que se ha reportado su presencia en alimentos destinados al consumo humano y en muestras de aire. Por lo tanto, podría ocurrir una exposición a los microplásticos a través de la dieta o la inhalación (Wright *et al.*, 2017). En todos los sistemas biológicos, la exposición a microplásticos puede causar toxicidad de partículas, con estrés oxidativo, lesiones inflamatorias y aumento de la absorción o translocación (Leslie *et al.*, 2020).

Actualmente se están tomando acciones para frenar la proliferación de la contaminación plástica mediante la eliminación gradual de su uso en bienes de consumo, como pajitas para beber, exfoliantes faciales, y pasta de dientes. Sin embargo, es necesario redoblar esfuerzos para contrarrestar la contaminación por el uso de los plásticos (Hernández *et al.*, 2019). Debido a lo anterior, existe un creciente interés en el desarrollo de empaques elaborados con biopolímeros comestibles obtenidos de fuentes renovables que sean completamente biodegradables por su potencial para reducir y/o reemplazar a los plásticos convencionales (Kandasamy *et al.*, 2021).

Se ha estudiado una gran variedad de materiales de origen natural para la elaboración de recubrimientos biodegradables y sus aplicaciones en alimentos. Para ello, se han sugerido diversas biomoléculas como el almidón, celulosa, quitosano, polisacáridos, alginatos y proteínas (Alves *et al.*, 2007); dichos biopolímeros son renovables, biodegradables y no tóxicos, tienen una buena habilidad para la formación de biopelículas y también pueden servir como matriz inmovilizadora de extractos naturales de diferentes fuentes vegetales que les confieren las propiedades de empaques inteligentes (Dong *et al.*, 2020). 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 tiene 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). Por lo antes mencionado, en el presente trabajo se propone la elaboración de biopelículas a base de quitosano-almidón de maíz y quitosano-alginato de sodio como posibles sustitutos de empaques alimenticios.

III. Marco teórico

3.1 Empaques alimenticios

Los empaques alimenticios son esenciales para la preservación y/o protección de todo tipo de productos, siendo los alimentos y las materias primas el campo de mayor atención dada la contaminación generada por microorganismos (bacterias, esporas, hongos, etc.) durante la manipulación. Existen diversos tipos de empaques utilizados en la industria alimentaria, tales como empaques de papel, empaques de plástico, empaques de vidrio, entre otros. Los empaques de papel son biodegradables y reciclables, lo que los hace ideales para productos secos y con una vida útil corta. Por otro lado, los empaques de plástico generalmente se elaboran a partir de polímeros sintéticos y son ampliamente utilizados debido a su bajo costo y facilidad de producción (Song *et al.*, 2017; Villada *et al.*, 2007).

En la actualidad, debido al crecimiento de la producción sustentable se busca que los materiales con los que se fabrican los envases tengan el menor impacto posible sobre el medio ambiente. Como respuesta a esta necesidad surgieron los materiales biodegradables, una alternativa válida a la utilización de los plásticos tradicionales que se obtienen a partir del petróleo (un recurso natural no renovable), y que requieren de un tiempo de 200 años aproximadamente para ser asimilados nuevamente por la naturaleza. La utilización de películas biodegradables y/o comestibles para cubrir productos alimenticios, no es un tratamiento innovador ya que se realiza desde hace años con el objetivo de aumentar el tiempo de almacenamiento y mejorar el aspecto de muchos alimentos. Como ejemplo se puede mencionar el empleo de cera para retrasar la deshidratación de los cítricos que se realiza en China desde los siglos XII y XIII. Los recubrimientos alimenticios son una estrategia cada vez más utilizada en la industria alimentaria para mejorar la calidad y prolongar la vida útil de los alimentos.

Actualmente el uso de películas comestibles se ha extendido a muchos alimentos, tal es el caso de productos cárnicos, pescados y carne aviar tanto frescos como congelados, frutas y hortalizas enteras o en trozos, quesos, platos preparados entre otros (Parzanese, 2006). En conclusión, la elección del tipo de recubrimiento adecuado dependerá de las características del alimento y del objetivo de su aplicación.

3.1.1 Materiales de películas y recubrimientos

3.1.1.1 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas formadas por cadenas de aminoácidos y están presentes en todos los organismos vivos (Berger *et al.*, 2016). En el ámbito de los recubrimientos alimenticios, las proteínas han sido utilizadas debido a sus propiedades funcionales y capacidad para formar películas delgadas y flexibles que se adhieren a la superficie de los alimentos. Estos recubrimientos proteicos ofrecen ventajas como la mejora de la calidad y vida útil de los productos alimenticios, así como la protección contra factores externos como la humedad y la oxidación (Gómez *et al.*, 2011).

Según Parzanese (2011) algunos ejemplos de proteínas comúnmente usados son:

- **Caseína:** los caseinatos son buenos formadores de películas emulsionadas por su naturaleza anfífilica, su estructura desordenada y su capacidad para formar puentes de hidrógeno. Las películas de caseinato presentan características favorables para uso en alimentos como transparencia y flexibilidad. Se desarrollaron cubiertas protectoras para brownies, cubos de chocolate y donuts a partir de caseinato de sodio, aceite de algodón, soja o maíz y un plastificante.
- **Proteínas del suero lácteo:** Las películas basadas en proteínas del suero son excelentes barreras al O₂, aunque resultan ser muy frágiles. Como solución a este inconveniente se detectó que sus propiedades mecánicas mejoran considerablemente mediante la adición de un agente plastificante, como el glicerol. Para la fabricación de las películas y los recubrimientos se parte de un concentrado de proteínas al que se aplica calor para su desnaturalización. Tras su refrigeración se elimina el gas atrapado y se forma el material de envase. Dentro de las primeras aplicaciones consideradas en fase de experimentación se puede nombrar su uso

como cobertura en productos sensibles al oxígeno, como nueces y maníes, para evitar su oxidación y prolongar su vida útil. También se investiga la formación de recubrimientos comestibles anti-moho para quesos, envases destinados a la leche en polvo y otros productos deshidratados, como barrera frente a la humedad y alternativas al colágeno de las coberturas empleadas en derivados cárnicos.

- Colágeno: es el mayor constituyente de la piel, tendones y tejidos conectivos, y se encuentra extensamente distribuido en las proteínas fibrosas de los animales. Las películas comestibles obtenidas a partir de este se aplican desde hace tiempo en productos y derivados cárnicos, principalmente como recubrimiento de salchichas y otros embutidos. Los beneficios que presenta este tipo de recubrimiento son evitar la pérdida de humedad y dar un aspecto uniforme al producto mejorando sus propiedades estructurales.

- Zeína: es una prolamina y la principal proteína de reserva del maíz. Se caracteriza por ser un material relativamente hidrofóbico y termoplástico por lo cual forman películas fuertes, con brillo, resistentes al ataque microbiano, insolubles en agua; con propiedades antioxidantes y capacidad de adhesión.

3.1.1.2 Lípidos

Los lípidos son biomoléculas orgánicas fundamentales, se caracterizan por ser hidrofóbicos y no poliméricos, comprenden un grupo diverso de compuestos insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos como éter, cloroformo y alcohol. Presentan excelentes propiedades de barrera frente a la humedad, sin embargo, su falta de cohesividad e integridad estructural hace que presenten malas propiedades mecánicas formando recubrimientos quebradizos; reducen la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y pueden mejorar el brillo y la apariencia de muchos de los alimentos (Fernández *et al.*, 2015).

En la industria alimentaria, los lípidos han sido ampliamente utilizados en diversos aspectos como la formulación de recubrimientos alimentarios. Estos recubrimientos proporcionan una capa protectora sobre los alimentos, mejorando su apariencia, textura, sabor y vida útil. Los lípidos se utilizan en forma de ceras, aceites y grasas, y su

elección depende de las características específicas requeridas para cada aplicación (Ting *et al.*, 2019). Dentro del grupo de lípidos aplicados a recubrimientos y películas comestibles se pueden mencionar las ceras (abejas, candelilla y carnauba), resinas, monoglicéridos, diglicéridos y los ácidos grasos tales como el ácido esteárico, palmítico, láurico y oleico (Fernández *et al.*, 2015).

3.1.1.3 Polisacáridos

Los polisacáridos son conocidos por su estructura compleja y diversidad funcional. Varios de ellos y sus derivados incluyen; almidón, agar de celulosa, alginato, carragenano, pectina, gelano, pululano y gomas (goma arábica, goma guar, goma xantana, etc.), que generalmente se incorporan para mejorar las propiedades mecánicas y de barrera de las películas y recubrimientos (Kandasamy *et al.*, 2021). Por otro lado, los polisacáridos como la celulosa amilosa y el quitosano les proporcionan a algunas películas dureza, flexibilidad y transparencia por lo que, las películas se vuelven resistentes a las grasas y aceites, el entrecruzamiento, por ejemplo, del quitosano con aldehídos hace la película más dura, insoluble en agua y le proporciona una alta resistencia (Villada *et al.*, 2007). Así mismo, de la interacción electrostática entre las proteínas y los polisacáridos, como alginato y carboximetilcelulosa mejora la cohesión entre el polipéptido proteico mediante el entrecruzamiento de las proteínas (Henriques *et al.*, 2016).

3.1.1.3.1 Quitosano

El quitosano es un producto desacetilado que se obtiene de la quitina, la quitina es el biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa, esta se encuentra comúnmente en las especies marinas como el camarón, cangrejos, calamares y langostas. La quitina es una molécula altamente hidrofóbica e insoluble en agua y solventes orgánicos. Sin embargo, el quitosano se produce en laboratorios, siendo considerado como el derivado N-desacetilado y no tóxico de la quitina (Matos, 2020). El quitosano está formado por unidades repetidas de D-glucosamina y unidades de N-acetil-D-glucosamina, unidas por enlaces glucosídicos β -1,4 (Younes y Rinaudo 2015) como se observa en la figura 1.

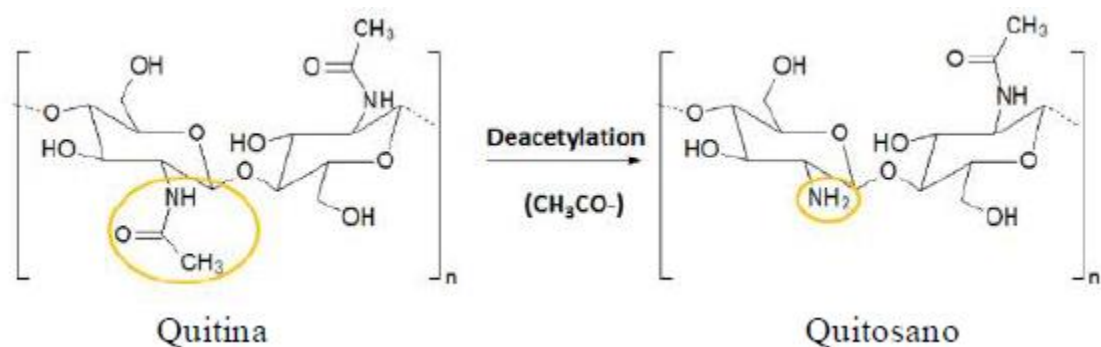


Figura 1: Proceso de desacetilación de la quitina Fuente: Matos, 2020

El quitosano solo es soluble en soluciones ácidas, es un material que tiene buena afinidad con el agua debido a los grupos polares en su molécula, como los grupos hidróxido (OH) y amina (NH₂) (Pavinatto *et al.*, 2019). Aunque el quitosano puro tiene baja solubilidad en medios acuosos, como se mencionó anteriormente, en medios ácidos acuosos los grupos aminos se convierten en cationes (positivo) de amonio, permitiéndole actuar con diversos tipos de moléculas, aumentando la hidrofilia y mejorando su solubilidad en agua, esto último sucede cuando el grado de desacetilación (DDA) del quitosano alcanza 50% o más (Salama *et al.*, 2020).

Debido a esta afinidad, cuando se suspende una película de quitosano en agua se alcanza el hinchamiento máximo (mediante la absorción del líquido), que a su vez se vuelve gelatinosa (Pavinatto *et al.*, 2019). El hinchamiento es un limitante en el desarrollo de empaques a base de quitosano, principalmente ocurre por alimentos que presentan un alto contenido de humedad o alta actividad de agua, lo cual impacta en la firmeza de la película. Es por ello, que su aplicación es limitada para el recubrimiento de alimentos; como por ejemplo, cuando se emplea para el empaque de frutas y vegetales, el quitosano debe modificarse a nivel químico a fin de reducir su solubilidad y lograr su adherencia a la superficie (Pavinatto *et al.*, 2019). La alta capacidad de hinchamiento, la baja solubilidad en agua y las propiedades mecánicas pueden ser contrarrestadas mediante el uso de compuestos químicos como lo son glicerol, antocianinas, óxido de zinc (ZnO), hidróxido de sodio (NaOH), aceites esenciales y propóleo (Matos, 2020).

El desarrollo de una película de quitosano tiene diferentes ventajas como la no toxicidad, que es biodegradable, biocompatible y, dado que este material consta con una

permeabilidad selectiva a los gases y cuenta con excelentes propiedades mecánicas, ayuda a la preservación de la calidad de los alimentos extendiendo su vida de anaquel debido a las propiedades antimicrobianas intrínsecas del biopolímero (Sun *et al.* 2017). Por lo tanto, el quitosano es una excelente opción para la creación de un bioplástico, biopelículas o recubrimiento de alimentos que tengan una descomposición corta en el tiempo (Bernabé *et al.* 2020).

3.1.1.3.2 Almidón

El almidón es otra materia prima en abundancia, es el 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). Tiene una estructura granular y está compuesto por dos macromoléculas poliméricas: 1) Amilosa: formada por unidades de cadena lineal de 1,4- α -D-glucopiranososa, y 2) amilopectina, que es una molécula ramificada formada por unidades de α -1,6-glucósido (Figura 2).

