

**UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA**



**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE QUITOSANO EN LAS PROPIEDADES  
MECÁNICAS, PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA Y OXÍGENO,  
BRILLO Y MICROESTRUCTURA EN FILMS COMESTIBLES A BASE DE  
ALMIDÓN DE TRIGO**

**MÁSTER EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS**

Presentado por:  
Iván Darío Salgado González

Directoras académicas:  
Lorena Atarés Huerta  
Maria Vargas Colás

Directora Experimental:  
Jeannine Bonilla Lagos

# **EFFECTO DE LA ADICIÓN DE QUITOSANO EN LAS PROPIEDADES MECANICAS, PERMEABILIDAD AL VAPOR DE AGUA Y OXYGENO, BRILLO Y MICROESTRUCTURA EN FILMS COMESTIBLES A BASE DE ALMIDÓN DE TRIGO**

## **RESUMEN**

Se elaboraron películas comestibles de almidón de trigo nativo (WS) y se evaluó la adición de diferentes concentraciones de quitosano (CH). Se adicionó glicerol como plastificante y fueron acondicionados a 5°C-58%HR y 25°C-53%HR. Se caracterizaron las propiedades de la emulsión (reología, potencial- $\zeta$ ) y en los films fueron determinadas en sus propiedades mecánicas, barreras al vapor de agua y al oxígeno, microestructura y brillo. Se observó que al adicionar CH en la formulación se mejoran levemente las propiedades mecánicas ( $P < 0,05$ ), así como una mejora en las propiedades barrera tanto al vapor de agua y oxígeno, pero sin presentar diferencias significativas. Los films presentaron una estructura compacta y homogénea, sin presencia de poros ni separación de fases. El brillo de estos, aumento con la sustitución del WS por CH en la formulación.

**Palabra clave:** Películas comestibles, almidón de trigo, quitosano.

## **RESUM**

Es van elaborar films comestibles a base de midó de blat natiu (WS) i es va avaluar l'addició de diferents concentracions de quitosano (CH). Es va addicionar glicerol com a plastificant i van ser condicionats a temperatures de 5°C-50%HR i 25°C-53%HR. Es van caracteritzar les propietats de l'emulsió (reologia, potencial  $\zeta$ ), i dels films, se'n van determinar les seues propietats mecàniques, les barreres al vapor d'aigua i a l'oxigen, la microestructura i la brillantor. Es va observar que en addicionar CH a la formulació, es millora lleument les propietats mecàniques ( $P < 0,05$ ), així com una millora en les propietats barrera tant al vapor d'aigua com a l'oxigen, però sense presentar diferències significatives. Els films van presentar una estructura compacta i homogènia, sense presència de porus ni sense separació de fases. La brillantor de estos, augment amb la substitució del WS per CH en la formulació.

**Paraules clau:** Films comestibles, midó de blat, quitosano

## **ABSTRACT**

Edible films were made out of native wheat starch (WS) addition of different concentrations of chitosan (CH) were evaluated. Glycerol was added as a

plasticizer. The films were conditioned at 5°C-58%RH y 25°C-53% RH. Dispersions were characterized in their rheology and  $\zeta$  - potential. The films were characterized in their mechanical properties, water vapor and oxygen permeability, microstructure and gloss. It was observed that, by adding CH into the formulation, the mechanical properties, the water vapor and oxygen permeability were slightly improved. The films showed a homogenous and compact structure without the presence of pores, or phase separation. Gloss on the films increased by replacing WS by CH into the formulation.

**Keyword:** Edible film, wheat starch, chitosan.

## INTRODUCCIÓN

El estudio de las películas comestibles se ha puesto en auge en los últimos años, no solo porque su desarrollo significa un impacto importante en la conservación del medio ambiente por presentarse como un plástico renovable y biodegradable en comparación con el plástico sintético común (Cutter, 2006), sino también por las ventajas funcionales que permiten estos biopolímeros al ser soporte de agentes antioxidantes y antimicrobianos. Sin embargo su permeabilidad y propiedades mecánicas son generalmente más pobres que las películas sintéticas comunes (Kester y Fennema, 1986).

El almidón es un polímero compuesto por anhidroglucosa. Está constituido por dos tipos de polímeros de glucosa, una molécula de cadena lineal denominada amilosa y un polímero ramificado de glucosa llamado amilopectina (Rodríguez et al, 2006). Los almidones han sido ampliamente estudiados para la producción de películas biodegradables por su bajo costo, origen renovable y adecuadas propiedades mecánicas (Xu et al, 2005). Para formar las películas de almidón es necesario incorporar plastificantes como el glicerol (Arvaritoyannis, 1998; Arvaritoyannis et al. 1996, Sobral et al. 2001). Se ha observado que este plastificante es compatible con el polímero y aumenta la flexibilidad de las películas de almidón.

El quitosano (CH) es un polímero natural que se obtiene a partir de la desacetilización de la quinina presente en el exoesqueleto de los crustáceos, presentando un alto potencial para su uso en la industria alimentaria por su actividad antimicrobiana, antioxidante (Dutta et al., 2009; Kumar, 2000). Su aplicación actualmente está limitada por su precio relativamente alto en comparación con el de los plásticos sintéticos, por su color amarillento durante el almacenamiento a temperaturas elevadas y su elevada permeabilidad al vapor de agua (Butler et al. 1996).

El carácter catiónico de el quitosano ofrece una oportunidad para establecer interacciones electrostáticas con otros compuestos. Debido a estas características, el quitosano se ha utilizado ampliamente para el producción de películas comestibles (Aider, 2010; Rivero et al., 2010; Ziani et al., 2008)

Sin embargo, las propiedades del quitosano se mejoran cuando se combina con otros materiales para la formación de películas (Hoagland y Parris, 1996). Por ejemplo, combinaciones de quitosano y distintos tipos de

almidón han resultado en películas comestibles con buenas propiedades mecánicas y menor permeabilidad al vapor de agua (Parra et al., 2004; Liu et al., 2009; Xu et al., 2005; Váscónez et al., 2009).

