

Índice de contenidos

I.	INTRODUCCIÓN.....	2
I.1.	Envasado de productos alimenticios	2
I.1.1.	Principales polímeros sintéticos utilizados en el envasado de alimentos .	8
I.1.1.1.	Propiedades y tipos de plásticos.....	11
I.1.1.1.1.	Producción y consumo.....	18
I.1.1.1.2.	Efecto sobre el medio ambiente y la salud.....	21
I.2.	Vegetales mínimamente procesados.....	29
I.3.	Recubrimientos biodegradables	39
I.3.1.	Envases activos	47
I.4.	Quitina y quitosano.....	53
I.4.1.	Extracción de quitina	57
I.4.2.	Obtención de quitosano	59
I.4.2.1.	Caracterización	63
I.4.2.2.	Propiedades biológicas	66
I.4.2.3.	Propiedades antimicrobianas	67
I.4.2.4.	Capacidad formadora de film	69
I.4.2.5.	Propiedades antioxidantes	70
I.4.2.5.1.	Quitosano como envase bioactivo antioxidante	72
I.4.2.6.	Otras propiedades biológicas de interés	74
I.4.3.	Funcionalización del quitosano.....	78
I.5.	Quercetina	87
II.	OBJETIVOS.....	99
II.1.	Objetivo general	99

Índice de contenidos

II.2. Objetivos específicos	99
III. MATERIALES Y MÉTODOS	102
III.1. Reactivos	102
III.2. Microorganismos y medios de cultivo	103
III.2.1. Medios de cultivo.....	104
III.3. Metodología.....	106
III.3.1. Caracterización del Ch nativo	106
III.3.1.1. Grado de acetilación (% GDA).....	106
III.3.1.1.1. Por titulación potenciométrica	106
III.3.1.1.2. Por espectroscopía IR	107
III.3.1.2. Determinación del peso molecular (PM).....	108
III.3.1.2.1. Por viscosimetría.....	108
III.3.1.2.2. Por cromatografía de exclusión molecular (SEC).....	111
III.3.2. Derivatización del quitosano	111
III.3.3. Caracterización química del Ch derivatizado	114
III.3.3.1. Cuantificación de polifenoles y eficiencia de reacción de derivatización.....	114
III.3.3.2. Propiedad antioxidante	115
III.3.3.2.1. Desactivación de $O_2^{\bullet-}$	116
III.3.3.2.2. Desactivación de $\cdot OH$: Método de la desoxirribosa	117
III.3.4. Obtención del film biodegradable	118
III.3.4.1. Film a base de Ch nativo y Ch derivatizado	118
III.3.5. Caracterización del film biodegradable	119

Índice de contenidos

III.3.5.1. Propiedades físico-químicas	119
III.3.5.1.1. Medida del espesor y densidad del film	119
III.3.5.1.2. Propiedades ópticas.....	120
III.3.5.1.3. Contenido de humedad y solubilidad en agua	121
III.3.5.2. Propiedades mecánicas	122
III.3.5.3. Propiedades barrera	123
III.3.5.3.1. Permeabilidad al vapor de agua	123
III.3.5.3.2. Permeabilidad al oxígeno y al dióxido de carbono	124
III.3.5.4. Propiedades microbiológicas	125
III.3.5.4.1. Capacidad antimicrobiana <i>in vitro</i>	125
III.3.5.5. Propiedades antioxidantes	126
III.3.5.5.1. Desactivación de radical $O_2^{\bullet-}$ y $\bullet OH$	126
III.3.6. Estabilidad de vegetales recubiertos	127
III.3.6.1. Capacidad antimicrobiana	127
III.3.6.1.1. Procedimiento para el análisis microbiológico	128
III.3.6.1.2. Análisis estadístico de los resultados.....	134
III.3.6.2. Actividad antioxidante	135
III.3.6.2.1. Determinación del contenido de AA.....	136
III.3.6.2.2. Determinación del contenido de β -caroteno	139
III.3.6.2.3. Análisis estadístico de los resultados.....	143
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	145
IV. 1.Caracterización del quitosano nativo	145
IV. 1.1. Determinación del grado de desacetilación (% DGA).....	145