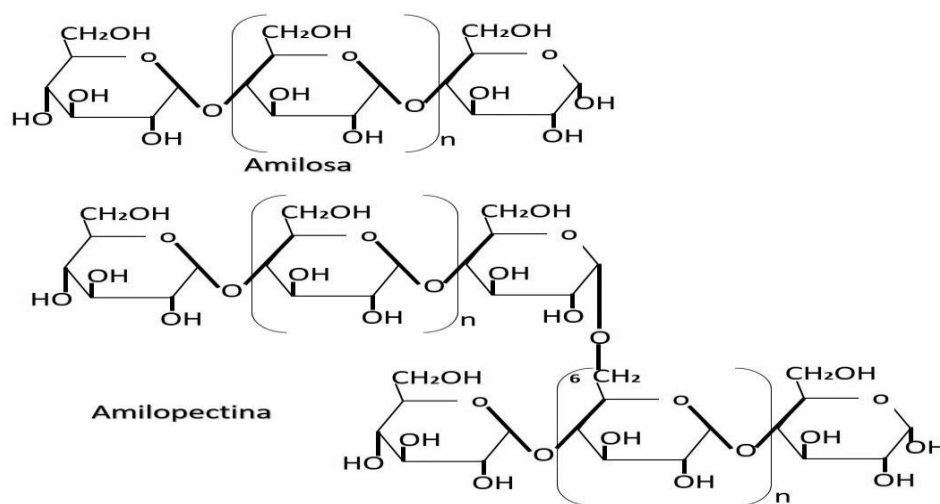


Figura 2: Estructura química de la amilosa y amilopectina Fuente: Solano-Doblado *et al.*, 2018

Aunque, existen almidones de diferentes fuentes como trigo, maíz, arroz, papa, yuca, etc. En general, se han utilizado como recubrimientos de la misma manera, obteniendo, películas con buenas propiedades de flexibilidad y permeabilidad al vapor de agua, tiene propiedades termoplásticas cuando se realiza la disrupción estructural a nivel molecular (Solano *et al.*, 2018). Cuando se adiciona un plastificante, es posible obtener películas con buenas propiedades mecánicas, especialmente las elaboradas con almidones de alta amilosa, debido a que presenta excelentes propiedades para formar

películas fuertes, isotrópicas, inodoras, insípidas y sin color. Sin embargo, la estructura ramificada de la amilopectina generalmente le da a la película pobres propiedades mecánicas, por otro lado, la presencia de amilosa en almidones de maíz da una estructura fuerte y más flexible (Fernández et al., 2015; Villada et al., 2007).

De acuerdo con Enríquez y colaboradores (2012), los almidones se diferencian entre sí por su contenido de amilosa y amilopectina dependiendo de la fuente de la cual son extraídos, reportó que cuanto mayor sea el contenido de amilopectina, mayor será la cristalinidad de las películas de almidón, específicamente el almidón que proviene del maíz consta de aproximadamente un 25% de amilosa y 75% de amilopectina.

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 (Cano *et al.*, 2014). Sin embargo, no se han desarrollado aplicaciones mucho más amplias de productos a base de almidón en recubrimientos debido a sus propiedades débiles de barrera frente 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 (Escobar, 2020).

3.1.1.3.3 Alginato

El alginato es un compuesto formador de película atractivo debido a su no toxicidad, biodegradabilidad, biocompatibilidad y bajo precio (Tavassoli *et al.*, 2016). Los alginatos son la principal macromolécula extraída de las algas pardas (*Phaeophyceae*, principalmente *Laminaria*), éstos son obtenidos de las sales sódicas, cálcicas y potásicas del ácido alginico. Presenta uniones con ácido poliurónico conteniendo bloques de ácido poli- β -Dmanopiranosilurónico y/o bloques de ácido poli- α -L-gulosa piranosilurónico (Figura 3), (Fernández *et al.*, 2015).

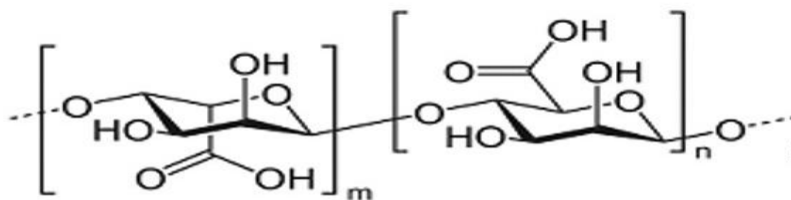


Figura 3: Estructura química del alginato Fuente: Solano-Doblado *et al.*, 2018

Las películas elaboradas con estos compuestos resultan quebradizas con poca resistencia al agua, sin embargo, tienen la capacidad de reaccionar de manera irreversible con cationes metálicos polivalentes como los iones de calcio para producir polímeros insolubles en agua (Solano-Doblado *et al.*, 2018).

Las películas de alginato son impermeables a los aceites y grasas, pero son malas barreras contra la humedad. A pesar de esto, los recubrimientos de gel de alginato pueden reducir significativamente la pérdida de humedad de los alimentos. Debido a que la humedad se pierde del recubrimiento antes de que el alimento se hidrate significativamente. Sus propiedades funcionales, espesantes, estabilizadoras, suspensoras, formadoras de película, productoras de gel y estabilizadoras de emulsiones, han sido bien estudiadas principalmente en recubrimientos de alginato en fruta cortada como manzanas, papaya; duraznos, mango, piña, fresas, sandía, melón, ciruelas, tomates y cerezas, ajo, pimientos y carnes, entre otros. Debido a que los recubrimientos de alginato presentan buenas propiedades de barrera contra el oxígeno, pueden retardar la oxidación de lípidos en los alimentos y mejorar el sabor, la textura y la adhesión (Rozo *et al.*, 2016; Tzia *et al.*, 2016).

3.1.2 Plastificantes

El plastificante es una sustancia normalmente líquida y de viscosidad mayor a la del agua que se adiciona a la mezcla con el fin de mejorar la flexibilidad y la funcionalidad de las películas y recubrimientos, mediante la reducción de las fuerzas intermoleculares. El efecto plastificante puede ser dado por sustancias como: alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, aminas, ésteres, amidas y mezclas entre estos, pero se prefiere utilizar plastificantes cuya presión de vapor sea baja para evitar que éste se volatilice al finalizar el proceso de extrusión o de calentamiento (Enríquez *et al.*,

2012). Dentro de los agentes plastificantes más frecuentemente utilizados se encuentran: el glicerol y el sorbitol, que ayudan a mejorar las propiedades mecánicas, así como la permeabilidad al vapor de agua, propiedades térmicas y algunas veces el color. El uso de altas concentraciones de ambos plastificantes incrementa el porcentaje de elongación. Se ha observado que, una mayor cantidad de glicerol permite mejor flexibilidad, sin embargo, la permeabilidad al vapor de agua disminuye (Rezaei y Motamedzadegan, 2015). Así mismo, la adición de plastificantes disminuye la temperatura de fusión y la temperatura de transición vítrea, cambiando su comportamiento reológico debido a que logra movilizar moléculas, dando plasticidad al material. Los plastificantes solubles en agua como el glicerol son efectivos agentes suavizantes para los almidones, mejorando la flexibilidad de las películas resultantes. Cuanto más se incluye una sustancia plastificante en una matriz polimérica, la elongación y la deformación se incrementan mientras que el esfuerzo de ruptura disminuye (Enríquez *et al.*, 2012).

3.1.2.1 Glicerol

El glicerol es el más simple de los alcoholes y es también se conoce comercialmente como glicerina, 1,2,3-propanotriol, trihidroxipropano, alcohol glicídico. Su fórmula química es $C_3H_8O_3$ y su peso molecular es 92.09 g/mol (Badui, 2012). El glicerol es un líquido aceitoso; viscoso, inodoro, incoloro y tiene un sabor dulce almibarado. La glicerina es miscible en muchas sustancias, entre ellos están el alcohol (metilo, etilo, isopropilo); etilenglicol, fenol, entre otros (Quispe *et al.*, 2013). El glicerol en los recubrimientos hace que disminuyan la permeabilidad al vapor debido a su naturaleza apolar y ayudan a retardar el envejecimiento del material (Alves *et al.*, 2007).

3.1.2.2 Sorbitol

El sorbitol es un alcohol azucarado de sabor dulce que el cuerpo humano metaboliza lentamente, se puede obtener reduciendo la glucosa, lo que convierte el grupo aldehído convertido ($-CHO$) en el grupo de alcohol primario ($-CH_2OH$). Comercialmente, el sorbitol se vende en forma de una solución al 70%, un jarabe transparente incoloro o amarillo pálido con un sabor dulce y refrescante. También se fabrica comercialmente a partir de jarabe de maíz para su uso en alimentos, bebidas y medicamentos envasados

(Sraavan & Spandana, 2021). Según Matos-Gonzales (2020), el sorbitol mejora algunas propiedades fisicoquímicas de las películas de quitosano como, por ejemplo: da estabilidad térmica, proporciona una estructura más ordenada a la matriz, finalmente disminuye la resistencia a la tracción y aumenta el alargamiento a la ruptura. Este fenómeno ocurre debido a que el sorbitol, interfiere con las cadenas de quitosano, es decir, rompe los enlaces de hidrógeno entre las moléculas de quitosano, lo que facilita la movilidad entre diferentes moléculas mejorando la flexibilidad.

3.1.3 Agentes acoplantes

También llamados mediadores de fase o compatibilizadores. Los agentes acoplantes de uso más común son principalmente grupos epóxicos y grupos de ácidos anhídridos, también se ha reportado el uso de sustancias anfifílicas como mediadores de fase tal como algunas proteínas y ácidos grasos como zeína y ácido linoléico. El agente acoplante tiene como función servir como mediador de fases, estos pueden usarse en rangos que varían desde el 5 hasta el 50 % de la composición de la mezcla, debe ser biodegradable y soportar el proceso de fabricación de la película (Enríquez y Velasco, 2012; Yoksan y Yokesahachart, 2011).

3.1.4 Agente desestructurante

Los agentes desestructurantes se agregan exclusivamente a las películas o recubrimientos de almidón con el fin de desarreglar su estructura, mejorar su procesabilidad y su unión con otros polímeros. De hecho, la composición de este polímero solamente puede ser extruida o procesada a bajas temperaturas y bajas presiones. Por esta razón se utiliza un agente desestructurante, pues esta sustancia interrumpe los puentes de hidrógeno formados por la amilosa y la amilopectina, permitiendo que el porcentaje de agua empleado para procesar el material sea menor, así como la energía necesaria para el proceso. La urea es el agente desestructurante más común, su presencia en la matriz amilácea permite que la estructura cristalina del almidón sea destruida con ayuda de pequeñas cantidades de agua. Pueden mencionarse también los hidróxidos alcalinos y alcalinotérreos y algunos ácidos grasos, es preferible que su adición sea entre el 2 a 7 % del peso del total de la composición de la mezcla (Enríquez y Velasco, 2012).

3.1.5 Biopelículas

Un recubrimiento comestible es una capa delgada de cualquier material con un espesor inferior a 0,3 mm, que se forma a partir de una combinación de biopolímeros y diferentes aditivos dispersos en medio acuoso, que se forma como un recubrimiento sobre un producto alimenticio, mientras que una película comestible es una capa (multicapa) delgada preformada, hecha de material comestible, que puede colocarse sobre o entre los componentes de los alimentos. Algunos autores consideran que existe una distinción debido a las técnicas de incorporación al producto alimenticio; la principal diferencia entre estos sistemas alimentarios es que el recubrimiento comestible se aplica en forma líquida sobre el alimento, generalmente sumergiendo el producto en la solución de material comestible, y la película comestible primero se moldea como láminas sólidas y luego se aplica como un envoltorio para productos alimenticios. A pesar de ello, en ambos casos se forman matrices rígidas de características similares (Díaz y Castro, 2021; Espitia *et al.*, 2014; Tavassoli *et al.*, 2016).

El concepto de emplear películas y recubrimientos comestibles para alimentos se remonta a la década de 1950, su creciente aplicación se atribuye a la reducción de la pérdida de humedad, reacciones químicas adversas, como el deterioro y contaminación microbiana. Aunado a ello, pueden utilizarse para la liberación controlada de aditivos alimentarios, además, los recubrimientos comestibles también son efectivos como tratamiento post cosecha para preservar la calidad de la fruta (Tavassoli *et al.*, 2016). Por ello, las películas comestibles preparadas con polímeros naturales han recibido una atención considerable en los últimos años debido a sus excelentes propiedades como materiales de empaque, ecológicos, biodegradables y respetuosas con el medio ambiente (Chang *et al.*, 2019).

3.1.6 Tipos de biopelículas (Bioactivas)

3.1.6.1 Biopelículas o recubrimientos inteligentes

Según Díaz y Castro (2021), un componente bioactivo es cualquier constituyente contenido en pequeñas cantidades en los alimentos que puede presentar efectos sobre la salud después de su consumo. Los estudios epidemiológicos han analizado diferentes

moléculas bioactivas, por ejemplo, flavonoides y fitoestrógenos, que de hecho han sido reconocidas por sus efectos antioxidantes, anti mutagénicos, antiinflamatorios, anticancerígenos, apoptóticos y anti colesterol. Los componentes bioactivos pueden mostrar simultáneamente varias propiedades, lo que puede producir un efecto sinérgico. Así, diversas investigaciones se han centrado específicamente en incorporar una amplia variedad de estos compuestos bioactivos en películas comestibles que arrojen datos directos al consumidor sobre la vida útil del producto en tiempo real (Tahir-HE, *et al.*, 2019).

Se les denominan recubrimientos o películas (bioactivas) inteligentes, cuando se incorpora algún sistema que monitorea y comunica información útil de las propiedades y/o estado del alimento. Éstas se pueden encontrar adheridas al alimento como etiquetas con biosensores o bien como parte del empaque, capaces de cambiar las condiciones del alimento, extender la vida de anaquel, mejorar la seguridad microbiológica o las propiedades sensoriales, además de monitorear y ofrecer información acerca de la calidad durante el transporte, el almacenamiento, venta y consumo, éstas también pueden integrar ingredientes con actividad funcional como antioxidantes, vitaminas, prebióticos y probióticos (Puligundla *et al.*, 2012; Rodríguez *et al.*, 2014; Solano *et al.*, 2018).

3.1.6.2 Recubrimientos y biopelículas con propiedades antimicrobianas

Son aquellas biopelículas capaces de controlar y liberar agentes antimicrobianos. Esta protección es debida a la neutralización de reacciones o a la interacción de sistemas complejos en los alimentos, los cuales son incorporados para extender la vida de anaquel, prevenir el crecimiento, la diseminación fúngica y bacteriana y de esta manera, lograr minimizar el uso de aditivos. Las películas y recubrimientos comestibles que integran agentes antimicrobianos tienen como objetivo extender la fase Lag, suprimiendo el ritmo de crecimiento de los microorganismos (Ávila *et al.*, 2012).