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar las propiedades físicas de las películas de WS:CH y sus correspondientes diluciones, para evaluar el efecto de las diferentes concentraciones de quitosano en los films de WS, sobre las propiedades mecánicas, propiedades ópticas y barrera al vapor de agua y oxígeno.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Materiales**

Los materiales utilizados fueron almidón nativo de trigo (WS) (Almidón de Ble Sp, Roquette Laisa S.A., Venifaió, Valencia), quitosano de alto peso molecular (CH) (quitosano Bach MKBB0585, Sigma – Aldrich, Madrid, España), glicerol (Panreac Química S.A., castellar del Vallés, Barcelona), ácido acético 96% (Panreac Química S.A., castellar del Vallés, Barcelona) y nitrato de magnesio  $Mg(NO_3)_2$  (Panreac Química S.A., Castellar del Vallés, Barcelona).

### **Preparación de las películas**

Se dispersó WS al 1% (p/p) en agua destilada. Se añadió glicerol en una proporción másica respecto al almidón de 1:0.15. Esta dispersión se llevó a calentamiento en baño termostataado a 90°C durante 30 minutos. Por otro lado, se preparó una solución de CH al 1% (p/p) en agua destilada y se adicióno ácido acético al 1% (v/p). Se disperso en una estufa con agitación magnética a 40°C y 450 rpm durante un periodo de 24 horas. Se mezclaron las dos disoluciones preparadas según formulación (WS<sub>100</sub>, WS<sub>90</sub>:CH<sub>10</sub>; WS<sub>80</sub>:CH<sub>20</sub>, WS<sub>70</sub>:CH<sub>30</sub>, WS<sub>60</sub>:CH<sub>40</sub>, WS<sub>50</sub>:CH<sub>50</sub>, CH<sub>100</sub>). Se homogeneizó (Rotor-estator Yellow Line DL 25 Basic, IKA, Janke & Kunkel, Alemania) a 13.500 rpm durante 4 minutos y se desgasificó a vacío. Posteriormente, se vertió sobre placas de teflón de 150 mm de diámetro. La masa de sólidos totales (2g/placa) se mantuvo constante para todas las formulaciones. Las muestras se dejaron secar durante 48 horas a una humedad relativa (HR) de 60% ( $\pm 2\%$ ) y una temperatura ambiente de 25°C. Tras el secado las películas fueron despegadas de las placas y acondicionadas a 5°C y 25°C en desecadores herméticos a 58% y 53% de humedad relativa respectivamente, utilizando disoluciones saturadas de nitrato de magnesio  $Mg(NO_3)_2$ .

## CARACTERIZACIÓN DE LA DISPERSIÓN

### Potencial $-\zeta$

Esta medida se realizó utilizando el Zetasizer Nano-Z (Nano series modelo Zen 2600, Marvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido) que utiliza la micro-electroforesis, tecnología electroforética de dispersión de la luz para medir el potencial zeta y la movilidad electroforética. La movilidad de las gotas se transformó en valores de potencial Z utilizando el modelo Smoluchowsky. Las formulaciones que contenían almidón fueron diluidas en agua destilada y se llevaron a la misma concentración de quitosano (0.2%). Todas las medidas se realizaron por triplicado.

### Propiedades Reológicas

La caracterización reológica de las suspensiones (WS:CH) fue realizado por triplicado en un reómetro HAAKE (Thermo Scientific HAAKE RheoStress \* 1, Karlsruhe, Alemania) a temperatura constante (25°C) y controlada. Al tratarse de dispersiones no newtonianas se aplicó La Ley de la Potencia (ecuación 1).

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Donde:  $\sigma$  es el esfuerzo cortante (Pa), K es el índice de consistencia ( $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$ ),  $\dot{\gamma}$  es el gradiente de velocidad ( $\text{s}^{-1}$ ) y n es el índice de comportamiento al flujo.

## CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS

### Espesor

Esta medida se determinó usando un micrómetro electrónico digital (modelo Palmer, Comecta, Barcelona) con una precisión de 0.001 mm. Se toman 6 valores de manera aleatoria por cada muestra evaluada. Estas medidas se utilizaron para el tratamiento de resultados de las propiedades mecánicas, permeabilidad al vapor de agua (WVP) y permeabilidad al oxígeno (OP).

### Propiedades Mecánicas

Las propiedades mecánicas se determinaron en una prensa universal (Stable Mycro Sistem, TA.TX plus, Haslemere, Inglaterra) de acuerdo al método estándar ASTM D882. Para cada formulación y temperatura de

acondicionamiento (25°C) se cortaron 9 muestras rectangulares (25 mm por 100mm). Para todas las muestras evaluadas se determinó el espesor en 6 puntos aleatorios. Los films se montaron en la pinzas para ensayos de tensión (modelo ATG, Stable Micro Sistem, Haslemere, Inglaterra). La separación inicial de las pinzas fue de 50 mm y una velocidad de elongación del film de 50 mm·min<sup>-1</sup>.

Las curvas de fuerza frente a distancia obtenidas se transformaron en curvas de tensión ( $\sigma$ ) frente a deformación de Hencky ( $\epsilon_H$ ) con las ecuaciones (2) y (3).

$$\sigma(t) = \frac{F(t)}{S(t)} = \frac{F(t) \cdot (L_0 + d(t))}{b \cdot e \cdot L_0} \quad (2)$$

$$E_{H=\ln} \left[ \frac{L_0 + d(t)}{L_0} \right] \quad (3)$$

Donde:  $L_0$ = longitud inicial de la película (m);  $b$ =base de la muestra rectangular (m);  $e$ = espesor de la película (m);  $d(t)$ =incremento de la longitud de la muestra a cada tiempo (m);  $S(t)$ =área trasversal de la muestra (m<sup>2</sup>);  $F(t)$ =fuerza de la tensión en cada tiempo (N).

De las curvas  $\sigma$  vs  $\epsilon_H$  se obtuvieron los parámetros de TS (tensión de fractura, en MPa),  $E$  (deformación hasta el punto de fractura, expresado en porcentaje respecto a  $L_0$ ) y EM (módulo de elasticidad en MPa).