Índice de contenidos

IV. 1.2. Determinación del peso molecular (PM).....	148
IV.2. Derivatización del quitosano	151
IV.2.1. Seguimiento de reacción de oxidación de Q con CPO.....	151
IV.3 Caracterización química del Ch derivatizado.....	152
IV.3.1 Cuantificación de polifenoles y eficiencia de reacción de derivatización	152
IV.3.2 Propiedades antioxidantes de la molécula derivatizada	154
IV.3.2.1. Desactivación de $O_2^{\bullet-}$	154
IV.3.2.2. Desactivación de $\bullet OH$	156
IV.4. Caracterización del film biodegradable	161
IV.4.1. Propiedades físico-químicas y propiedades barrera	161
IV.4.1.1. Medida del espesor y densidad, y permeabilidad al O_2 , CO_2 y vapor de agua.....	161
IV.4.2. Propiedades ópticas	178
IV.4.3. Contenido de humedad y solubilidad en agua	180
IV.4.4. Propiedades mecánicas	182
IV.4.5. Propiedades microbiológicas.....	185
IV.4.5.1. Capacidad antimicrobiana <i>in vitro</i>	185
IV.4.6. Propiedades antioxidantes	191
IV.5. Estabilidad de vegetales recubiertos.....	194
IV.5.1. Capacidad antimicrobiana	194
IV.5.1.1. Recuento de <i>S. aureus</i>	195
IV.5.1.2. Recuento de bacterias coliformes totales	195

Índice de contenidos

IV.5.1.3. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios totales	197
IV.5.1.4. Recuento de hongos y levaduras.....	199
IV.5.1.5. Recuento de microorganismos psicrótrofos	204
IV.5.2. Actividad antioxidante	210
IV.5.2.1. Determinación del contenido de ácido ascórbico	210
IV.5.2.2. Determinación del contenido de β -caroteno	216
V. CONCLUSIONES.....	224
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	230