Los mecanismos por los que son incorporados estos agentes siguen distintas vías, como la incorporación de agentes antimicrobianos volátiles y no volátiles directamente

dentro de polímeros o bien, como capas de adsorbentes antimicrobianos dentro de las superficies de polímeros e inmovilizadores antimicrobianos, unidos por enlaces iónicos o covalentes (Ortega *et al.*, 2016; Solano *et al.*, 2018). Por la forma en que se llevan a cabo los mecanismos antimicrobianos, estos se dividen en dos grupos: el primero ocurre con la migración de compuestos activos, que pasan parcial o totalmente al alimento o a la superficie y el segundo mediante mecanismos no migratorios, que contienen compuestos con actividad antimicrobiana en la superficie de la película (Vázquez y Guerrero, 2013). Las sustancias que son utilizadas como agentes antimicrobianos en las películas o recubrimientos, incluyen las sales de sorbato de potasio, ácidos orgánicos como el ácido cinámico, aceites esenciales como el de la canela, extractos de plantas, como el de orégano y tomillo, enzimas como la lisozima, bacteriocinas como la nisina y pediocina y antibióticos como la natamicina, o bien cationes metálicos, como la plata, que tiene una gran capacidad antimicrobiana tanto en bacterias Gram (+), como en Gram (-), presenta baja volatilidad y toxicidad en células eucariotas, por lo que son utilizadas para el desarrollo de superficies antimicrobianas, en contenedores asépticos y empaques activos (Díaz, 2015; Solano *et al.*, 2018).

3.2 Métodos de producción de biopelículas y revestimientos

Actualmente existen diferentes técnicas de producción de películas o revestimientos alimenticios principalmente se diferencian por el modo en que son aplicados, aunque normalmente, se pueden describir en tres pasos principales, que incluyen la estabilización del polímero en su estado nativo, el arreglo de las cadenas poliméricas y la formación de una red tridimensional, por nuevas interacciones y enlaces. Estos métodos se pueden clasificar en procesos secos o húmedos, siendo el primero representado por la técnica de colado del solvente y el último por moldeo por compresión o extrusión (figura 4) (Calva *et al.*, 2019; Murrieta *et al.*, 2018; Parzanese, 2006).

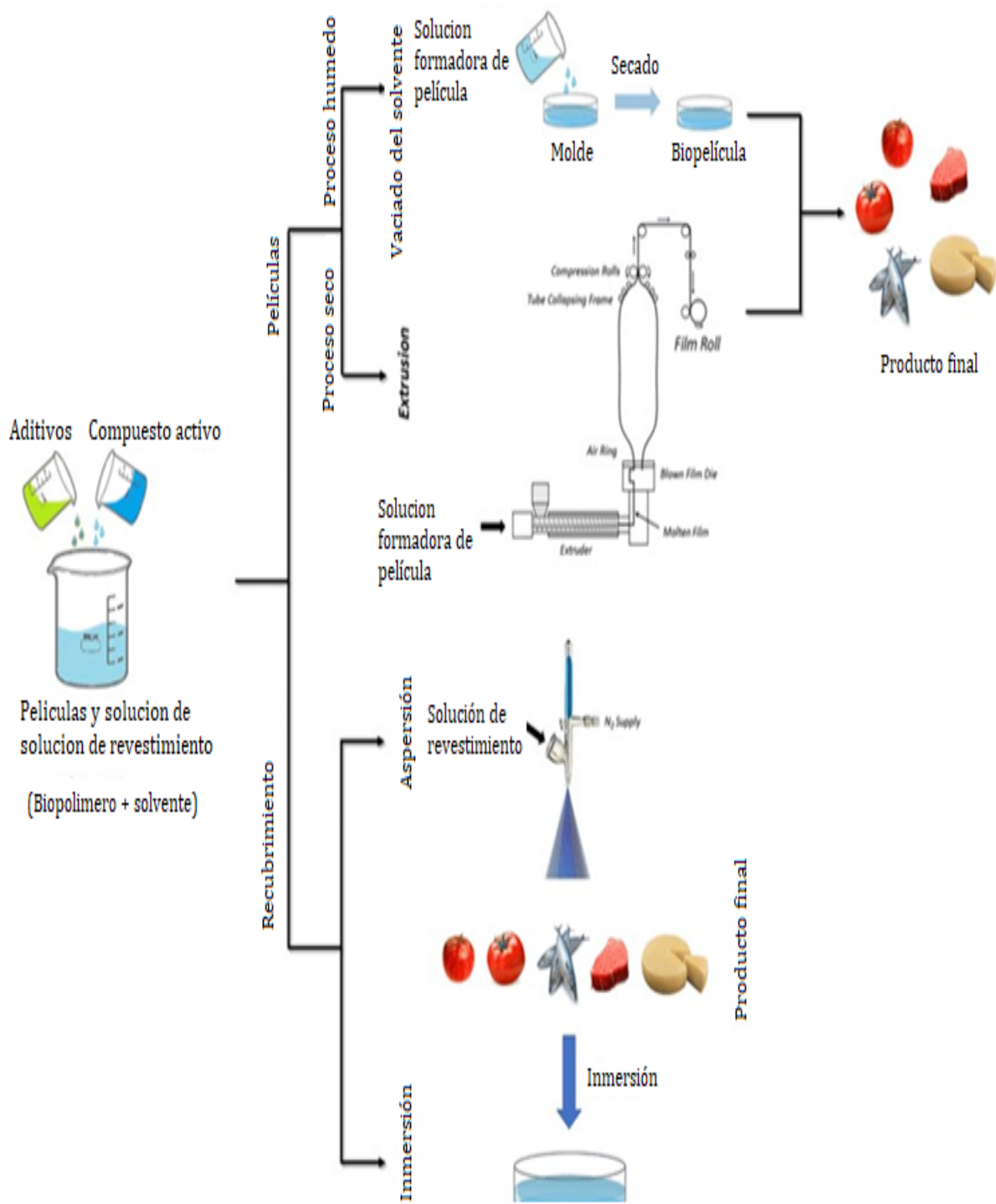


Figura 4: Métodos de producción de películas y recubrimientos comestibles Fuente: Ribeiro *et al.*, 2021

3.2.1 Casting

El método de vaciado en caja o “casting” es el más común utilizado en laboratorio y consiste en la extensión de la solución polimérica sobre la superficie deseada, seguida de secado durante un tiempo adecuado, en estufa; luego de la fase de evaporación del solvente, la película se despega de la superficie, manteniendo la forma física de la estructura donde se formó. La principal limitación de esta técnica está asociada a esta etapa del proceso productivo, debido a las arrugas y roturas que se pueden producir durante la operación (Ribeiro *et al.*, 2021), sin embargo, mediante esta técnica se obtienen películas con distribución de espesor uniforme y máxima pureza óptica. Además, las biopelículas elaboradas por este método poseen una excelente planitud y estabilidad dimensional, una vez finalizado el secado se tiene una película de gran tamaño, el cual es fraccionado para ser aplicado sobre los alimentos a tratar (Fernández *et al.*, 2015; Parzanese, 2006).

3.2.2 Extrusión

La técnica de extrusión se basa en las propiedades termoplásticas de los polímeros, donde la solución formadora de película que incluye un plastificante se calienta por encima de su temperatura de transición vítrea en condiciones de bajo contenido de agua. 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. La extrusión es una alternativa viable para aplicaciones comerciales, debido a la menor cantidad de solventes necesarios para el proceso y la menor cantidad de pasos de evaporación (Escobar, 2020; Ribeiro *et al.*, 2021).

3.2.3 Inmersión

Este método consta de dos ciclos de inmersión: en el primero, la muestra se sumerge en la solución preparada, y en el último, la inmersión ocurre en un baño de reticulación, drenando el exceso de las soluciones después de cada etapa. Esta técnica se utiliza especialmente en aquellos alimentos cuya forma es irregular que requieren de una cobertura uniforme y gruesa. Es importante que el producto a tratar esté previamente

lavado y secado, y que una vez retirado de la solución se deje drenar el excedente de solución para lograr un recubrimiento uniforme (Parzanese, 2006; Ribeiro *et al.*, 2021).

3.2.4 Spray

El método de “aspersión” se usa para formar una membrana semipermeable en los productos alimenticios, al distribuir la solución de recubrimiento sobre la superficie objetivo, mediante la formación de gotas. Las características del recubrimiento estarán estrechamente relacionadas con las propiedades de la solución polimérica (es decir, la densidad, viscosidad y tensión superficial), las condiciones de funcionamiento y las condiciones del sistema, por ejemplo, diseño de la boquilla y ángulo de pulverización. La mínima cantidad de disolvente necesaria para conseguir un buen y uniforme cubrimiento de la superficie, la posibilidad de aplicaciones multicapa, el bloqueo de contaminantes de la solución de recubrimiento, el control de la temperatura y la posibilidad de trabajar con grandes superficies son parámetros que hacen de esta técnica una de las más rentables y eficientes. Además, el método de aspersión permite controlar el espesor del recubrimiento, formándose soluciones de aproximadamente 20 μm (Parreidt *et al.*, 2019; Ribeiro *et al.*, 2021).

3.3 Propiedades de las biopelículas y recubrimientos comestibles como materiales de empaque

Debido al contacto directo con los alimentos, las películas y los recubrimientos deben cumplir con los mismos estándares requeridos en los materiales de envasado de alimentos habituales como; adecuada estabilidad bioquímica, fisicoquímica y microbiana además de la ausencia de tóxicos y bioseguridad, para asegurar la creación de una barrera que controle la velocidad de transporte de los componentes moleculares de los alimentos. Los criterios anteriores incluyen propiedades de barrera contra el agua, aroma, gas, luz, vapor de agua, el CO_2 y el O_2 , ópticas como la transparencia, así como mecánicas, que dependen de la estructura de la película y la composición. Por lo tanto, la importancia de los métodos precisos para determinar el rendimiento de la película es obligatoria. Al formular películas y recubrimientos, se deben analizar cuidadosamente parámetros como las propiedades mecánicas, las características de barrera biológica, química y el comportamiento térmico, esto debido a su enorme

impacto en la calidad del producto (Kandasamy *et al.*, 2021; Murrieta *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2021).

3.3.1 Propiedades de barrera

Las propiedades de barrera de las películas y recubrimientos comestibles son cruciales en la predicción de la vida útil del producto, debido a que la degradación física y química de los alimentos está íntimamente relacionada con el transporte de gases entre el producto y el medio ambiente. El vapor de agua, el oxígeno y el dióxido de carbono son los principales agentes permeantes involucrados en los fenómenos de transporte de la película, el primero relacionado con la humedad del producto y los otros con la respiración del mismo (Murrieta *et al.*, 2018; Parreidt *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2021). Generalmente, las películas y recubrimientos comestibles presentan una naturaleza hidrofílica, con cierta permeabilidad al vapor de agua, lo que limita su capacidad para proporcionar algunas funciones deseadas a aplicaciones específicas. Por esta razón, las propiedades de humedad siempre deben evaluarse y controlarse, teniendo en cuenta la aplicación alimentaria final del envase: mientras que en los alimentos frescos se debe evitar la deshidratación, en productos como el pan, la permeación del agua es crucial y puede provocar la degradación de los alimentos (Murrieta -Martínez *et al.*, 2018). Por otro lado, las películas y los recubrimientos también pueden actuar como una barrera contra la respiración el intercambio gaseoso, reduciendo la captación de O₂ y, en consecuencia, la producción de CO₂. Sin embargo, esta atmósfera modificada no debe crear condiciones anaeróbicas, para evitar un crecimiento microbiológico dentro del producto (kandassamy *et al.*, 2018).

3.3.2 Permeabilidad al vapor de agua

La transferencia de vapor de agua, depende generalmente de la porción hidrofóbica de los componentes de la biopelícula o recubrimiento comestible, ya que, a través del movimiento del vapor de agua en los polímeros, se controla la transferencia de humedad desde el producto al medio ambiente, por lo que se busca que sea lo más lento posible. Se han realizado estudios sobre la relación que existe entre la permeabilidad al vapor de agua y el tipo de componentes de la película o recubrimiento. Se ha observado una relación entre el grosor de películas elaboradas con base de quitosano, y

plastificantes como los polioles, glicerol, sorbitol, polietilenglicol encontrando que un incremento en el grosor aumenta la permeabilidad al agua. La permeabilidad de una barrera se calcula a partir de una combinación de la ley de Fick para la difusión y la de Henry para la solubilidad. Ésta es una medida de la facilidad con la que el vapor de agua puede penetrar en un material (Ramos *et al.*, 2010; Solano *et al.*, 2018).

3.3.3 Permeabilidad a los gases

El oxígeno implica varias reacciones de descomposición, incluida la ranciedad de la grasa y el aceite, el crecimiento de microorganismos, el oscurecimiento enzimático y la pérdida de vitaminas, Así mismo, los recubrimientos más gruesos limitan el intercambio de gases respiratorios y desarrollan malos sabores en el producto debido a la elevada concentración de etanol. Como resultado, varios métodos de empaque requieren un empaque protector contra el oxígeno. Sin embargo, el envasado de frutas y verduras frescas exige películas/revestimientos de barrera suaves, ya que se necesita la permeabilidad al oxígeno y al dióxido de carbono para la respiración. De esta manera es una propiedad que debe evaluarse en la elaboración de la solución formadora de película (Kandasamy *et al.*, 2021; Solano-Doblado *et al.*, 2018).