### Permeabilidad al Vapor de Agua (WVP)

Se estudió el efecto de las variables (temperatura y formulación) sobre la WVP. Se utilizó una modificación del método gravimétrico ASTM E96-95 (1995). Se cortaron tres muestras circulares (3.5 cm de diámetro) para cada formulación y se midió el espesor en 6 puntos aleatorios de cada muestra, que fueron acopladas sobre placas de aluminio (3.5 cm de diámetro, Payne, elcometer SPRL, Hermelle /s Argenteau, Bélgica) en cuyo interior se depositó 5 ml de agua destilada (100%HR). La cara de la película en contacto con el aire durante el secado se colocó en cada caso hacia el ambiente. Para asegurar la hermeticidad del sistema, se colocó un anillo de caucho y tres mordazas. Las copas se introdujeron en un soporte con un ventilador y éstos a su vez en desecadores de vidrio equilibrados al 53%HR con solución saturada de nitrato de magnesio  $Mg(NO_3)_2$ . Los desecadores se almacenaron a diferentes temperaturas (5°C y 25°C) en una cámara Hotcold UL (JP Selecta S.A., Barcelona), y se registró la masa de las copas en una balanza analítica (ME36S Sartorius, Alemania) a intervalos de 2 horas durante 24 horas.

La pendiente de la representación de la pérdida de masa frente al tiempo, se dividió entre el área expuesta para calcular la velocidad de transferencia del vapor de agua (*water vapour transmission rate*, WVTR). La presión de vapor de agua en la cara interior del film ( $p_2$ ) se obtuvo con el método

propuesto por McHugh et al. (1993), para corregir el efecto del gradiente de concentración establecida en el espacio de cabeza de la copa (ecuación 4).

$$WVTR = \frac{P \cdot D \cdot \ln \left[ \frac{(P - P_2)}{(P - P_1)} \right]}{R \cdot T \cdot \Delta z} \quad (4)$$

Donde: P=presión total (atm); D=difusividad del agua en aire a 25°C (m<sup>2</sup>/s); R= constante de los gases (82,057·10<sup>-3</sup> m<sup>3</sup> atm kmol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>); T=temperatura (K); Δz=altura media del espacio de cabeza (m), considerando su altura inicial y final; p<sub>1</sub>=presión de vapor de agua en la superficie de la solución (atm); p<sub>2</sub>=presión de vapor corregida en la cara interior de la película. Utilizando la ecuación (4), WVP se calculó a partir de p<sub>2</sub> y la presión de vapor de agua en la cara exterior de la película (p<sub>3</sub>), y su espesor (e), ecuación (5)

$$WVP = \frac{WVTR}{(p_2 - p_3)} \cdot e \quad (5)$$

### Permeabilidad al Oxígeno (OP)

Para el estudio de la permeabilidad al oxígeno se cortaron las películas de forma hexagonal y se midió su espesor en 6 puntos aleatorios. Las películas fueron expuestas a flujos de oxígeno y nitrógeno puros, evaluando la tasa de transferencia de oxígeno por medio del equipo Ox-Tran, modelo 1/50 (Mocon, Minneapolis, EEUU) que se ajusta al método estándar ASTM D3985-05, 2010. Las pruebas fueron conducidas en modo continuo a 5°C-58%HR y 25°C-53%HR. La OP se calculó dividiendo la tasa de transferencia de oxígeno (cm<sup>3</sup>·mm/(m<sup>2</sup>·atm·día)) por la diferencia de presión de oxígeno entre los dos lados de la película, y multiplicando por el espesor promedio de la misma. Se realizaron dos repeticiones por cada formulación.

### Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Se obtuvieron imágenes transversales de las películas con un microscopio electrónico de barrido JEOL®, modelo JSM-5410 (Japón). Las muestras para observaciones transversales se prepararon mediante criofractura por inmersión en nitrógeno líquido. Pequeños fragmentos de las películas se montaron sobre portas de cobre y se recubrieron con oro. El voltaje utilizado fue de 10 kV.

## **Brillo y microscopía de fuerza atómica (AFM)**

El brillo se midió con un medidor de superficie plana (Multi-Gloss 268, Minolta, Langenhagen, Alemania) a 20°, 60° y 85° de acuerdo con la norma ASTM D523 (1999). Se midió la muestra, acondicionada a una temperatura de 25°C-58%HR, tomando los valores por la cara expuesta al ambiente en el proceso de secado de las películas sobre una placa. Este estudio se realizó por quintuplicado en cada una de las tres películas medidas de cada formulación.

La superficie de los films de las formulaciones WS<sub>100</sub>, WS<sub>80</sub>:CH<sub>20</sub>, WS<sub>50</sub>:CH<sub>50</sub>, CH<sub>100</sub>, equilibrados a 33% RH, se analizó mediante microscopía de fuerza atómica (AFM) utilizando un equipo Nanoscope III.a, Scanning Probe Microscope (Digital Instruments, Inc. Santa Barbara, California). Para cada formulación, se obtuvieron tres imágenes 3-D de una superficie de film de 50x50 µm. La rugosidad fue determinada a través del parámetro ISAD (%), definido como la diferencia relativa entre el área real y geométrica.

## **Humedad**

Para la determinación del porcentaje de humedad de las películas se utilizó un método gravimétrico. Las películas fueron previamente acondicionadas a 5°C-58%HR y 25°C-53%HR. Se secaron dos muestras de cada de las películas en una estufa a vacío (Vacioterm-T, JP-selecta S.A., Barcelona) a 60°C y a una presión de 0.8 bar hasta masa constante. Esta medida se realizó por duplicado para cada formulación, previo

## **Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los resultados se realizó a través de un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de Rangos Múltiples para determinar la mínima diferencia significativa (LSD), con un nivel de confianza del 95%. Para este análisis se utilizó Statgraphics plus para Windows versión 5.1 (Statpoin Technologies, Inc. Warrenton, Virginia).