Índice de figuras

FIGURA 1. PRODUCCIÓN DE PLÁSTICOS A NIVEL MUNDIAL 1950-2008 (ADAPTADO DE <i>PLASTIC WASTE: ECOLOGICAL AND HUMAN HEALTH IMPACTS, 2011</i>).	20
FIGURA 2. PROPORCIÓN DE RESIDUOS PLÁSTICOS POST-CONSUMO CLASIFICADOS SEGÚN SU FUNCIÓN (ADAPTADO DE <i>PLASTIC WASTE: ECOLOGICAL AND HUMAN HEALTH IMPACTS, 2011</i>).	24
FIGURA 3. DIAGRAMA DE FRUJO DE PROCESAMIENTO MÍNIMO DE VEGETALES (<i>PARZANESE, 2011</i>).	37
FIGURA 4. BIOPOLIMÉRICOS DE ORIGEN NATURAL USADOS, SOLOS O EN COMBINACIÓN, PARA FORMULAR RECUBRIMIENTOS BIODEGRADABLES (ADAPTADO DE <i>THARANATHAN, 2003</i>)	42
FIGURA 5. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS RECUBRIMIENTOS BIODEGRADABLES APLICADOS A FRUTAS Y VERDURAS FRESCAS (ADAPTADO DE <i>LIN Y COL., 2007</i>).....	44
FIGURA 6. DIAGRAMA PRESENTANDO LAS 3 ESTRUCTURA POLIMÓRFICAS DE LA QUITINA: (A) A- QUITINA (B) B-QUITINA (C) A- QUITINA (ADAPTADO DE <i>AHMED Y IKRAM, 2015</i>)	55
FIGURA 7. ESTRUCTURA QUÍMICA DE (A) CELULOSA Y (B) QUITINA (ADAPTADO DE <i>GUPTA Y RAVI KUMAR, 2000</i>).....	56
FIGURA 8. OBTENCIÓN DE QUITINA POR EL MÉTODO QUÍMICO Y BIOLÓGICO (ADAPTADO DE <i>ARBIA Y COL., 2013</i>)	58
FIGURA 9. OBTENCIÓN DE CH A PARTIR DE QUITINA (MÉTODO QUÍMICO Y ENZIMÁTICO) (ADAPTADO DE <i>AHMED Y COL., 2015</i>).....	60
FIGURA 10. GRUPOS FUNCIONALES REACTIVOS DEL CH (ADAPTADO DE <i>MOURYA Y INAMDAR, 2008</i>)	62
FIGURA 11. MECANISMO DE REACCIÓN DE OXIDACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR POD EN PRESENCIA DE CH (ADAPTADO DE <i>ALJAWISH Y COL., 2015</i>)	81
FIGURA 12. A) ESQUEMA MOLECULAR DE LA PROTOPORFIRINA DE HIERRO IX, GRUPO HEMO DE LAS POD. B) DIAGRAMA DE CINTA DE CPO CON EL GRUPO HEMO EN COLOR ROJO. (<i>TERÁN Y COL., 2013</i>)	82
FIGURA 13. CICLO CATALÍTICO DE LA ENZIMA POD. (ADAPTADO DE <i>TERÁN Y COL., 2013</i>)....	84
FIGURA 14. OXIDACIÓN ENZIMÁTICA CATALIZADA POR POD SOBRE COMPUESTOS FENÓLICOS (ADAPTADO DE <i>HOLLMANN Y COL., 2012</i>).....	85
FIGURA 15. ESTRUCTURA BÁSICA DE UN FLAVONOIDE (<i>PIETTA, 2000</i>)	87
FIGURA 16. ESTRUCTURA DE VARIAS CLASES DE FLAVONOIDES. (A) FLAVONAS; (B) FLAVONOLES; (C) ISOFLAVONAS; (D) FLAVANONAS (ADAPTADO DE <i>PIETTA, 2000</i>).	89
FIGURA 17. ESTRUCTURA DE LA Q Y ESPECTRO DE ABSORCIÓN UV-VIS.	94
FIGURA 18. TRIÁNGULO DE HAUG (<i>GARTNER Y LÓPEZ, 2010</i>).....	110