3.3.4 Propiedades ópticas

La luz actúa como catalizador de procesos de oxidación y degradación en los compuestos nutricionales de los alimentos, por lo que, para evitarlos, se adicionan componentes específicos que absorben la luz en el espectro de UV/Vis. Las propiedades ópticas como el color, transparencia y propiedades de barrera ultravioleta o lumínica del material son características esenciales en las películas, especialmente diseñadas para su uso en el envasado de alimentos (Kandasamy *et al.*, 2021). Las vitaminas liposolubles, incrementan la transparencia de las películas y recubrimientos, sin embargo, durante la vida de anaquel, permiten el paso de la luz, lo que cataliza la rancidez de los lípidos. Sin embargo, en el caso de frutas y hortalizas, el brillo es una característica deseable, por lo que se busca obtener equilibrio entre la calidad sensorial y la nutricional de estos alimentos. Las propiedades finales también dependen del espesor de la película se usa un colorímetro para las mediciones, y un único valor

numérico establece la diferencia de color, ΔE^* , que especifica la magnitud de la diferencia de color, pero no la calidad de dicha diferencia (Solano *et al.*, 2018).

3.3.5 Propiedades mecánicas

Los materiales de empaque deben tener una amplia resistencia mecánica y extensibilidad para mantener la integridad y soportar fuerzas externas durante el procesamiento, manejo y almacenamiento de los alimentos. La resistencia a la tensión (TS, MPa) se refiere a la máxima resistencia que presenta la película al estiramiento, mientras que la elongación al rompimiento (EB, %) es la medida de la capacidad de estiramiento o flexibilidad que tiene la película, en ambas, se miden hasta que la película se rompe. Dependiendo de las características que se busquen en la película o recubrimiento, pueden agregarse diferentes aditivos para mejorar estas propiedades (Solano *et al.*, 2018; Yang y Paulson, 2000).

3.4 Aplicaciones de las biopelículas en la industria alimentaria

La investigación sobre interacciones entre biopolímeros y su aplicación en biopelículas o recubrimientos alimenticios con propiedades mecánicas y de barrera mejoradas ha crecido notablemente (Figura 5). Es por ello que, dependiendo de los biomateriales utilizados y los tipos de compuestos biológicamente activos, se pueden mejorar propiedades específicas, como las características sensoriales, fisicoquímicas y nutricionales, en los productos recubiertos. En algunos casos es necesario incorporar aditivos específicos para mejorar las características físicas y propiedades mecánicas del empaque resultante (De Ancos *et al.*, 2015; Díaz y Castro, 2021). Actualmente existen algunas capaces de controlar la atmósfera interna del alimento, aquellas que proporcionan brillo o color, lo que mejora su calidad visual, las que son capaces de evitar contaminación y propagación microbiana, tanto fitopatogena como los dañinos para el ser humano. El uso de películas inteligentes está creciendo, debido a que son capaces de detectar algún fallo en la atmósfera del alimento o contaminación microbiana, y son capaces de informar por medio de señales visuales cualquier alteración o contaminación del producto, y con ello cubrir dos o más de los aspectos anteriores (Solano *et al.*, 2018). Tal es el ejemplo de los recubrimientos y biopelículas basados en quitosano, almidón y alginato por separado, las cuales han demostrado en

muchos estudios poseer características deseables para los productos, como el aumento de la protección y su calidad a través del retraso de la maduración y deterioro de los alimentos. Este retraso es a través de la formación de buenas propiedades de barrera, además de ser una opción segura, sostenible, renovable y de bajo costo, ante los actuales problemas plásticos (Ribeiro *et al.*, 2021). De la misma manera, aún existen muchos biopolímeros y aditivos con buenas características para formar películas y recubrimientos comestibles que no se han explorado en detalle, lo que puede prometer conocimientos exitosos sobre la protección y conservación de productos alimenticios (Murrieta *et al.*, 2018).

Extract properties	Source	Coating agent	Food application	Result	Reference
Anti-browning	Turnip extract	Xanthan gum	Apples	The edible coatings were ineffective in the mass loss control but had an important role in the maintenance of the colouration, firmness and pH value of the food product	Borges et al. (2016)
Antioxidant	Cotton lavender extract	Chitosan	Cheese	The addition of the extract confers significant antioxidant capacities to the coating, increases its antifungal abilities and enhances some physical properties	De Elguea-Culebras et al. (2019)
	<i>Impatiens balsamina</i> L. stem extract	Carboxymethyl cellulose	Tangerines	The coating delayed the ripening and prolonged the postharvest life of the product, decreasing its decay rate and weight loss, maintaining its commercial quality and enhancing the activities of antioxidant and defence-related enzymes	Chen et al. (2016)
Antimicrobial	Sweet basil extract	Pullulan	Apples	The uniform edible films, with a smooth surface and a compact internal structure, showed low antibacterial activity and a good antifungal protection against the tested microorganisms	Synowiec et al. (2014)
	Pomegranate peel extract	Chitosan	Fish	The edible coatings lead to a shelf life extension of the final product, maintaining its microbiological, chemical and sensorial qualities during usage and storage	Alsaggaf et al. (2017)
	<i>Aloe vera</i> extract	Distilled water	Tomato fruit	The pure extracts inhibited the growth of several bacteria; the diluted extracts maintained the quality of the food by delaying ripening	García et al. (2014)
	Grape seed extract	Whey protein	Sausages	The films showed an extraordinary ability to control the growth of several foodborne pathogens	Gadang et al. (2008)
	Bamboo leaf extract	Alginate	Abalone	The coatings effectively modified the microbial composition of the food product, which led to the improvement of its hygiene status and safety	Hao et al. (2017)
	Olive leaf extract	Polyethylene terephthalate and polypropylene	Cherry tomatoes	The production of the edible films improved the antimicrobial activity and bioactivity of the final product	Bastante et al. (2019)
	Meadowsweet flower extracts	Pullulan	Apples	Production of stable and homogeneous films that inhibited the growth of tested bacteria and fungi, when applied into the food product, did not affect its colour and weight	Gniewosz et al. (2014)
	Grape seed and green tea extracts	Soy protein	Sausages	The natural edible films decreased the growing of the tested bacteria	Theivendran et al. (2006)
Antioxidant and antimicrobial	Green tea extract	Alginate	Fresh strawberries and raspberries	The antiviral edible coatings allowed a complete inactivation of the tested viruses in fresh strawberries; due to the lower amount of coating that adhered to their surfaces, the raspberries presented a lower antiviral efficacy	Falcó et al. (2019a)
	Pink pepper residue and peanut skin extracts	Chitosan	Chicken products	The films exhibited high antioxidant and antimicrobial properties, maintaining the oxidative stability of the food product	Serrano-León et al. (2018)

Figura 5: Investigaciones relacionadas a películas y recubrimientos comestibles realizadas en los últimos años. Fuente: Díaz y Castro, 2021

IV. **Justificación**

Microplásticos identificados como poli(etileno) y poli (tereftalato de etileno) se han detectado en sal de mesa, a niveles de hasta 681 partículas/kg. Algunos consumidores y empresas conscientes están promoviendo la reducción de los plásticos de un solo uso, sin embargo, a la par, se están introduciendo nuevas aplicaciones del plástico en la industria alimentaria, por ejemplo, se sabe de algunos fabricantes que están creando nuevos envases de plástico para reemplazar los tradicionales de papel. Esto genera preocupación, ya que incluso los plásticos de "grado alimentario" pueden degradarse y/o filtrar sustancias tóxicas cuando se calientan a más de 40 °C (Hernández *et al.*, 2019).

En función de lo anterior, el uso de biopolímeros en las formulaciones de películas y recubrimientos alimenticios se está volviendo más común, así mismo, diversos investigadores están estudiando las mezclas de polímeros como el almidón, quitosano y alginatos, esto debido a su naturaleza renovable, biocompatible y biodegradable (Ribeiro *et al.*, 2021).

Actualmente, se han informado numerosos estudios sobre la modificación de películas de almidón, quitosano, y alginato (por separado) con otras materias primas (Hasan *et al.*, 2020). Sin embargo, en la literatura consultada no se encuentran registros de la aplicación de biopelículas de quitosano-almidón de maíz y quitosano-alginato de sodio en conjunto, como contenedores de revestimiento y/o embalajes biodegradables de productos vegetales o animales, por lo que, se propone la elaboración de biopelículas a base de estos biopolímeros como posibles sustitutos de recubrimientos comerciales alimenticios.

V. **Objetivos**

5.1 **General**

Sintetizar y caracterizar biopelículas a base de quitosano-almidón de maíz y quitosano-alginato de sodio como posibles sustitutos de recubrimientos alimenticios.

5.1.1 **Particulares**

- Sintetizar biopelículas a base de quitosano-almidón y quitosano-alginato variando la formulación.
- Caracterizar propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las biopelículas a base de quitosano-almidón y quitosano-alginato.
- Evaluar la funcionalidad de las biopelículas de quitosano-almidón y quitosano-alginato en un producto alimenticio.

VI. **Hipótesis**

Las biopelículas a base de quitosano-almidón de maíz y quitosano-alginato de sodio funcionarán como sustitutos de recubrimientos alimenticios.

VII. **Materiales y métodos**

7.1 **Materiales**

- Quitosano (Desacetilado de bajo peso molecular, Lot# BCCD0403) de la marca Sigma-Aldrich, Almidón de maíz (Lot# MKBT0621V) de la marca Sigma-Aldrich, Alginato de sodio y Ácido acético (99.99%) glacial de Fermont Reactivos y Equipo S.A. de C.V., Glicerol (J.T.Baker), plástico adherente de grado alimenticio de la marca Aurrera y agua destilada.

- Papaya Maradol obtenida de la central de abastos de la ciudad de Toluca.

7.2 **Síntesis de biopelículas a base de quitosano-almidón de maíz y quitosano-alginato de sodio**

Se usó quitosano para la formación de las biopelículas y se adicionaron diferentes concentraciones de almidón y alginato (1% y 2% según sea el caso). Las películas

poliméricas fueron sintetizadas por el método de “casting” descrito por Ren *et al.*, (2017) con algunas modificaciones. En un vaso de precipitado se homogeneizó la solución formadora de películas compuesta con 90% de ácido acético al 1% de quitosano y 1% o 2% de almidón, y 1% o 2% de alginato (según sea el caso). La solución se calentó a 60 °C durante 1 h y 15 min con agitación constante; después se filtró, se añadió 2% de glicerol y se agitó durante 15 min. Posteriormente se vaciaron 15 ml de solución en cajas Petri, finalmente se colocaron en un horno de secado a 40°C por 24 horas.

7.3 Caracterización de biopelículas de quitosano-almidón y quitosano-alginato

7.3.1 Evaluación de la solubilidad

La solubilidad de las biopelículas se obtuvo siguiendo la metodología descrita por Dong y colaboradores (2020), cortando piezas de 2 x 2 cm, las cuales fueron secadas a 100 °C por 24 h hasta obtener un peso seco inicial (W_0). Posteriormente, cada muestra se sumergió en 50 ml de agua destilada a una temperatura de 25 °C por 24 h en agitación esporádica. Finalmente, las muestras fueron removidas de la inmersión con agua y secadas en horno a 100°C por 24 h para obtener el peso seco final (W_2). El valor de la solubilidad se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$S (\%) = \left[\frac{W_0 - W_2}{W_0} \right] \times 100$$

7.3.2 Evaluación del espesor

Se empleó la metodología descrita por Sánchez Aldana *et al.*, (2015) con algunas modificaciones. Para ello, las biopelículas obtenidas se cortaron en trozos de 2 x 3 cm de cada muestra, estos se colocaron uno sobre otro, usando un micrómetro vernier digital Caliper; se hicieron medidas del espesor en distintos puntos de la superficie, el resultado se dividió entre el número de trozos sobrepuestos.

7.3.3 Colorimetría de la biopelícula

Se empleó la metodología descrita por Kandasamy y colaboradores (2021), con algunas modificaciones. Se utilizó un colorímetro Konica Minolta (modelo Chroma Meter CR-400, Sesing, Inc., Japan), con placa de calibración número 12633047 y estándares de

L=89.97, a=0.48, b= -0.56. Las muestras fueron colocadas sobre una base color blanca estándar. El colorímetro previamente calibrado se colocó sobre la biopelícula y se realizaron disparos registrándose los valores en escala Hunter donde L corresponde a la luminosidad, a*, b* siendo las cromáticas del espectro, 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:

$$\Delta L = L * \text{estandar} - L * \text{muestra}$$

$$\Delta a = a * \text{estandar} - a * \text{muestra}$$

$$\Delta b = b * \text{estandar} - b * \text{muestra}$$

7.3.4 Determinación de la Opacidad

Las mediciones de opacidad de las películas se calcularon siguiendo el método descrito por Archundia y colaboradores (2016) con algunas modificaciones. En un espectrofotómetro calibrado con longitudes de onda seleccionadas (200–700 nm), se analizaron las muestras previamente cortadas en piezas rectangulares (3x1cm) y se colocaron en una celda. Se determinó la absorbancia a 290 nm. Finalmente, la opacidad se determinó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Opacidad} = \frac{\text{Absorbancia}}{x}$$

Donde x es el espesor de la película en mm.

7.3.5 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 siguiendo el método descrito por Escobar (2020).

7.3.6 Determinación por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología de las biopelículas fue analizada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) por medio del microscopio JEOL JXA – 8530F.

7.3.7 Evaluación del espectro infrarrojo con transformada de Fourier

Los espectros ATR-FTIR de las películas se obtuvieron 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, almidón y alginato 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 tomaron 12 adquisiciones para cada espectro en el rango de $4000\text{--}700\text{ cm}^{-1}$.

7.3.8 Caracterización de propiedades mecánicas y texturales

El esfuerzo de tensión (ET) y el porcentaje de elongación (% E) de las películas fue medido 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 $3 \times 6\text{ cm}$ fueron sometidas a tensión con una separación de 40 mm entre las mordazas.

7.3.9 Evaluación de la funcionalidad y eficiencia de la biopelícula

La funcionalidad de las biopelículas fue evaluada en fruta; empleando la metodología descrita por Rozo y colaboradores (2016) con algunas modificaciones, para ello se usaron papayas, las cuales fueron lavadas, peladas y cortadas en cubos de 4 cm^3 . Las papayas fueron cubiertas con las biopelículas, se mantuvieron a temperatura ambiente, fueron pesadas durante una semana hasta observar crecimiento microbiano de forma visual y con ello determinar la su vida útil.

7.3.10 Análisis Estadístico

Todos los experimentos se replicaron tres veces y fueron analizados con el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XIX. Como lo menciona Chang *et al.*, (2019), los datos obtenidos en las determinaciones fueron sometidos a un análisis de varianza

unifactorial (ANOVA) y una prueba de múltiples rangos Tukey de comparación de medias con una significancia estadística de $p \leq 0.05$.