## **ANALISIS Y RESULTADOS**

### **Potencial- $\zeta$**

Los valores de potencial- $\zeta$  se muestran en la Tabla 1. Las dispersiones de WS<sub>100</sub> presentaron valores de potencial- $\zeta$  levemente negativos (-1.76 mV). La carga fue aumentando paulatinamente al aumentar la concentración de CH, presentando valores de alta carga positiva desde +58.33 mV a +76.63 mV en WS<sub>90</sub>:CH<sub>10</sub> y WS<sub>50</sub>:CH<sub>50</sub> respectivamente, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre esta última y la formulación CH<sub>100</sub> (+78.92 mV). En las dispersiones con WS (WS<sub>100</sub>, WS<sub>50</sub>:CH<sub>50</sub>, WS<sub>60</sub>:CH<sub>40</sub>, WS<sub>70</sub>:CH<sub>30</sub>, WS<sub>80</sub>:CH<sub>20</sub>, WS<sub>90</sub>:CH<sub>10</sub>) el pH promedio fue de 6.7 y para la de CH fue 3.2. Así pues, el aumento del potencial  $\zeta$  con la proporción de CH se

debe a que a ese pH, el grupo amino del CH se encuentra positivamente cargado ( $pK_a = 6.5$ , Acosta et al., 1993). Además debido a su carga superficial alta, las formulaciones con CH serán relativamente estables frente a la agregación debido a la repulsión electrostática (McClements, 2005).

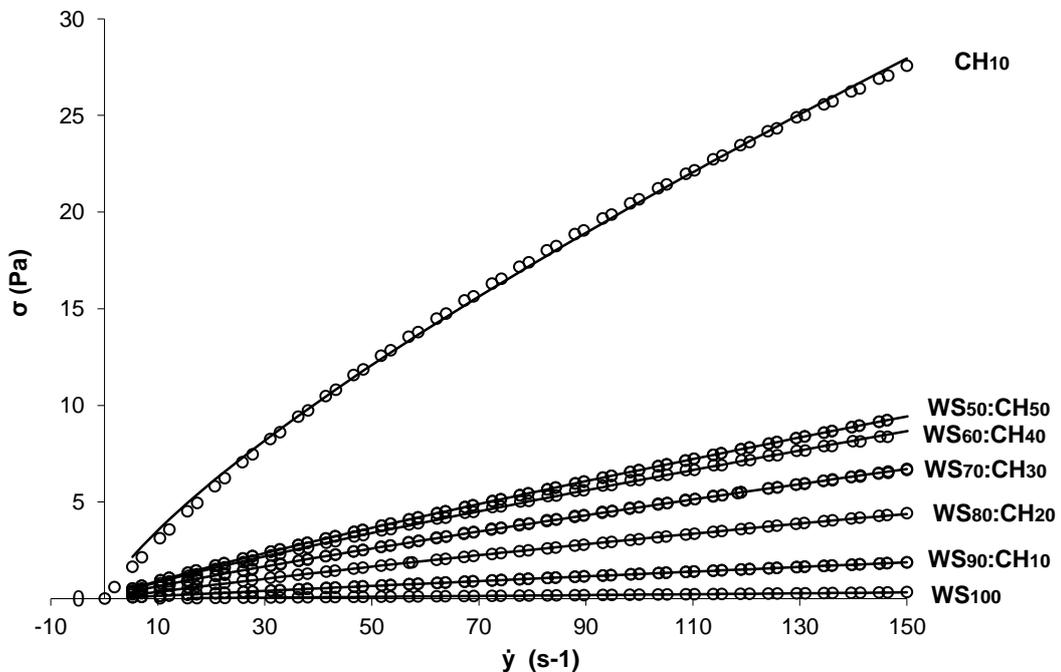
**TABLA 1.** Potencial- $\zeta$  y parámetros reológicos. Valores promedio y desviación estándar en paréntesis.

Formulación	$\zeta$ (mV)	$K$ (Pa s <sup>n</sup> ) $\times 10^{-2}$	$n$ (Pa s) $\times 10^{-1}$	$\eta_{ap}$ (Pa s) a $100s^{-1}$ $\times 10^{-2}$
WS <sub>100</sub>	-1,8 (1,4) <sup>a</sup>	0,11 (0,02) <sup>a</sup>	11,3 (0,3) <sup>e</sup>	0,20 (0,01) <sup>a</sup>
WS <sub>90</sub> :CH <sub>10</sub>	58,3 (1,5) <sup>b</sup>	1,8 (0,1) <sup>b</sup>	9,4 (0,1) <sup>d</sup>	1,4 (0,1) <sup>b</sup>
WS <sub>80</sub> :CH <sub>20</sub>	73 (3) <sup>c</sup>	5,1 (0,1) <sup>c</sup>	9 (1) <sup>c</sup>	3,11 (0,02) <sup>c</sup>
WS <sub>70</sub> :CH <sub>30</sub>	74,2 (1,9) <sup>cd</sup>	8,9 (0,1) <sup>d</sup>	8,646 (0,002) <sup>b</sup>	4,78 (0,03) <sup>d</sup>
WS <sub>60</sub> :CH <sub>40</sub>	75 (3) <sup>cd</sup>	12,0 (0,1) <sup>e</sup>	8,54 (0,01) <sup>b</sup>	6,13 (0,04) <sup>e</sup>
WS <sub>50</sub> :CH <sub>50</sub>	77 (3) <sup>de</sup>	12,6 (0,1) <sup>f</sup>	8,61 (0,01) <sup>b</sup>	6,68 (0,04) <sup>f</sup>
CH <sub>100</sub>	79 (3) <sup>e</sup>	61,8 (0,9) <sup>g</sup>	7,62 (0,01) <sup>a</sup>	20,8 (0,2) <sup>g</sup>

Las letras <sup>abcdetfg</sup> denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### Propiedades Reológicas

En la Figura 1 se observa el comportamiento reológico de las formulaciones, junto con el ajuste a la Ley de la Potencia (línea continua).



**FIGURA 1.** Curvas típicas de flujo, a 25°C, de todas las formulaciones WS:CH y ajuste a la Ley de la Potencia (línea continua).

La curva fue ajustada a la Ley de la Potencia y los parámetros que se muestran en la Tabla 1. La incorporación de CH tiene un alto efecto en la viscosidad, aumentándola significativamente a medida que aumenta su concentración.