Índice de figuras

FIGURA 19. MECANISMO DE REACCIÓN DE CH CON Q: OXIDACIÓN ENZIMÁTICA DE Q, FORMACIÓN DE QUINONA Y OBTENCIÓN DEL ADUCTO Q-CH (TORRES Y COL., 2012)....	112
FIGURA 20. ESQUEMA DEL PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ZANAHORIA PARA REALIZAR EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO (ADAPTADO DE CAMACHO, 2009).....	129
FIGURA 21. DIAGRAMA REPRESENTATIVO DE LAS ETAPAS NECESARIAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE β -CAROTENO DE MUESTRAS DE ZANAHORIAS....	142
FIGURA 22. CURVA DE TITULACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE UNA SOLUCIÓN DE CH NATIVO DE 1G/L.....	146
FIGURA 23. SEGUNDA DERIVADA DE LA FUNCIÓN QUE REPRESENTA LA CURVA DE pH VS. VOLUMEN DE NAOH GASTADOS PARA CH NATIVO	146
FIGURA 24. ESPECTRO DE ABSORCIÓN EN IR DE LA MOLÉCULA DE CH NATIVO.	147
FIGURA 25. VISCOSIDAD REDUCIDA ($H_{REDUCIDA}$) FRENTE A LA CONCENTRACIÓN DE CH.	149
FIGURA 26. ESPECTRO DE ABSORCIÓN DE Q QUE MUESTRA EL SEGUIMIENTO DEL AVANCE DE REACCIÓN DE SU OXIDACIÓN BIOLÓGICA CON ENZIMA CPO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO: Q SIN MODIFICAR (—); Q MODIFICADA LUEGO DE 4 MIN DE REACCIÓN (—).....	151
FIGURA 27. CURVA DE CALIBRACIÓN DE QUERCETINA. VALORES DE ABSORBANCIA A $\lambda=750$ NM A DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL ESTÁNDAR.	153
FIGURA 28. % DESACTIVACIÓN COMPARATIVA (%) ENTRE MOLÉCULA DE CH Y CH-Q, FRENTE A $O_2^{\cdot-}$ EN FUNCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES EVALUADAS (0,11, 0,22 Y 0,44 MG/ML).	155
FIGURA 29. % DESACTIVACIÓN COMPARATIVA (%) ENTRE MOLÉCULA DE CH Y CH-Q, FRENTE A $\cdot OH$ EN FUNCIÓN DE LAS CONCENTRACIONES EVALUADAS (0,11, 0,22 Y 0,44 MG/ML)	157
FIGURA 30. GRUPOS IMPORTANTES PARA UNA EFECTIVA ACTIVIDAD EN LOS FLAVONOIDES CONTRA LAS EROS. A) GRUPO CATECOL, B) GRUPO 4-OXO EN ANILLO C Y DOBLE ENLACE C2-C3, C) 3-, 5-OH EN ANILLO C Y A (JANEIRO Y COL., 2005).....	160
FIGURA 31. MECANISMO GENERAL DE PERMEACIÓN DE UN GAS O VAPOR DE AGUA A TRAVÉS DE UN FILM PLÁSTICO (SIRACUSA, 2012)	168
FIGURA 32. PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA Y AL O_2 PARA DIFERENTES POLÍMEROS SINTÉTICOS (ESPESOR DEL MATERIAL: 100 μm , TEMPERATURA: 23°C) Y EL FILM A BASE DE CH Y CH-Q. LDPE: POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD, EVA: ETILENVINILACETATO, PP: POLIPROPILENO, BOPP: POLIPROPILENO BIORIENTADO, PVC: CLORURO DE POLIVINILO, PET: TEREFALATO DE POLIETILENO, PA6: POLIAMIDA, PEN: NAFTALATO	

Índice de figuras

DE POLIETILENO, PAN: POLIACRILONITRILO, PVDC: CLORURO DE POLIVINILIDENO, EVOH: ETILEN-VINIL ALCOHOL, LCP: POLÍMERO DE CRISTAL LÍQUIDO. (ADAPTADO DE <i>LÁMINAS PARA EL ENVASADO. GUÍA TÉCNICA. PENTAFOOD</i>).....	176
FIGURA 33. VIABILIDAD DE <i>E. COLI</i> EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE CONTACTO CON EL FILM A BASE DE CH (A); Y CON EL FILM A BASE DE CH-Q (B): BUFFER PH=6,8 (◆); BUFFER PH=6,8 + FILM (●); BUFFER PH=5,0 (▲).	186
FIGURA 34. VIABILIDAD DE <i>S. AUREUS</i> EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE CONTACTO CON EL FILM A BASE DE CH (A); Y CON EL FILM A BASE DE CH-Q (B): BUFFER PH=6,8 (◆); BUFFER PH=6,8 + FILM (●); BUFFER PH=5,0 (▲).	187
FIGURA 35. EFECTO DE LOS RECUBRIMIENTOS FRENTE A HONGOS Y LEVADURAS DE ZANAHORIAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS ALMACENADAS A 4 °C DURANTE 14 DÍAS.	201
FIGURA 36. EFECTO DE LOS RECUBRIMIENTOS FRENTE A BACTERIAS PSICRÓTROFAS DE ZANAHORIAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS ALMACENADAS A 4 °C DURANTE 14 DÍAS.	206
FIGURA 37. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL AA (<i>FRENICH Y COL., 2005</i>)	211
FIGURA 38. CROMATOGRAMA DE MUESTRAS DE ZANAHORIAS A TIEMPO 0 (LÍNEA VERDE Y AZUL), Y LUEGO DE 3 DÍAS DE REFRIGERACIÓN, POR DUPLICADO Y CUANTIFICADO POR MÉTODO DE ESTÁNDAR EXTERNO CON ADICIONES DE 5 MG/100G (LÍNEA NEGRA) Y 10 MG/100G (LÍNEA ROSA).....	212
FIGURA 39. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL B-CAROTENO (<i>FRENICH Y COL., 2005</i>).....	216
FIGURA 40. CROMATOGRAMA DE MUESTRA DE ZANAHORIA A TIEMPO 0D.	216
FIGURA 41. PORCENTAJE DE RETENCIÓN DE B-CAROTENO DE ZANAHORIAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS ALMACENADAS BAJO REFRIGERACIÓN DURANTE 10 DÍAS, SR (LÍNEA AZUL), CH (LÍNEA AMARILLA), CH-Q (LÍNEA VERDE).....	218