VIII. Resultados y discusión

8.1 Solubilidad de las biopelículas

La muestra comercial evaluada fue un plástico adherente de grado alimenticio de la marca Aurrera; aunque las etiquetas del producto no dan mayor información al consumidor acerca de la composición del mismo, se sabe que existen solo algunos plásticos utilizados para el envasado de alimentos, tal es el caso del polipropileno, la poliamida (nylon), el cloruro de polivinilideno y el polietileno; en este último se encuentra el polietileno lineal de baja densidad (LLDPE), de la que se asume está hecha la muestra utilizada (específicamente el C4 buteno) (Katsara *et al.*, 2021).

Tabla 1: Datos de solubilidades presentados en porcentajes

Muestra	Comercial	quitosano	1% almidón	2% almidón	1% alginato	2% alginato
	9.5±0.41b	61.6±0.97a	57±2.69a	55.7±9.52a	63.5±4.7a	67.8±10.1a

Letras diferentes en columnas indican diferencia significativa con un nivel del 95% de confianza. Los datos son expresados como la media ± desviación estándar, n=3.

Los datos obtenidos revelaron que la muestra comercial presentó una solubilidad de 9.5% (ver Tabla 1), con ello, demostró tener también una baja biodegradabilidad, debido a su naturaleza insoluble. En contraste la muestra control de quitosano obtuvo un valor de 61.6%, lo que representa un valor alto de solubilidad y biodegradabilidad al entrar en contacto con el agua. Este fenómeno podría explicarse debido a que la solubilidad del quitosano depende principalmente del pH de la solución y de la desacetilación del quitosano. El valor pKa del grupo amino en el quitosano es de aproximadamente 6.3, lo que hace que el quitosano sea soluble en soluciones ligeramente ácidas; además, la adición de glicerol (hidrofilico) puede reducir el hidrógeno intramolecular y aumentar con ello la distancia entre las moléculas. Lo anterior podría conllevar a que la red de quitosano se vuelva menos densa y favorezca

la adsorción y desorción de las moléculas de agua sobre la matriz de la biopelícula y dar como resultado un biopolímero soluble (Mei *et al.*, 2013).

Por otro lado, las biopelículas adicionadas con almidón al 1 y 2 % mostraron valores de solubilidad de 57 y 55.7%, lo que indica que, al adicionar y aumentar la concentración de almidón, la solubilidad disminuyó en comparación con el control de quitosano. Este comportamiento se ha observado en otros estudios de mezclas de almidón-quitosano, donde reportan valores de solubilidad (56.47 y 51.71%) cercanos a los obtenidos en el presente trabajo, como el realizado por Pech-Cohuo *et al.*, (2022) para muestras de semillas de almidón Ramon (*Brosimum alicastrum*)-quitosano y almidón de maíz-quitosano respectivamente. Dichos resultados se atribuyen al hecho de que a medida que se aumentó el contenido de almidón se indujo una mayor interacción con el quitosano, lo que se traduce en la disminución de la disponibilidad de los grupos hidrofílicos (el NH_3^+ del quitosano y el OH^- del almidón), lo que dio como resultado una reducción de la solubilidad.

Las biopelículas con 1 y 2% de alginato mostraron solubilidades de 63.5 y 67.8%, respectivamente, por lo que se puede decir que al adicionar alginato y al aumentar su concentración, la solubilidad incrementó. Wang *et al.*, (2019) reportó la solubilidad de biopelículas de quitosano (1%), quitosano-alginato de sodio (este último al 2%) y quitosano-alginato de sodio adicionadas con nanopartículas de ZnO (1%), mostrando valores de 55.28, 65.86 y 39.84% respectivamente. El carácter hidrofílico del alginato en ambientes muy húmedos ha sido destacado en la literatura para volúmenes muy pequeños de alginato con alta cizalladura. Además, existe una relación entre las biopelículas donde los valores de la solubilidad son generalmente más altos en matrices de alginato puro, es decir; a mayor concentración de alginato mayor solubilidad. Este fenómeno es debido a la sorción y desorción de las moléculas de alginato y a su alta afinidad química debido al aumento de los grupos hidrofílicos y polares presentes en su estructura. Lo anterior propicia el transporte de moléculas de agua a lo largo de los grupos polares, lo que se traduce en una mayor solubilidad como se observa en el presente estudio (Khwaldia *et al.*, 2023; Tavassoli-Kafrani *et al.*, 2016).

La solubilidad de las biopelículas es una propiedad esencial para el envasado de alimentos, aunque para algunas aplicaciones se requiere una solubilidad lo más baja posible, esto con el fin de disminuir el proceso de deshidratación de los alimentos y mantenerlos frescos. Una alta solubilidad podría tener ventajas durante la cocción de productos envueltos en biopelículas o en películas comestibles para dulces y/o para determinar la biodegradabilidad de los recubrimientos, por ello es necesario conocer sus características para poder encontrar posteriormente una aplicación adecuada (Anchundia *et al.*, 2016).

Los resultados del análisis estadístico determinaron que existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), entre la solubilidad de la muestra comercial y las biopelículas sintetizadas, sin embargo, no presentan diferencias significativas entre ellas, como lo demostró la prueba de múltiples rangos (Tukey) con un nivel del 95.0% de confianza. Lo que indica que nuestras biopelículas en general son altamente solubles en agua a diferencia de la muestra comercial la cual demostró ser insoluble.

8.2 Espesor de las biopelículas

Las biopelículas mostraron espesores con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), además, una prueba de múltiples rangos (Tukey) identificó 3 grupos homogéneos. La Tabla 2 muestra los valores del espesor, donde se observa que la película comercial mostró el valor más bajo (primer grupo), seguido por el control de quitosano. La muestra adicionada con 1% de almidón, 2% de almidón, 1% de alginato (segundo grupo) tuvieron valores entre 0.08 y 0.09 mm: finalmente la adicionada con 2% de alginato tuvo el mayor espesor (tercer grupo) de 0.14 mm.

Tabla 2: Datos del espesor de las biopelículas (en milímetros)

Muestra	Comercial	quitosano	1% almidón	2% almidón	1% alginato	2% alginato
Espesor	0.013±0.0c	0.075±0.0b	0.08±0.0b	0.09±0.01b	0.09±0.01b	0.14±0.01a

Letras diferentes en columnas indican diferencia significativa con un nivel del 95% de confianza. Los datos son expresados como la media ± desviación estándar, n=3.

Las biopelículas obtenidas, en general, fueron flexibles y no mostraron agrietamiento, y pudieron ser fácilmente despegadas de las cajas Petri que se utilizaron para el secado. La observación es consistente con lo reportado por Ren *et al.*, (2017) y Wang *et al.*, (2007) en biopelículas de quitosano-almidón y quitosano-alginato respectivamente.

Las biopelículas del segundo grupo no mostraron un aumento en el espesor, lo que podría deberse a que se formó una estructura de red interna más compacta entre el quitosano y el almidón, hecho que se atribuye a la polaridad de las moléculas y a una mezcla más uniforme entre los componentes. Dicha observación no sucedió en el caso de las biopelículas de quitosano-alginato al 2% el cual mostró un aumento significativo del espesor, que podría estar asociado a las propiedades coloidales únicas del compuesto, el espesamiento, la suspensión, y la interacción entre los componentes. Esto, a su vez, podría estar relacionado con la concentración del alginato, como lo reportó Galus y Lenart (2013) y Tavassoli-Kafrani *et al.*, (2016) con películas de alginato de sodio/pectina y alginato/carragenina, respectivamente, quienes reportaron que para concentraciones altas de alginato se dan formaciones de grumos de gel, lo que provoca un aumento en el espesor de la película, como se observó en el presente estudio (ver Figura 6).

En virtud de ello, a medida que el espesor de la biopelícula aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través de ella, en consecuencia, la presión parcial de equilibrio entre la superficie y el interior de la biopelícula se incrementa; de ahí la importancia de regular el espesor de película (Anchundia *et al.*, 2016).

8.3 Colorimetría de las biopelículas

El color es una propiedad importante para los recubrimientos y biopelículas que recae directamente en la aceptación del consumidor. Por lo tanto, se midieron los parámetros de color (L^* , a^* , b^* , ΔE) de todas las biopelículas elaboradas, descritos en el capítulo anterior. La luminosidad (L^*) de la muestra comercial y las biopelículas mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) resaltando dos grupos homogéneos, el primero compuesto por la película comercial y la muestra adicionada con 2% de alginato, los cuales mostraron los valores más bajos de luminosidad. El

segundo grupo estuvo constituido por el control de quitosano y la muestra adicionada con 1% de alginato, los cuales tuvieron los valores más altos de luminosidad, como se observa en la Tabla 3.

Tabla 3: Propiedades ópticas de las biopelículas

Muestra Variable	comercial	quitosano	1% almidón	2% almidón	1% alginato	2% alginato
L*	87.65±0.3b	89.15±0.2a	89.36±0.2a	89.24±0.4a	89.11±0.4a	88.30±0.6b
a*	0.01±0.04a	0.74±0.01c	0.53±0.03b	0.68±0.1c	0.86±0.07d	0.97±0.04e
b*	-0.23±0.02c	-2.15±0.6b	-2.45±0.1b	-2.93±0.4b	-4.1±0.4a	-4.47±0.1a
ΔE	2.33±0.1	2.87±0.3	2.58±0.1	3.1±0.2	4.29±0.2	4.86±0.3

Letras diferentes en columnas indican diferencia significativa con un nivel del 95% de confianza. Los datos son expresados como la media ± desviación estándar, n=3.

Una tendencia parecida fue reportada por Ren *et al.*, (2017) en películas de almidón de maíz/quitosano, con valores de L* que van de 86.97 hasta 90.11 en proporciones diferentes; en dicho reporte las películas de almidón de maíz puro fueron menos luminosas que las adicionadas con quitosano. De la misma manera, valores cercanos a los encontrados en el presente trabajo, fueron descritos por Khwaldia *et al.*, (2023) para biopelículas de alginato puro y sus variaciones con cáscara de maní con valores de 95.77 hasta 82.81, respectivamente.

El parámetro de la cromática a* de todas las muestras arrojó valores positivos, lo que significa que el color rojo es predominante en todas las biopelículas, se puede observar una disminución en los valores al agregar las diferentes concentraciones de almidón, y un aumento en aquellas a las cuales se les adicionó alginato, comparados con la muestra control de quitosano.

Los valores de la coordenada b* de la muestra comercial y las biopelículas fueron negativos lo que indica una inclinación hacia el color azul del espectro. De acuerdo con la diferencia de color total (E*) de cada una de las muestras analizadas, entre la muestra comercial, de quitosano, y las biopelículas con 1 y 2% de almidón, no se observaron diferencias, por otro lado, las muestras adicionadas con alginato si presentaron diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).

8.4 Opacidad de las biopelículas

La muestra comercial presentó el valor más bajo de opacidad, en esta muestra esto significa una alta transparencia y es significativamente diferente, como se puede observar en la Tabla 4 y Figura 6.

Tabla 5: Valores de opacidad de las biopelículas en ($A_{bs\ 290}$) mm^{-1}

Muestra	comercial	quitosano	1% almidón	2% almidón	1% alginato	2% alginato
Opacidad	0.1±0a	3.17±0b	4.86±0b	6.41±0b	6.99±0b	1.49±0b

Letras diferentes en columnas indican diferencia significativa con un nivel del 95% de confianza. Los datos son expresados como la media ± desviación estándar, n=3.

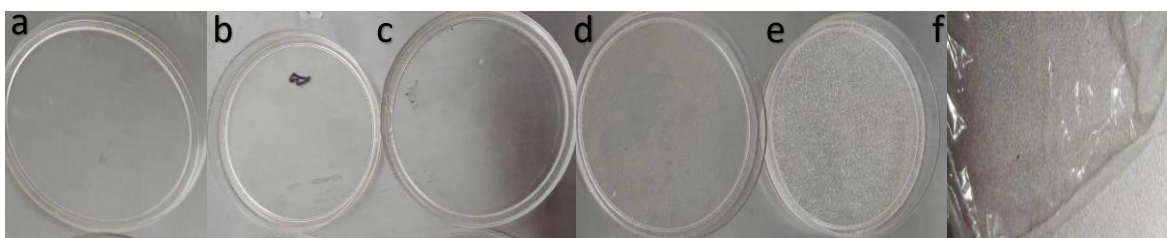


Figura 6: Fotografía donde se observan las muestras: a) control de quitosano, b) 1% almidón, c) 2% almidón, d) 1% alginato, e) 2% alginato y f) muestra comercial

En contraste, aunque las biopelículas sintetizadas arrojaron valores de opacidad bajos y cercanos, no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre ellas. En el trabajo realizado por Santacruz *et al.*, (2015) reportaron valores cercanos (5.38 y 6.75 mm^{-1}) en películas comestibles a base de almidón y quitosano con 1 y 0.5% respectivamente, lo que corresponde con los datos obtenidos en el presente estudio. Del mismo modo, las biopelículas adicionadas con alginato al 1% tuvieron valores de 6.99 mm^{-1} , nuestros resultados concuerdan con los hallazgos de Biao *et al.*, (2019) quienes reportaron valores cercanos de entre 1.6 y 4.1 mm^{-1} en películas de alginato de sodio adicionadas con extracto de hoja de guayaba. La opacidad de las biopelículas en general incrementó con el aumento del contenido de almidón y alginato, lo que significa que se transmite menos luz a través de las películas, excepto en la muestra adicionada con 2% de alginato que presentó un valor promedio de 1.49 mm^{-1} . Cabe destacar que, este valor podría no ser confiable debido a que una mezcla directa de alginatos a la solución formadora de películas no produce geles homogéneos debido a la formación muy rápida e irreversible de uniones entre cationes y grupos polares como los del quitosano propiciando la formación de grumos de gel (ojos de pez, como se observa en

la figura 6 inciso f) que es el resultado de dicha mezcla como lo menciona Tavassoli-Kafrani *et al.*, (2016). Con base en esto, es importante aclarar que dependiendo del lugar donde se incida el haz de luz (zona homogénea o zona no homogénea de la biopelícula), le será asignado un valor que probablemente no represente a toda la muestra. Khwaldia *et al.*, (2023) reportaron en películas de alginato adicionadas con extracto de palmera que, el valor de la transparencia es menor cuando se aumenta la concentración, es decir; a mayor concentración de alginato mayor opacidad.