El comportamiento reológico depende de varios factores relacionados con las características de la fase dispersa (concentración en volumen, tamaño de partícula, distribución, forma y la carga eléctrica de su superficie, la presencia de tensoactivos y agentes espesantes. Rao, 1977). El aumento en el potencial- $\zeta$  en las formulaciones con CH también puede explicar su mayor viscosidad. Esto puede ser explicado porque hay una mayor atracción en la nube de contra-iones que rodea las cadenas cargadas, lo que hace que el movimiento de las cadenas sea más difícil, ya que no puede estar tan próximos entre sí debido a la repulsión electrostática (McClements, 2005).

Esto concuerda con lo expuesto por Mucha (1997), en donde el esfuerzo cortante y la viscosidad de las soluciones de CH aumentaron con su concentración, que corresponde a un progresivo aumento de los enredos entre las cadenas de compuestos macromoleculares.

### Propiedades Mecánicas

Los resultados obtenidos para las propiedades mecánicas se observan en la Tabla 2. Los valores obtenidos para los films de CH son del orden de los observados por Srinivasa et al., (2007). La adición de CH mejoró de manera significativa las propiedades mecánicas de las películas de almidón (EM y TS), que mostraron una mayor resistencia y rigidez ( $p < 0,05$ ). De acuerdo con Xu et al. (2005), al gelatinizar el almidón, las estructuras ordenadas-cristalinas del almidón se destruyen y los grupos OH<sup>-</sup> quedan disponibles para formar enlaces de hidrógeno con los grupos amino protonados (NH<sup>3+</sup>) del CH. Por lo tanto, al incrementarse la proporción de CH, hay más grupos NH<sup>3+</sup> disponibles, y un mayor grado de interacción con las cadenas de almidón, aumentando así la resistencia de las películas.

**TABLA 2.** Caracterización mecánica de las películas (EM, TS, %E), y espesor. Valores promedio y desviación estándar en paréntesis.

Formulación	EM (MPa)	TS (MPa)	%E	Espesor
WS <sub>100</sub>	1356 (189) <sup>a</sup>	29 (16) <sup>a</sup>	3,5 (0,9) <sup>ab</sup>	52,6 (3,3) <sup>b</sup>
WS <sub>90</sub> :CH <sub>10</sub>	1414 (45) <sup>b</sup>	38,4 (1,6) <sup>b</sup>	3,7 (0,6) <sup>a</sup>	62,5 (2,4) <sup>de</sup>
WS <sub>80</sub> :CH <sub>20</sub>	1458 (152) <sup>b</sup>	45 (3) <sup>bc</sup>	4,3 (0,8) <sup>ab</sup>	61 (4) <sup>cd</sup>
WS <sub>70</sub> :CH <sub>30</sub>	1462 (257) <sup>b</sup>	47 (6) <sup>bc</sup>	4,2 (0,6) <sup>ab</sup>	59 (4) <sup>c</sup>
WS <sub>60</sub> :CH <sub>40</sub>	1602 (82) <sup>b</sup>	42 (17) <sup>bc</sup>	4,6 (1,3) <sup>ab</sup>	63,7 (2,1) <sup>de</sup>
WS <sub>50</sub> :CH <sub>50</sub>	1593 (117) <sup>b</sup>	46 (2) <sup>c</sup>	6 (2) <sup>c</sup>	65 (4) <sup>e</sup>
CH <sub>100</sub>	2451 (250) <sup>c</sup>	74 (11) <sup>d</sup>	4,6 (0,8) <sup>ab</sup>	38 (4) <sup>a</sup>

Las letras <sup>abcde</sup> denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

## Brillo y microscopía de fuerza atómica (AFM)

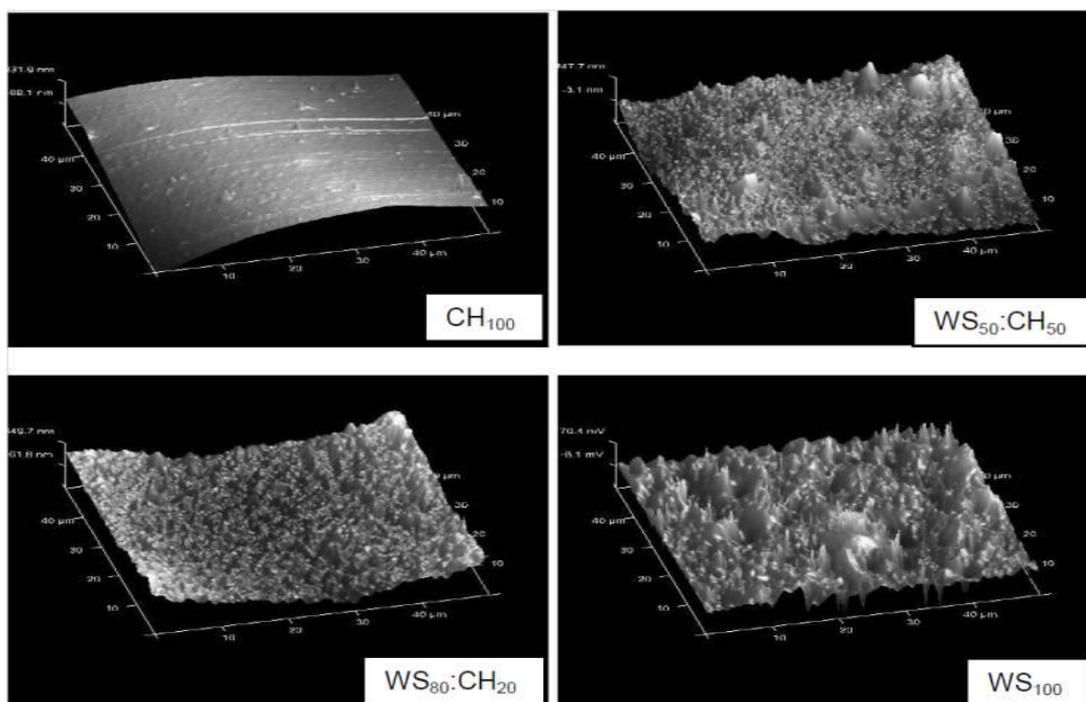
Los resultados de brillo a 60° se muestran en la Tabla 3. Este ángulo fue elegido, siguiendo las directrices de la norma ASTM D523 (1999).