Índice de tablas

TABLA 1. VALORES COMPARATIVOS DE % GDA SEGÚN METODOLOGÍA APLICADA.	148
TABLA 2. PESO MOLECULAR DE CH NATIVO SEGÚN MÉTODO VISCOSIMÉTRICO Y SEC	150
TABLA 3. PORCENTAJES DE DESACTIVACIÓN (%D) DE RADICAL $O_2^{\bullet-}$ POR CH NATIVO Y CH DERIVATIZADO (CH-Q).	155
TABLA 4. PORCENTAJES DE DESACTIVACIÓN (%D) DE RADICAL $\bullet OH$ POR CH NATIVO Y CH DERIVATIZADO (CH-Q).	157
TABLA 5. EFECTO DE LA DERIVATIZACIÓN DE CH NATIVO CON Q SOBRE EL ESPESOR, DENSIDAD Y PROPIEDADES BARRERA DEL FILM.	162
TABLA 6. EFECTO DE LA DERIVATIZACIÓN DE CH NATIVO CON Q SOBRE LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DEL FILM.	178
TABLA 7. EFECTO DE LA DERIVATIZACIÓN DE CH NATIVO CON Q SOBRE EL CONTENIDO DE HUMEDAD Y SOLUBILIDAD EN AGUA DEL FILM	181
TABLA 8. EFECTO DE LA DERIVATIZACIÓN DE CH NATIVO CON Q SOBRE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS: TS, Y %E	183
TABLA 9. PORCENTAJE DE REDUCCIÓN (%R) DE <i>E. COLI</i> Y <i>S. AUREUS</i> EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE CONTACTO CON EL FILM A BASE DE CH Y CH-Q.	188
TABLA 10. PORCENTAJE DE DESACTIVACIÓN (% D) FRENTE A RADICAL $O_2^{\bullet-}$ Y $\bullet OH$ DE LA FRACCIÓN SOLUBLE (0,38 MG/ML) DE LAS PELÍCULAS DE CH Y CH-Q.	192
TABLA 11. TEST LSD PARA LOG UFC/G DE MICROORGANISMOS MESÓFILOS POR TRATAMIENTO APLICADO A LAS MUESTRAS AL INICIO DEL ENSAYO. SE PRESENTAN LOS VALORES MEDIOS DE LOG UFC/G Y EL VALOR DE DESVIACIÓN ESTANDAR. LETRAS IGUALES NO PRESENTAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS	198