La opacidad y la transmisión de la luz de las biopelículas en el campo del envasado de alimentos son importantes, especialmente para la aplicación en la superficie de los alimentos. En general, la transmisión de luz puede causar oxidación y degradación de lípidos, pigmentos y nutrientes, lo que acortará la vida útil de algunos productos alimenticios. Por lo tanto, una opacidad alta indica una transmisión baja de luz y es un atributo deseable para las películas aplicadas sobre alimentos sensibles a la luz (Li *et al.*, 2022) por lo que, nuestras biopelículas serian buenas candidatas para dicha aplicación.

8.5 Microscopía óptica de las biopelículas

En la Figura 7 se muestran imágenes de la muestra comercial y las biopelículas sintetizadas a una magnificación de 40x.

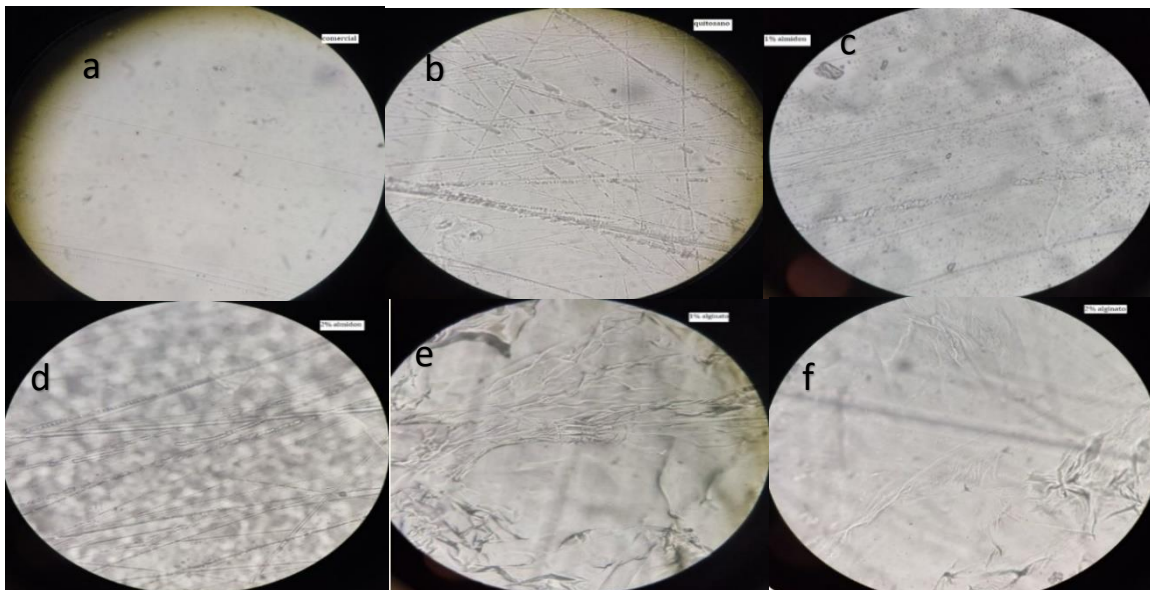


Figura 7: Micrografías de las biopelículas vistas a 40x: a) comercial, b) quitosano, c) 1% almidón, d) 2% almidón, e) 1% alginato y f) 2% alginato.

En la muestra comercial (a), se observa una estructura lisa, homogénea, sin grietas, translúcida y es la más brillante. En general, todas las biopelículas sintetizadas se despegan con facilidad de la placa Petri que las contiene, además se observan estructuras opacas y maleables, con adherencia a ciertos tipos de materiales como plástico y se observan líneas debido a las rayaduras del molde en el que fueron secadas [estas son más notorias en el control de quitosano (b)]. Las biopelículas adicionadas con almidón (1 y 2%) fueron más homogéneas, continuas, uniformes y no presentaron grietas, se notan puntos negros en toda la biopelícula sin espacios de aire macroscópicos como se muestra en las Figuras 7 (imágenes c y d). Este fenómeno fue similar al reportado por Fonseca *et al.*, (2021) en película a base de almidón de maíz- quitosano y poloxámero, donde señalan que los almidones de maíz se pueden retrogradar más rápidamente lo que se traduce en una estructura más compacta y continua en comparación con las rugosidades observadas en las muestras de alginato.

Por otro lado, las biopelículas adicionadas con alginato 1 y 2 % (imágenes e y f respectivamente) fueron menos compactas y homogéneas, mostraron resultados de rugosidad e irregularidades a lo largo de toda la biopelícula, además, de presencia de burbujas de aire, líneas y aglomerados de alginato, es importante mencionar que, la rugosidad e irregularidades de las biopelículas aumentaron al aumentar la concentración del alginato como se puede observar en la imagen e. Estos resultados son consistentes con la apariencia de las películas bioactivas de alginato de sodio incorporadas con ácido tánico obtenidas por Li *et al.*, (2022) quienes reportaron una apariencia similar en películas de alginato de sodio adicionadas con ácido tánico en su formulación.

8.6 Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las biopelículas

La morfología superficial de las películas biodegradables obtenidas en este estudio se presenta en la Figura 8.

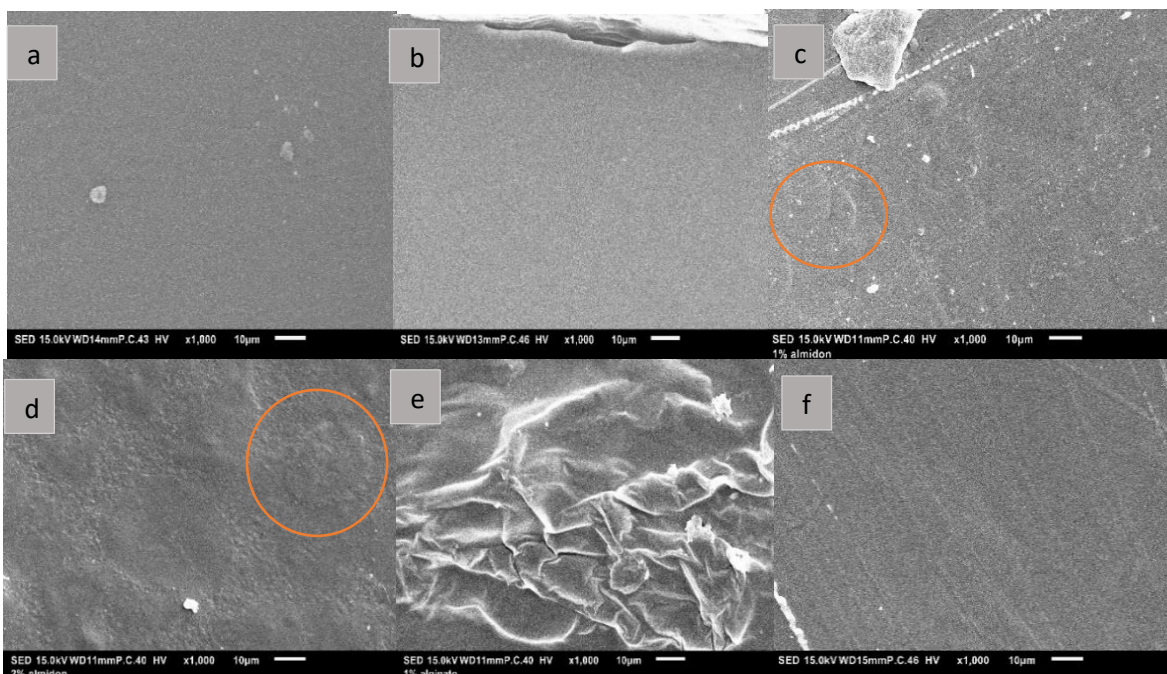


Figura 8: Micrografías de las biopelículas visualizadas a 1000x: a) comercial, b) quitosano, c) 1% almidón, d) 2% almidón, e) 1% alginato, f) 2% alginato

La muestra comercial (a) y la muestra de quitosano (b) presentaron un aspecto liso, homogéneo y continuo, sin presencia de poros ni grietas superficiales. Por otro lado, las biopelículas de quitosano adicionadas con almidón al 1% y 2% (c y d), respectivamente, presentaron una superficie uniforme y con formas circulares en toda la muestra, esto corresponde con lo reportado por Fonseca *et al.*, (2021) en películas a base de almidón de maíz-quitosano y poloxámero. Este resultado puede deberse a la retrogradación del almidón, el cual tiende a reorganizarse en la matriz de quitosano y esas formas circulares corresponden a la superficie de los gránulos del almidón que han liberado su contenido por efecto de la temperatura. De la misma manera Pech-Cohuo *et al.*, (2022) observaron superficies suaves, lisas y continuas, en películas de quitosano y almidón de Ramon (*Brosimum alicastrum*), lo que indica que se formaron estructuras compactas.

Por otro lado, las microestructuras de las biopelículas adicionadas con alginato al 1% y 2% (e y f) respectivamente, se observaron menos homogéneas, presentaron rugosidades, estructuras irregulares y fibrosas, no se observaron poros, pero si racimos

de partículas agregadas de alginato de sodio-quitosano. Otros autores han reportado formaciones similares, tal es el caso de Kuling *et al.*, (2016) en complejos de películas de alginato-quitosano con diferentes polímeros. De la misma manera lo describen Chen *et al.*, (2021) en películas compuestas de timol/alginato de sodio. La microscopía electrónica de barrido (SEM) puede revelar el estado de dispersión de cada fase en el sistema de mezcla y la combinación de las interfases, lo que se considera un índice de evaluación del grado de compatibilidad entre los componentes (almidón y alginato) y la matriz (quitosano), de ahí la importancia de su evaluación.

8.7 Espectro de infrarrojo con transformada de Fourier de las biopelículas

La información obtenida mediante espectroscopía infrarroja es bastante útil para entender las diferencias en composición química y estructural de los polímeros. Los resultados obtenidos mostraron, en general, que las biopelículas estudiadas se componen estructuralmente de las mismas subunidades moleculares y presentan vibraciones en regiones comunes del espectro IR. En la Figura 9, se observan los espectros FTIR en el modo de Transmitancia de la muestra comercial (línea naranja), el control de quitosano (negra), las adicionadas con 1 (roja) y 2 % de almidón (azul) y 1 (verde) y 2% (morada) de alginato.

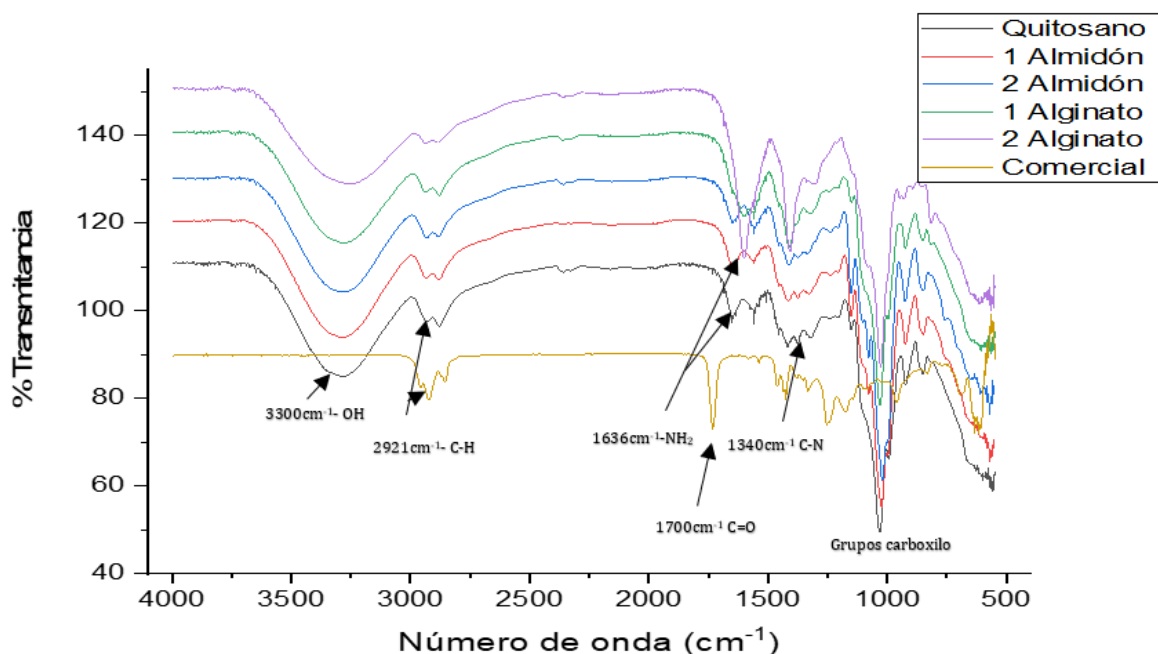


Figura 9: Espectro FTIR de las biopelículas

En el espectro de todas las muestras (excepto la comercial) se presenta una banda amplia e intensa en aproximadamente 3300cm^{-1} , que corresponde a vibraciones de estiramiento debido a los enlaces O-H del agua presentes en las biopelículas, lo que no es posible observar en la muestra comercial (Kulig *et al.*, 2016) debido a la ausencia de agua en su estructura. Se notan en todas las muestras bandas en aproximadamente 2921cm^{-1} correspondientes a movimientos de tensión de los enlaces alifáticos C-H (Velandia, 2018). Otro pico de absorción típico que distingue al quitosano del almidón se atribuye al grupo amino, vibración ubicada en 1636 cm^{-1} , así como el grupo C-N en 1340 cm^{-1} . También se identificaron las tensiones asociadas a los grupos $-\text{CH}_2$ y $-\text{CH}_3$ alifático o aromático entre $500\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ en todas las biopelículas. De igual forma se identificó el grupo carbonilo C=O en el espectro de la muestra comercial y una tensión de enlace fuerte en 1700 cm^{-1} característico del PET y algunos otros plásticos, como el de nuestra muestra, que no es visible en nuestras biopelículas sintetizadas.