**Tabla 3.** Brillo y microscopía de fuerza atómica (AFM) Valores promedio y desviación estándar en paréntesis.

Formulación	Brillo(60°)	ISAD (%)
WS <sub>100</sub>	11(4) <sup>a</sup>	1,6 (0,6) <sup>a</sup>
WS <sub>90</sub> :CH <sub>10</sub>	10,98(1,4) <sup>a</sup>	-
WS <sub>80</sub> :CH <sub>20</sub>	13,04(1,6) <sup>a</sup>	0,8 (0,3) <sup>b</sup>
WS <sub>70</sub> :CH <sub>30</sub>	26(7) <sup>b</sup>	-
WS <sub>60</sub> :CH <sub>40</sub>	39(11) <sup>c</sup>	-
WS <sub>50</sub> :CH <sub>50</sub>	62(15) <sup>d</sup>	0,3 (0,1) <sup>bc</sup>
CH <sub>100</sub>	38(12) <sup>c</sup>	0,1 (0,1) <sup>c</sup>

Las letras <sup>abc</sup> denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

El aumento del brillo de las películas está relacionado con el aumento de la concentración de CH en la formulación. El brillo de las películas está ligada a la morfología de sus superficie (Sánchez-González et al., 2010) y, en general, cuanto más lisa sea la superficie, más brillante es la película. En este sentido, se realizaron observaciones de la microestructura superficial de las muestras mediante AFM (Figura 2).



**Figura 2.** Micrografías de la superficie de la película obtenidas a través de AFM.

Se encontró que la rugosidad de las películas de WS, evaluada a través del parámetro ISAD que se muestra en la Tabla 3, disminuyó a medida que la proporción de quitosano se incrementó. La película de quitosano es más lisa y mostró valores más bajos del parámetro de rugosidad ISAD. La película de almidón de trigo, es la más rugosa y también la menos brillante.

### Humedad de equilibrio y permeabilidad al Vapor de Agua (WVP)

La humedad de los films se muestra en la Tabla 4. Se observa que en general fue menor a 25°C que a 5°C ( $p > 0,05$ ).

**TABLA 4.** Permeabilidad al vapor de agua (WVP,  $\text{g}\cdot\text{s}^{-1}\text{ m}^{-1}\text{ Pa}^{-1}$ ) a 5°C/100-58%HR y 25°C/100-53%HR. Permeabilidad al oxígeno (OP,  $\text{cm}^3\cdot\text{mm}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{atm}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ ) y humedad de equilibrio de las películas (g agua/g película) a 5°C-58%HR y 25°C-53%HR. Valores medios y desviación estándar entre paréntesis.

	5 °C			25 °C		
	WVP x 10 <sup>-10</sup>	OP x 10 <sup>-2</sup>	%H (B.H)	WVP x 10 <sup>-9</sup>	OP x 10 <sup>-2</sup>	%H (B.H)
<b>WS<sub>100</sub></b>	4,0 (0,3) <sup>ax</sup>	4,5 (1,6) <sup>ax</sup>	11,52 (0,04) <sup>ax</sup>	1,3 (0,3) <sup>ax</sup>	6,1 (1,1) <sup>ax</sup>	8,4 (0,2) <sup>ax</sup>
<b>WS<sub>90</sub>:CH<sub>10</sub></b>	4,7 (0,3) <sup>abx</sup>	4,7 (0,1) <sup>ax</sup>	11,8 (0,3) <sup>ax</sup>	1,4 (0,4) <sup>ax</sup>	5,5 (0,8) <sup>ax</sup>	8,74(0,03) <sup>ax</sup>
<b>WS<sub>80</sub>:CH<sub>20</sub></b>	5,2 (0,5) <sup>b cx</sup>	3,8 (1,3) <sup>ax</sup>	5,2 (0,5) <sup>ax</sup>	1,8 (0,2) <sup>ax</sup>	6,7 (1,4) <sup>ax</sup>	9,2 (0,2) <sup>ax</sup>
<b>WS<sub>70</sub>:CH<sub>30</sub></b>	7,4 (0,7) <sup>dx</sup>	4 (2) <sup>ax</sup>	17,7 (2,2) <sup>ax</sup>	1,6 (0,3) <sup>ax</sup>	6,9 (1,4) <sup>abx</sup>	9,2 (0,1) <sup>ax</sup>
<b>WS<sub>60</sub>:CH<sub>40</sub></b>	5,9 (1,3) <sup>cx</sup>	5,7 (0,3) <sup>ax</sup>	7,2 (0,1) <sup>ax</sup>	1,6 (0,5) <sup>ax</sup>	7,6 (0,1) <sup>abx</sup>	9,9 (0,1) <sup>ax</sup>
<b>WS<sub>50</sub>:CH<sub>50</sub></b>	5,8 (0,2) <sup>cx</sup>	6 (3) <sup>ax</sup>	13,21 (0,04) <sup>ax</sup>	1,5 (0,4) <sup>ax</sup>	7,6 (1,7) <sup>abx</sup>	7,1 (1,3) <sup>ax</sup>
<b>CH<sub>100</sub></b>	4,9(0,2) <sup>ab cx</sup>	15 (4) <sup>ax</sup>	13 (0,1) <sup>ax</sup>	1,8 (0,3) <sup>ax</sup>	9,7 (1,6) <sup>cx</sup>	14,2 (0,1) <sup>ax</sup>

Las letras denotan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) por efecto de la formulación (abc) o por efecto de la temperatura (xy) para la misma película.

Los resultados para WVP se muestran en la Tabla 4. Al aumentar la temperatura se incrementó WVP si diferencias significativa ( $p > 0,05$ ) entre todas las formulaciones. Por lo general, un aumento de la temperatura provoca una ligera disminución de la solubilidad y un aumento en la difusión del vapor de agua a través de la película. Este aumento de la difusividad es debido a un mayor movimiento de los polímeros y del aumento de los niveles de energía de las moléculas (Bertuzzi et al. 2006).