Índice de tablas

TABLA 12. TEST DE HIPÓTESIS PARA MICROORGANISMOS MESÓFILOS. HIPÓTESIS NULA: DIFERENCIA ENTRE MEDIAS = 0,0. HIPÓTESIS ALTERNATIVA: DIFERENCIA ENTRE MEDIAS \neq 0,0.....	199
TABLA 13. RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURAS (LOG UFC/G) EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO Y %R OBTENIDOS ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS EVALUADOS.....	200
TABLA 14. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA HONGOS Y LEVADURAS A LOS TIEMPOS 0, 4, 8 Y 14 DÍAS DE ALMACENAMIENTO BAJO REFRIGERACIÓN DE LAS MUESTRAS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS (SR, CH, CH-Q).....	202
TABLA 15. TEST LSD PARA LOG UFC/G DE HONGOS Y LEVADURAS POR TRATAMIENTO APLICADO A LAS MUESTRAS A LOS 4 TIEMPOS EVALUADOS. SE PRESENTAN LOS VALORES MEDIOS DE LOG UFC/G Y EL VALOR DE DESVIACIÓN ESTANDARD. LETRAS IGUALES NO PRESENTAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS.....	203
TABLA 16. TEST DE HIPÓTESIS PARA HONGOS Y LEVADURAS. HIPÓTESIS NULA: DIFERENCIA ENTRE MEDIAS = 0,0. HIPÓTESIS ALTERNATIVA: DIFERENCIA ENTRE MEDIAS \neq 0,0.....	204
TABLA 17. RECUENTO DE MICROORGANISMOS PSICRÓTROFOS (LOG UFC/G) EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO Y %R OBTENIDOS ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS EVALUADOS.....	205
TABLA 18. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA PSICRÓTROFOS A LOS TIEMPOS 0, 4, 8 Y 14 DÍAS DE ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN DE LAS MUESTRAS CON DIFERENTES RECUBRIMIENTOS.....	207
TABLA 19. TEST LSD PARA LOG UFC/G DE MICROORGANISMOS PSICRÓTROFOS POR TRATAMIENTO APLICADO A LAS MUESTRAS A LOS 4 TIEMPOS EVALUADOS. SE PRESENTAN LOS VALORES MEDIOS DE LOG UFC/G Y EL VALOR DE DESVIACIÓN ESTANDARD. LETRAS IGUALES NO REPRESENTAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS.....	208

Índice de tablas

TABLA 20. TEST DE HIPÓTESIS PARA MICROORGANISMOS PSICRÓTROFOS. HIPÓTESIS NULA: DIFERENCIA ENTRE MEDIAS = 0,0. HIPÓTESIS ALTERNATIVA: DIFERENCIA ENTRE MEDIAS \neq 0,0.....	209
TABLA 21. CONTENIDO DE β -CAROTENO (MG/100G) DE LAS MUESTRAS DE ZANAHORIAS SR, CH Y CH-Q A LOS TIEMPOS 0, 3, 7 Y 10 DÍAS DE ALMACENAMIENTO BAJO REFRIGERACIÓN	219
TABLA 22. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA β -CAROTENO A LOS TIEMPOS 3, 7 Y 10 DÍAS DE ALMACENAMIENTO BAJO REFRIGERACIÓN DE LAS MUESTRAS CON DIFERENTES TRATAMIENTOS (SR, CH, CH-Q).....	220
TABLA 23. TEST LSD PARA CONTENIDO DE β -CAROTENO (MG/100G) POR TRATAMIENTO APLICADO A LAS MUESTRAS A LOS 3 TIEMPOS EVALUADOS. SE PRESENTAN LOS VALORES MEDIOS DEL CONTENIDO DE β -CAROTENO Y EL VALOR DE DESVIACIÓN ESTANDARD. LETRAS IGUALES NO REPRESENTAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS.....	220
TABLA 24. TEST DE HIPÓTESIS PARA β -CAROTENO. HIPÓTESIS NULA: DIFERENCIA ENTRE MEDIAS = 0,0. HIPÓTESIS ALTERNATIVA: DIFERENCIA ENTRE MEDIAS \neq 0,0	221