Con respecto al análisis de grupos funcionales, se puede concluir que no aparecieron nuevos grupos funcionales en las biopelículas. Durante la mezcla, sólo se produjeron interacciones físicas entre la matriz de quitosano y la adición de almidón (1 y 2%) o alginato (1 y 2%), como lo demuestra el cambio en los números de onda de absorción para un grupo funcional determinado (Hasan *et al.*, 2020). Para el caso del alginato al 2% se observó que, con el aumento de la concentración sobre el quitosano, las bandas de absorción características cambian a un número de onda menor (solo del 1636 y hasta los 500 cm^{-1}), sin embargo, no se observa un cambio en la estructura de las biopelículas, lo cual podría deberse a que se reforzó la interacción entre los materiales poliméricos.

8.8 Propiedades mecánicas y texturales de las biopelículas

Las propiedades mecánicas de los materiales de embalaje como la resistencia mecánica y la flexibilidad, son de las más importantes, debido a que se encuentran relacionadas con la capacidad para resistir factores externos, preservar el rendimiento físico y funcional del embalaje durante el transporte y el almacenamiento de los alimentos (Khwaldia *et al.*, 2023). El módulo elástico, o módulo de Young, describe la rigidez en las películas, un módulo elástico bajo sugiere un material más flexible, es por esto que

los valores deben conocerse para su posterior aplicación (Pech-Cohuo *et al.*, 2022). Los resultados del módulo de elasticidad de las biopelículas se observan en la Tabla 4, además de la resistencia a la tracción (RT), el porcentaje de elongación (E), la fuerza aplicada (F) y el módulo de Young (P).

Tabla 6: Valores de las propiedades mecánicas de las biopelículas

Muestra	comercial	quitosano	1% almidón	2% almidón	1% alginato	2% alginato
RT(MPa)	20.7±3.4a	6.8±1.5b	6.9±1.1b	9.5±0.6b	3±0.4c	1.9±0.3c
E (%)	345±57.3a	113.3±25.2bc	115.5±19.2bc	158.8±10.8b	51.4±8cd	32.2±5.8d
F (N)	2.8±0.7b	3.9±0.4b	3.5±2b	6.8±2b	6.9±3b	17±1.7a
Y (MPa)	0.1±0b	0.5±0b	0.6±0.2b	0.7±0.1b	2.2±0.8b	9±1.7a

Los datos son expresados como la media ± desviación estándar, n=3. Letras diferentes en columnas indican diferencia significativa con un nivel del 95% de confianza.

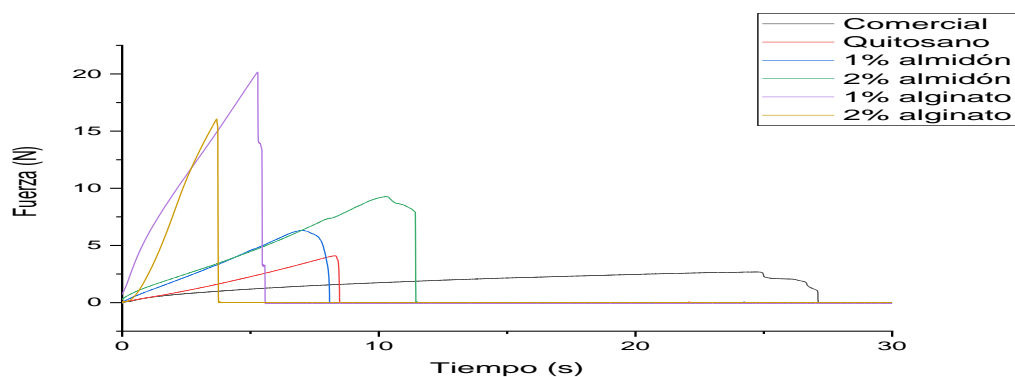


Figura 10: Grafico del módulo de elasticidad de las biopelículas

Como se observa en la Tabla 4, la muestra comercial obtuvo un porcentaje de elongación (E) de 345%; lo que indica que es capaz de resistir un alargamiento de hasta 3.4 veces su tamaño antes de presentar rupturas o deformaciones permanentes y un módulo de Young de 0.1 MPa, lo que indica que es una muestra muy flexible, todo lo anterior al aplicar una fuerza de 2.8 N. Las biopelículas de quitosano mostraron un mayor módulo elástico (0.5 MPa) en comparación con la muestra comercial. De la misma manera esta tendencia se observó en las demás muestras.

Se observó que la incorporación de almidón al 1 y 2% provocó un aumento en la resistencia a la tracción (6.9 y 9.5 MPa) y en el porcentaje de elongación (115.5 y 158.8%) en comparación con la muestra de quitosano; a estas muestras se les aplicó una fuerza de 3.5 y 6.8 N respectivamente. Los datos obtenidos concuerdan con los reportados por Pech-Cohuo *et al.*, (2022), quienes reportaron valores del módulo

elástico y de resistencia a la tracción cercanos en biopelículas de quitosano comercial (3.05 MPa), biopelículas con almidón de semillas de (*Brosimum alicastrum*)(2.49 MPa), y almidón comercial (3.20 MPa). De la misma manera, los porcentajes de elongación y módulos de Young concuerdan con los reportados por Ren *et al.*, (2017) en biopelículas de almidón adicionadas con quitosano (41 y 61%), cuyos reportes mostraron módulos de Young de 9 y 11 MPa y porcentajes de elongación de 110 y 123 % respectivamente.

De la misma manera, las biopelículas adicionadas con alginato al 1 y 2 % mostraron porcentajes de elongación bajos (51.4 y 32.2%) con respecto a la muestra comercial y el control de quitosano. Por otro lado, la muestra adicionada con alginato al 2% presentó un módulo de Young alto (9 MPa) con respecto de todas las otras muestras. Los datos obtenidos concuerdan con los reportados por Biao *et al.*, (2019) en biopelículas bioactivas con polifenoles de té, reportando valores de 33.9% de elongación y un módulo de Young de 9.1 MPa en biopelículas de alginato.

El análisis estadístico arrojó que la resistencia a la tracción es estadísticamente diferente entre las biopelículas y la muestra comercial; en contraste, las biopelículas de quitosano y las adicionadas con almidón, no presentan diferencias estadísticamente significativas, lo que nos podría indicar que al adicionar concentraciones bajas de almidón a las películas de quitosano la resistencia a la tracción no se ve afectada. Por el contrario, si se adiciona alginato en pequeñas concentraciones la resistencia a la tracción disminuye. Así mismo, el porcentaje de elongación y el módulo de Young presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las biopelículas siendo la muestra adicionada con 2% de alginato la que presentó la mayor rigidez y la comercial la de mayor flexibilidad.

8.9 Funcionalidad y eficiencia de las biopelículas en un producto alimenticio

Con base en los resultados y propiedades encontradas se decidió que las pruebas para la evaluación de la funcionalidad se llevarían a cabo en papaya cortada solo con las biopelículas adicionadas con almidón al 1 y 2%, debido a que obtuvieron las mejores propiedades en general y a su potencial como sustitutos de algunos recubrimientos alimenticios. En la figura 11, se observan los resultados después de 7 días de evaluación y en la tabla 7 se observa el peso y porcentaje de masa perdida durante el tratamiento.

Tabla 7: Peso y porcentaje de pérdida de masa

Muestras	P _i (gramos)	P _f (gramos)	% de pérdida
Comercial	19.8	18.4	7.1±0.8b
Quitosano	19.6	8.8	55.1±4.8a
1% almidón	19.4	9.2	52.5±4.7a
2% de almidón	19.4	8.2	57.7±5.2a

Los datos son expresados como la media ± desviación estándar, n=3. Letras diferentes en columnas indican diferencia significativa con un nivel del 95% de confianza.

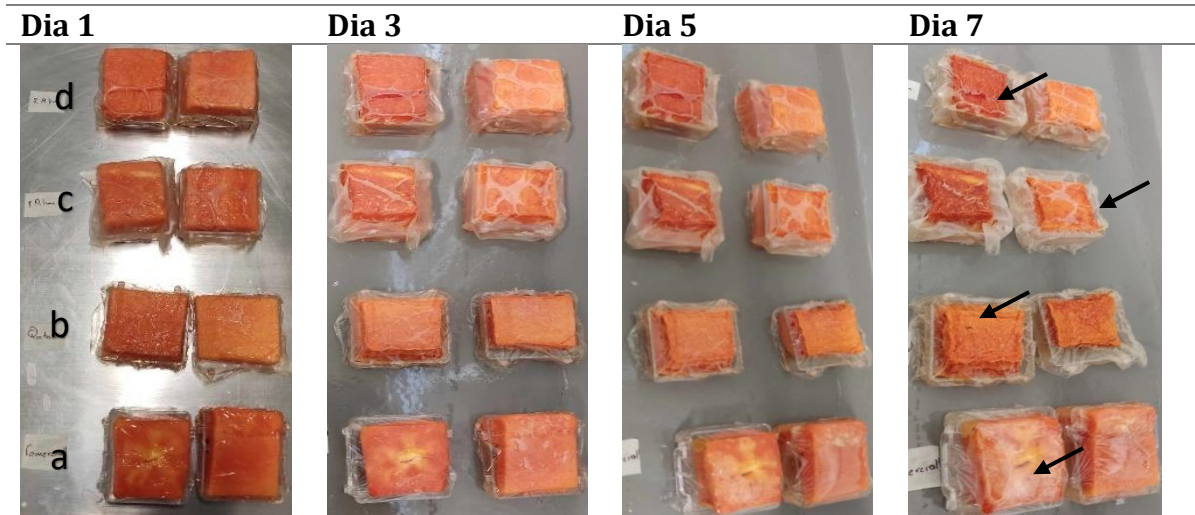


Figura 11: Evaluación de la funcionalidad de las biopelículas como recubrimientos en papaya

Fila a) muestra comercial, b) quitosano, c) 1% de almidón, d) 2% de almidón.

Después de 7 días con el tratamiento la muestra comercial obtuvo un 7.1 % de pérdida de masa, se observó la presencia de material lechoso junto con burbujas de aire, lo que podría explicarse debido al crecimiento de bacterias productoras de CO₂, sin embargo, no se presentaron rupturas ni grietas en el recubrimiento. El control de quitosano presentó un porcentaje de pérdida de masa de 55.1%, se observó transferencia de agua del alimento hacia la biopelícula, y rupturas de esta última debido a los azúcares presentes en la papaya, además de la presencia de larvas de mosca de la fruta, sin embargo, no se observó crecimiento bacteriano. De la misma manera, las biopelículas adicionadas con almidón al 1 y 2% presentaron pérdidas de masa similares a la muestra de quitosano (52.5 y 57.7% respectivamente), se observó absorción de humedad de parte de los recubrimientos y rupturas debido al deterioro de las mismas, pero si presentaron crecimiento de hongos en la parte inferior del recipiente que los contenía,

no se observó crecimiento bacteriano, sin embargo, se observó presencia de moscas de la fruta al séptimo día del tratamiento. El análisis estadístico determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre la muestra comercial pero no entre las biopelículas sintetizadas, por lo que se podría decir que no existe diferencia entre la concentración del almidón y la funcionalidad de la biopelícula como recubrimiento, se observó además que las biopelículas extienden la vida de anaquel de los productos recubiertos, sin embargo, serían mejor opción para productos de baja humedad como algunos quesos, alimentos deshidratados y para algunos tipos de dulces.

IX. Conclusiones

Las biopelículas sintetizadas fueron altamente solubles en agua, en comparación con la muestra comercial, lo cual es beneficioso para diversas aplicaciones en alimentos de baja humedad.

Presentaron mayor grosor, lo que es indicativo de una alta resistencia contra daño mecánico.

La adición de almidón y alginato en las biopelículas provoca una tendencia sobre los colores rojo y azul del espectro.

Las biopelículas presentaron apariencia opaca y fueron maleables, esto es un aspecto benéfico para su aplicación en alimentos con altas tasas de degradación a estrés oxidativo.

Las biopelículas adicionadas con almidón fueron flexibles, y las adicionadas con alginato fueron rígidas.

Se observó que en pequeñas concentraciones hubo buena compatibilidad entre los componentes (quitosano-almidón y quitosano-alginato).

Mientras que a grandes concentraciones la adición de alginato disminuye la resistencia a la tracción, lo cual no sucede con el almidón.

Se obtuvo una baja capacidad de conservación en frutas con alta tasa de humedad.

X. Perspectivas

Se propone, realizar más estudios sobre las propiedades funcionales en diversos alimentos con diferentes características.

Se recomienda, un análisis de propiedades antimicrobianas, biodegradabilidad, permeabilidad al oxígeno y vapor de agua.

Finalmente, podrían realizarse estudios financieros y de mercado para analizar la viabilidad de las biopelículas como posibles sustitutos de recubrimientos comestibles en algunos tipos de alimentos principalmente los de baja humedad.

XI. Referencias

Alizadeh-Sani, M., Mohammadian, E., Rhim, J. W., & Jafari, S. M. (2020). pH-sensitive (halochromic) smart packaging films based on natural food colorants for the monitoring of food quality and safety. *Trends in Food Science and Technology*, 105(August), 93–144. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.014>

Alves, V. D., Mali, S., Beléia, A., & Grossmann, M. V. E. (2007). Effect of glycerol and amylose enrichment on cassava starch film properties. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 941–946. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.12.007>

Anchundia, K., Santacruz, S., & Coloma, J. (2016). Caracterización física de películas comestibles a base de cáscara de plátano (*Musa Paradisiaca*). *Revista Chilena de Nutrición*, 43(4), 394–399. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000400009>

Avenidaño, G., López-Malo, A. & Paolu, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(1), 87-96.