A proporciones de CH menores del 50%, el incremento de CH en la formulación, dio lugar a una mayor WVP, significativamente para  $T = 5^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ). Esta tendencia podría explicarse por un mayor carácter hidrofílico de la molécula de quitosano frente al almidón y a diferencias en el empaquetamiento dependientes de la proporción de ambos polisacáridos.

## Permeabilidad al Oxígeno (OP)

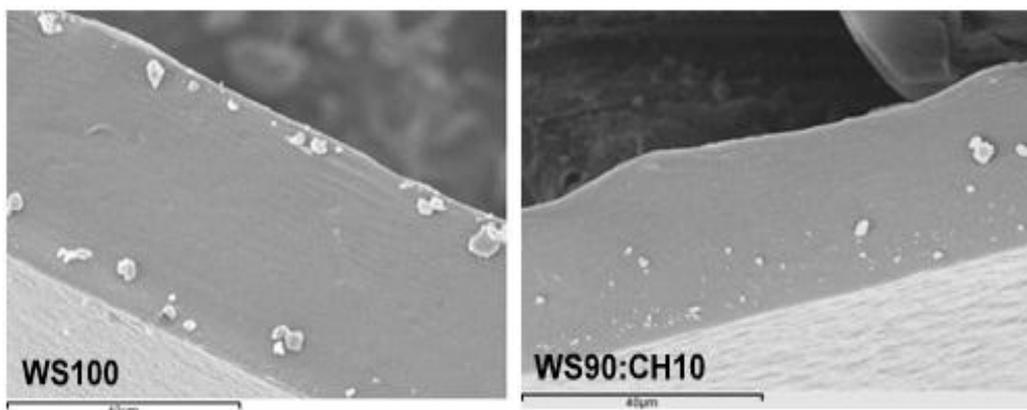
La naturaleza del polímero (estructura química, cristalinidad, tamaño de las cadenas, densidad, ramificaciones, peso molecular y grado de polimerización) son factores importantes que afectan la difusión de los gases (Pascot et al., 1986). Una gran ventaja de las películas de almidón en la conservación de alimentos es su capacidad de actuar como barrera al oxígeno y extender así su vida útil (Shen et al., 2010).

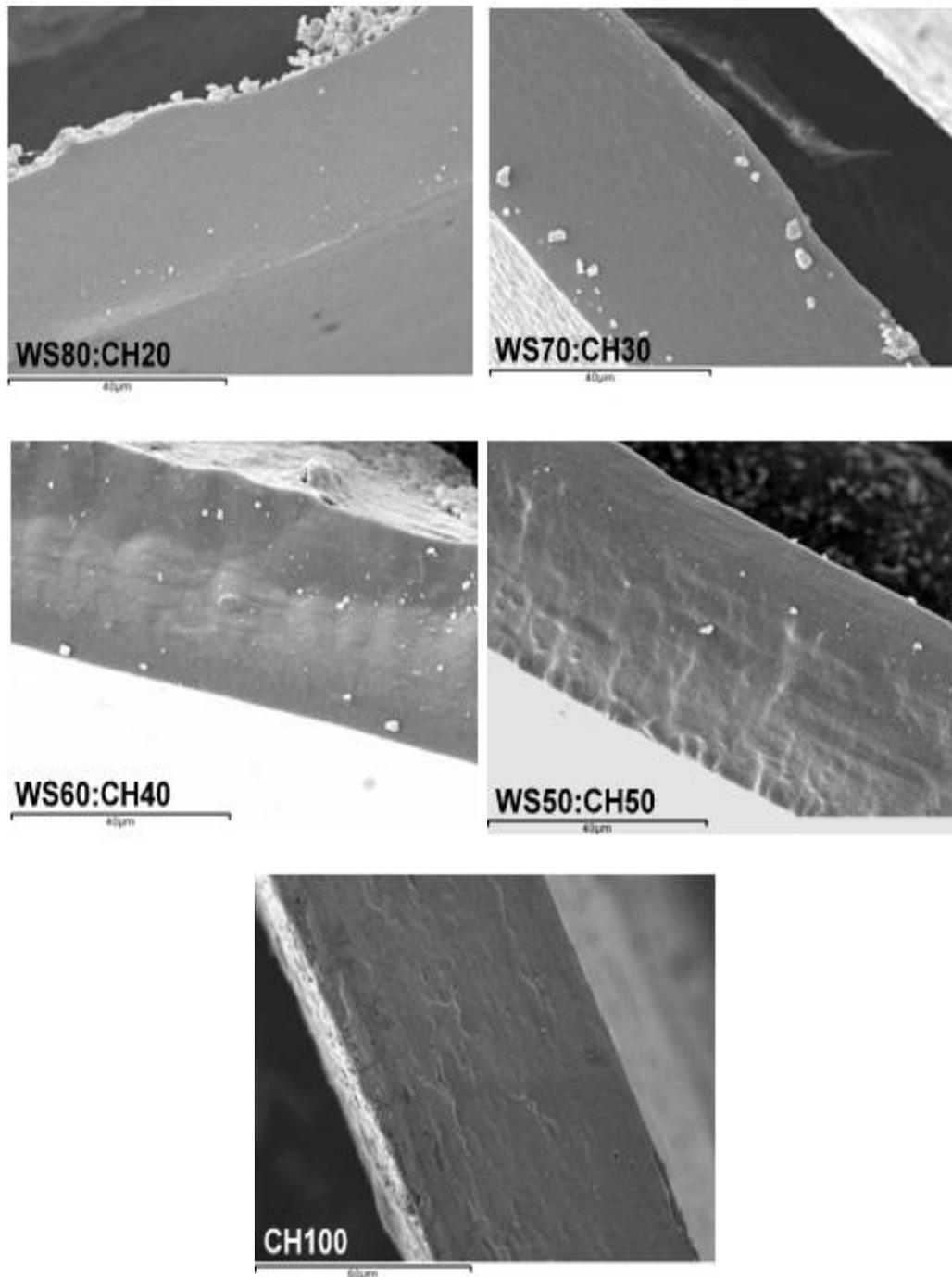
Los resultados de OP a 10°C y 25°C se muestran en la Tabla 3. A las dos temperaturas, la película WS<sub>100</sub> fue la menos permeable, mientras que CH<sub>100</sub> fue la película con mayor permeabilidad al oxígeno. A medida que se sustituyó WS por CH, los valores de OP aumentaron. Por otra parte, se observa que el aumento de la temperatura favorece el transporte de oxígeno a través de las películas y da lugar a valores de OP mayores.

## Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

La microestructura de las películas se estudió de forma cualitativa, con la finalidad de ver como se organizan los componentes y observar los efectos en los cambios de la estructura a medida que se sustituye almidón por quitosano.

En todas las imágenes se observa que las películas presentan una estructura compacta, ordenada, sin presencia de poros ni separación de fases, lo que indica que el almidón de trigo y el quitosano tienden a formar una estructura homogénea. Esta buena compatibilidad del CH, almidón y plastificante fue previamente observada por Mathew y Abraham (2008), en un estudio realizado con películas elaboradas a partir de mezclas de CH, almidón de patata y glicerol.





**FIGURA 3.** Micrografías de la sección transversal de las películas obtenidas a través de SEM (aumento de 1500x).

### **CONCLUSIONES**

- ✓ La adición de quitosano en la formulación aumentó el potencial- $\zeta$  de las dispersiones.

- ✓ La incorporación de CH tuvo un alto efecto en la viscosidad, que aumentó significativamente a medida que aumenta su concentración.
- ✓ La incorporación de CH en películas de WS dio lugar a un aumento de la resistencia mecánica.
- ✓ El aumento de la concentración de CH disminuyó las propiedades barrera tanto al vapor de agua como al oxígeno pero sin presentarse diferencias significativas.
- ✓ Las películas mostraron una estructura compacta, homogénea, sin presencia de poros ni separación de fases. El brillo de las películas aumentó con la sustitución del WS por CH, en coherencia con la menor rugosidad superficial.

## REFERENCIAS

- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: review. *LWT-Food Science and Technology* 43, 837- 842.
- Arvanitoyannis I., Eleni Psomiadoub, Nakayama, A. (1996). Edible films made from sodium casemate, starches, sugars or glycerol. *Carbohydrate Polymers* 31(4) , 179–192.
- Arvanitoyannis, I., Nakayama, A., Aiba, S. (1998). Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. *Carbohydrate Polymers* 36, 105–119.
- ASTM. (2001). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. In Standard D882 Annual book of American standard testing methods (162-170). Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- ASTM (1995) Standard test methods for water vapor transmission of materials. Standard Designations: E96-95. Annual book of ASTM, ASTM, Philadelphia, 406–413.
- ASTM (2010). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor: D3985-05, Annual book of ASTM, ASTM, Philadelphia.
- ASTM. (1999). Standard test method for specular gloss. In Designation (D523). Annual book of ASTM standards, Vol. 06.01. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials.
- Bertuzzi, M.A.; Castro Vidaurre, E.F.; Armada, M. y Gottifredi, J.C. (2007). Water vapor permeability of edible starch based films. *Journal of Food Engineering* 80(3), 972–978.
- Butler, B. L., Vergano, P. J., Testin, R. F., Bunn, J. N., Wiles, J. N., (1996) Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage, *Journal of Food Sciencie*, 61, 953–955.
- Cutter, C.N., (2006). Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. *Meat Science* 74, 131–142.

- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114, 1173-1182.
- Hoagland, P., Parris, N., (1996). Chitosan/pectin coated films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 1915–1919.
- Kester, J.J., Fennema, O.R., (1986). Edible films and coatings: a review. *Food Technology* 12, 47–59.
- Kumar, M. N. V. R. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46(1), 1-27.
- Liu, F., Qin, B., He, L., Song, R. (2009). Novel starch/chitosan blending membrane: antibacterial, permeable and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers* 78, 146 – 150.
- Mathew, S., Abraham, T.E. (2008). Characterisation of ferulic acid incorporated starch-chitosan blend films. *Food Hydrocolloids* 22, 826-835.
- McClements, D. J. (2005). Chapter 5 Interfacial properties and their characterization. *Food emulsions*. D. J. McClements (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida. Chapter 5, 175-232.
- Mc Hugh, T. H., Avena-Bustillos, R., Krochta, J. M. (1993). Hydrophobic edible films: modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58(4), 899-903.
- Mucha, M. 1997. Rheological characteristics of semi-dilute chitosan solutions. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 198, 471–484.
- N. Acosta, C. Jiménez, V. Borau, A. Heras, (1993). Extraction and characterization of chitin from crustaceans, *Biomass and Bioenergy* 5 (2) 145-153.
- Parra, D. F., Tadini, C. C., Ponce, P., Lugão, A. B. (2004). Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymer* 58, 475-481.
- Pascat B. (1986) Study of some factors affecting permeability. *Food packaging and preservation. Theory and Practice*. M Mathlouthi (ed). Elsevier Applied Science Pub. London.
- M.A. Rao (1977). Rheology of liquid food: A review. *Journal of Texture Studies* 8 , 135–168.
- Rivero, S., García, M. A., Pinnoti, A. (2010). Correlations between structural, barrier, thermal and mechanical properties of plasticized gelatin films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 11(2), 369-375.
- Maria Rodríguez, Javier Osés, Khalid Ziani, Juan I. Maté (2006). Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food Research International* 39, 840–846.
- Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A., González-Martínez, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers*, 82, 277-283.

- Shen, X.L., Wu, J.M., Chen, Y., Zhao, G. (2010). Antimicrobial and physical properties of sweet potato starch films incorporated with potassium sorbate or chitosan. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 285-290.
- María B. Vázquez, Silvia K. Flores, Carmen A. Campos, Juan Alvarado, Lía N. Gerschenson (2009). Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*. 42, 762 – 769.
- Xu, Y. X., Kim, K. M., Hanna, M. A., Nag, D. (2005). Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Industrial Crops and Products* 21, 185–192.
- Ziani, K., Oses, J., Coma, V., & Maté, J. I. (2008). Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. *LWT e Food Science and Technology*, 41(10), 2159-2165.