<http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Avendano-Romero-et-al-2013.pdf>

- Azucena Castro-Yobal, M., Contreras-Oliva, A., Saucedo-Rivalcoba, V., Rivera-Armenta, J. L., Hernández-Ramírez, G., Salinas-Ruiz, J., & Herrera-Corredor, A. (2021). Evaluation of physicochemical properties of film-based alginate for food packing applications. *e-Polymers*, 21(1), 82–95. doi:10.1515/epoly-2021-0011
- Badui, D. S. (2012). *Química de los Alimentos*. 5ª edición. Pearson, pp. 78-80.
- Berger, C., Sodha, S., Shaw, R., Griffin, P., Pink, D., Hand, P., y Frankel, G. (2016). Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology*, 18(9), 2357-2373.
- Bernabé P, Becherán L, Cabrera-Barjas G, Nesic, Aleksandra, Alburquenque, Claudio, Tapia C, Toboada E, Alderete J, los Ríos P de. (2020). Chilean crab (*Aegla cholchol*) as a new source of chitin and chitosan with antifungal properties against *Candida* spp. *International journal of biological macromolecules*. 149:962–975. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.126.
- Biao, Y., Yuxuan, C., Qi, T., Ziqi, Y., Yourong, Z., McClements, D. J., & Chongjiang, C. (2019). Enhanced performance and functionality of active edible films by incorporating tea polyphenols into thin calcium alginate hydrogels. *Food Hydrocolloids*, 97(April), 105197. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105197>
- Bósquez Molina E. (2003). “Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka)”. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa. México, 2003.
- Bourtoom, T. (2008). *Edible films and coatings: characteristics and properties*. *International Food Research Journal*, 15(3), 237–248.
- Calva-Estrada, S. J., Jiménez-Fernández, M., & Lugo-Cervantes, E. (2019). Protein-based films: advances in the development of biomaterials applicable to food packaging. *Food Engineering Reviews*, 11, 78–92.
- Cano, A., Jiménez, A., Cháfer, M., González, C., & Chiralt, A. (2014). Effect of amylose:amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. *Carbohydrate Polymers*, 111, 543–555. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.075>
- Castro-Yobal, A., Contreras, M., Saucedo A., Rivera V., Hernández, J., Salinas, J & Herrera, A. (2021). Evaluation of physicochemical properties of film-based alginate for food packing applications. *E-Polymers*, 21(1), 82–95. <https://doi.org/10.1515/epoly-2021-0011>

- Chang, W., Liu, F., Sharif, H. R., Huang, Z., Goff, H. D., & Zhong, F. (2019). Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat. *Food Hydrocolloids*, 90, 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.09.026>
- Díaz-González R. (2015). Films biodegradables antimicrobianos a base de almidón y gelatina. Universitat Politècnica de Valencia, 1-21. <hdl.handle.net/10251/56543>
- Díaz-Montes, E., & Castro-Muñoz, R. (2021). Películas y recubrimientos comestibles como conservantes de la calidad de los alimentos: una descripción general. *Alimentos*, 10(2), 249. doi:10.3390/foods10020249
- Dong, H., Ling, Z., Zhang, X., Zhang, X., Ramaswamy, S., & Xu, F. (2020). Smart colorimetric sensing films with high mechanical strength and hydrophobic properties for visual monitoring of shrimp and pork freshness. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 309(October 2019), 127752. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127752>
- Enríquez, M., Velasco, R., Ortiz, V. (2012). Composición Y Procesamiento De Películas Biodegradables Basadas En Almidón. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(1), 182–192.
- Escobar Guadarrama, J. A. (2020). Elaboración y caracterización de biopelículas elaboradas con quitosano y adicionadas con partículas de almidón. *Universidad Autónoma Del Estado De México*, 1–66.
- Espitia, P. J. P., Du, W., Avena-Bustillos, R de J., Soares, N de F. F., & McHugh, T. H. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids*, 35, 287-296.
- Fernández, H., Bautista, S., Fernández, D., Ocampo, A., García, A., y Falcón, A. (2015). Eatable films and coverings: a favorable alternative in the postharvest conservation of fruits and vegetables. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24(3), 52–57.
- Fonseca-García, A., Jiménez-Regalado, E. J., & Aguirre-Loredo, R. Y. (2021). Preparation of a novel biodegradable packaging film based on corn starch-chitosan and poloxamers. *Carbohydrate Polymers*, 251(August 2020). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117009>
- Galus, S., & Lenart, A. (2013). Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.006>

- Gómez-Guillén, M. C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, M. E., & Giménez, B. (2011). Use of collagen and other proteins for film formation. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1813-1826.
- Hasan, M.; Gopakumar, Deepu A.; Olaiya, N.G.; Zarlaida, Fitri; Alfian, A.; Aprinasari, Cut; Alfatah, Tata; Rizal, Samsul; Khalil, H.P.S. Abdul (2020). *Evaluation of the thermomechanical properties and biodegradation of brown rice starch-based chitosan biodegradable composite films. International Journal of Biological Macromolecules*, 156(), 896–905. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.04.039
- Henriques, M.; Gómez, D.; Pereira, C. (2016). Recubrimientos comestibles de proteína de suero: desarrollos y aplicaciones recientes. en *Tecnologías Emergentes y Tradicionales para Alimentos Seguros, Saludables y de Calidad*; Springer International Publishing: Cham, Suiza; págs. 177–196. ISBN 978-3-319-24038-1
- Hernandez, Laura M.; Xu, Elvis Genbo; Larsson, Hans C. E.; Tahara, Rui; Maisuria, Vimal B.; Tufenkji, Nathalie (2019). *Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. Environmental Science & Technology, acs.est.9b02540*-. doi: 10.1021/acs.est.9b02540
- Katsara, K., Kenanakis, G., Viskadourakis, Z., & Papadakis, V. M. (2021). Polyethylene migration from food packaging on cheese detected by raman and infrared (Atr/ft-ir) spectroscopy. *Materials*, 14(14). <https://doi.org/10.3390/ma14143872>
- Khwaldia, K., M'Rabet, Y., & Boulila, A. (2023). Active food packaging films from alginate and date palm pit extract: Physicochemical properties, antioxidant capacity, and stability. *Food Science and Nutrition*, 11(1), 555–568. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3093>
- Kumar, S., Mukherjee, A., & Dutta, J. (2020). Chitosan based nanocomposite films and coatings: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. *Trends in Food Science and Technology*, 97(August 2019), 196–209. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.002>
- L. A. Galicia-Flores; Salinas-Moreno; Sánchez-Feria, B. M. E.-G. C. (2007). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa l.*) nacional e importada. *revista chapingo serie horticultura*, 14(2), 121–129.
- Leslie, H.A., Depledge, M.H., (2020). Where is the evidence that human exposure to microplastics is safe? *Environ. Int.* 142, 105807. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105807>.
- Li, H., Liu, C., Sun, J., & Lv, S. (2022). Bioactive Edible Sodium Alginate Films Incorporated with Tannic Acid as Antimicrobial and Antioxidative Food Packaging. *Foods*, 11(19). <https://doi.org/10.3390/foods11193044>

- Lizhe Z. Wang; Li Liu; Justin Holmes; John F. Kerry; Joe P. Kerry (2007). Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *42(9)*, 1128–1138. doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01440.x
- López-García, F., & Jiménez-Martínez, C. (2015). Películas biopoliméricas: Aplicaciones para envases y otros productos. En Ramírez-Ortiz, M.E. (Ed.). *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos*. Barcelona, España: OmniaScience. 9-36.
- Matos Gonzáles, C. A. (2020). Revisión de literatura: Biopelículas a base de quitosano como potencial aplicación en empaque de alimentos. *Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras*, 18.
- Mei, J., Yuan, Y., Wu, Y., & Li, Y. (2013). Characterization of edible starch-chitosan film and its application in the storage of Mongolian cheese. *International Journal of Biological Macromolecules*, *57*, 17–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.003>
- Murrieta, Martínez, C. L., Soto-Valdez, H., Pacheco-Aguilar, R., Torres-Arreola, W., Rodríguez-Felix, F., & Márquez Ríos, E. (2018). Edible protein films: Sources and behavior. *Packaging Technology and Science*, *31(3)*, 113–122. doi:10.1002/pts.2360
- Ortega-Toro, R., Muñoz, A., Talens, P. & Chiralt, A. (2016). Improvement of properties of glycerol plasticized starch films by blending with a low ratio of polycaprolactone and/ or polyethylene glycol. *Food Hydrocolloids*, *56*, 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.11.029>
- Parreidt, T. S., Lindner, M., Rothkopf, I., Schmid, M., & Müller, K. (2019). The development of a uniform alginate-based coating for cantaloupe and strawberries and the characterization of water barrier properties. *Foods*, *8*, 1–21.
- Parzanese, M. (2006). *Tecnologías para la Industria Alimentaria - PELÍCULAS Y RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_07_PeliculaComestible.pdf
- Pavinatto A, Almeida A, Granato A, Hitomi M, Balogh D, Sanfelice R. (2019). Coating with chitosan-based edible films for mechanical/biological protection of strawberries. *International journal of biological macromolecules*. 151:1004–1011. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.11.076.
- Pech-Cohuo, S., López, M., Uribe, J., González, N., Salgado, I., May, A., Cuevas. C., Ayora, T., Cervantes, M., y Pacheco, N. (2022). Physicochemical, Mechanical, and Structural Properties of Bio-Active Films Based on Biological-Chemical Chitosan, a Novel Ramon (Brosimum alicastrum) Starch, and Quercetin. *Polymers*, *14(7)*. <https://doi.org/10.3390/polym14071346>

- Pereira V, Queiroz N, Stefani R. (2015). Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleracea* (Red Cabbage) as time-temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food hydrocolloids*. 43:180-188. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.05.014.
- Puligundla, P., Jung, J. & Ko, S. (2012). Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. *Food Control*, 25(1), 328-333. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.043>
- Quispe, CAG, Coronado, CJR y Carvalho Jr., JA (2013). Glicerol: Producción, consumo, precios, caracterización y nuevas tendencias en combustión. *Revisiones de energía renovable y sostenible*, 27, 475-493. doi:10.1016/j.rser.2013.06.017
- Ramos-García, M. D. L., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L., Bósquez-Molina, E., Alia-Tejacal, I. & Estrada-Carrillo, M. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(1), 44-57. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v28n1/v28n1a5.pdf>
- 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.
- Rezaei, M. & Motamedzadegan, A. (2015). The Effect of Plasticizers on Mechanical Properties and Water Vapor Permeability of Gelatin-Based Edible Films Containing Clay Nanoparticles. *World Journal of Nano Science and Engineering*, 5(04), 178. DOI: 10.4236/wjnse.2015.54019
- Ribeiro, A. M., Estevinho, B. N., & Rocha, F. (2020). Preparation and Incorporation of Functional Ingredients in Edible Films and Coatings. *Food and Bioprocess Technology*. doi:10.1007/s11947-020-02528-4
- Rodríguez-Sauceda, R., Rojo-Martínez, G. E., Martínez-Ruiz, R., Piña-Ruiz, H. H., Ramírez-Valverde, B., Vaquera-Huerta, H. & Cong-Hermida, M. D. L. C. (2014). Envases inteligentes para la conservación de alimentos. *Ra Ximhai*, 10(6), 151-173. <http://www.redalyc.org/pdf/461/46132135012.pdf>
- Rozo, G., Gómez, D., & Rozo, C. (2016). Effect of an alginate edible film coating in the conservation of welsh onion (*Allium fistulosum* L.). *Vitae*, 23, S419-S423.
- Salama A, Hasanin M, Hesemann P. 2020. Synthesis and antimicrobial properties of new chitosan derivatives containing guanidinium groups. *Carbohydrate Polymers*. 241. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116363.
- Sánchez Aldana, D., Contreras-Esquivel, J. C., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. (2015). Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y

aceite esencial de limón Mexicano. *CYTA - Journal of Food*, 13(1), 17–25.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2014.904929>

Santacruz S. Rivadeneira C. Castro M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocolloids*; 49, 89-4.

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.

Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., & Jiménez-Martínez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 21, 30.
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.153>

Song, J., Kim, Y., & Kim, S. (2017). Oxygen permeability of plastic packaging films and its impact on food quality: a review. *Food Control*, 73, 302-312.

Sun L, Sun J, Chen L, Niu P, Tang X, Guo Y. 2017. Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers*. 163:81–91. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.01.016

Tahir HE, Xiaobo Z., Mahunu GK, Arslan M., Abdalhai M., Zihua L. (2019). Desarrollos recientes en aplicaciones de revestimiento comestible de goma para la conservación de frutas y verduras: una revisión. *Carbohidr. polim.* 224 :115141. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115141.

Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., & Masoudpour-Behabadi, M. (2016). Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 137, 360–374.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.074>

Ting, Y., Gu, S., Zhu, Z., Ren, H., & Feng, J. (2019). Application of edible coatings on fruits and vegetables. In *Advances in postharvest fruit and vegetable technology* (pp. 147-176). Woodhead Publishing.

Tzia, C., Tasios, L., Spiliotaki, T., Chranioti, C., & Giannou, V. (2016). Edible Coatings and Films Fruits and Vegetables. 531–570.

Velandia, J. R. (2017). Identificación de polímeros por espectroscopía infrarroja. *Revista Ontare*. 5, p 115-140

- Villada, H. S., Acosta, H., & Velasco, R. (2007). Biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables. *Temas Agrarios*, 12(2), 5–13. <https://doi.org/10.21897/rta.v12i2.652>
- Wang, H., Gong, X., Miao, Y., Guo, X., Liu, C., Fan, Y. Y., Zhang, J., Niu, B., & Li, W. (2019). Preparation and characterization of multilayer films composed of chitosan, sodium alginate and carboxymethyl chitosan-ZnO nanoparticles. *Food Chemistry*, 283(August 2018), 397–403. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.022>
- Wang, L. Z., Liu, L., Holmes, J., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. (2007). Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(9), 1128–1138. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01440.x>
- Wright SL, Kelly FJ. (2017). Plastic and Human Health: A Micro Issue? *Environ Sci Technol*. Jun 20;51(12):6634-6647. doi: 10.1021/acs.est.7b00423. Epub 2017 Jun 7. PMID: 28531345.
- 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.
- Yang, L.; Paulson, A. Efectos de los lípidos sobre las propiedades de barrera mecánicas y contra la humedad de la película de gelán comestible. *Alimentos Res*. En t. 2000, 33, 571–578.
- Yoksan, R. and Yokesahachart, C. (2011). Effect of amphiphilic molecules on characteristics and tensile properties of thermoplastic starch and its blends with poly(lactic) acid. *Carbohydrate Polymers*, 83 (1), p. 22-31.
- Yoshida, C. M. P., Maciel, V. B. V., Mendonça, M. E. D., & Franco, T. T. (2014). Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.015>
- Younes I, Rinaudo M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources: Structure, properties and applications. *Marine Drugs*. 13(3):113 3–1174. <http://doi:10.3390/md13031133>