



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas
Departamento de Química

DESARROLLO, CARACTERIZACIÓN Y APLICACIÓN
DE ENVASES BIODEGRADABLES A PARTIR DE
ALMIDÓN

Tesis Doctoral

Olivia Valeria López

Directora: Dra. María Alejandra García

Co-Directora: Dra. Noemí E. Zaritzky

2011

López , Olivia Valeria

Desarrollo, caracterización y aplicación de envases biodegradables a partir de almidón. - 1a ed. - La Plata : Universidad Nacional de La Plata, 2012.
E-Book.

ISBN 978-950-34-0852-0

1. Química. 2. Almidón. 3. Biodegradabilidad. I. Título
CDD 540.711

Fecha de catalogación: 31/05/2012

El presente trabajo de Tesis para optar al título de Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, bajo la dirección de la Dra. María Alejandra García y la Dra. Noemi E. Zaritzky

A Sofía y Victoria

A Gustavo

Agradecimientos

Agradezco a todas las personas que hicieron posible la realización de esta Tesis:

A la Dra. Maria Alejandra García, mi directora de Tesis, por su incondicionalidad y calidez; además por sus apreciados y relevantes aportes, críticas, comentarios y sugerencias durante el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Noemi Zaritzky, mi co-directora de tesis, por su participación y constante apoyo; por su experiencia, sugerencias y críticas constructivas. También agradezco el haberme permitido llevar a cabo este trabajo de investigación en el CIDCA.

A Arcor por facilitarme las muestras de los almidones de maíz modificados.

A la Estación Experimental del INTA (Montecarlo, Misiones) por suministrarme las raíces de ahipa y mandioca.

A Javier Lecot y Daniel Russo por haberme ayudado con las experiencias del DMA y del DSC.

A la Dra. Leda Gianuzzi, quien me ayudó a diseñar y llevar a cabo los ensayos microbiológicos.

A Estela, Miriam y Laura por su agradable compañía, apoyo, mates y charlas.

A Sonia Viña, Alicia Mugridge y Cecilia Doporto por la ayuda en el procesamiento de las raíces.

A mis compañeros del CIDCA, especialmente a mis compañeros del “anexo” y mis nuevas compañeras de box por brindarme su apoyo y compañerismo.

A mis compañeros de las cátedras de Química Analítica I y de Química Analítica Aplicada, especialmente a la Dra. Alicia Chaves y a la Lic. Teresita Gómez por su comprensión.

Al CONICET por el sustento financiero para desarrollar esta investigación.

A mi familia por el apoyo incondicional, la paciencia y comprensión.

ÍNDICE

Capítulo 1: INTRODUCCIÓN

1. Consideraciones generales	1
2. Películas biodegradables	2
3. Películas de polisacáridos	3
3.1 Fuentes de almidón	4
3.1.1 Almidones nativos.....	4
3.1.2 Películas formuladas a partir de almidones nativos	7
3.2 Almidones modificados	7
3.2.1 Películas formuladas a partir de almidones modificados	8
OBJETIVOS GENERALES	9

Capítulo 2: CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, MICROESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LOS ALMIDONES

INTRODUCCIÓN.....	10
1. El almidón	10
1.1 Modificación del almidón	12
1.2 Gelatinización	13
1.3 Retrogradación	13
OBJETIVOS.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
1. Muestras de almidones nativos	14
1.1 Extracción del almidón de ahípa y mandioca.....	15
1.2 Determinación del contenido de nitrógeno total del almidón extraído de ahípa y mandioca.....	16
2. Muestras de almidones de maíz modificados.....	17
2.1 Extensión de la modificación	18
3. Caracterización fisicoquímica y microestructural de los almidones.....	20
3.1 Determinación de la concentración de amilosa.....	20
3.2 Morfología y distribución de tamaño de los gránulos.....	21

3.3	Espectroscopía de difracción de rayos X	21
4.	Propiedades funcionales de los almidones	22
4.1	Gelatinización de las suspensiones	22
4.2	Transiciones térmicas	23
4.3	Capacidad de hinchamiento de los gránulos	24
4.4	Claridad de las pastas de almidón	24
4.5	Caracterización reológica de las pastas de almidón	24
4.6	Retrogradación de las pastas de almidón bajo condiciones de refrigeración	27
4.7	Estabilidad de las pastas de almidón al proceso de congelación-descongelación.....	29
5.	Análisis estadístico.....	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		29
1.	Extracción y rendimiento del almidón de ahípa y mandioca	29
2.	Extensión de la modificación química de los almidones de maíz químicamente sustituidos.....	30
3.	Caracterización fisicoquímica y microestructural de los almidones.....	31
3.1	Concentración de amilosa	31
3.2	Morfología y distribución de tamaño de los gránulos.....	33
3.3	Espectroscopía de difracción de rayos X	36
4.	Propiedades funcionales de los almidones	39
4.1	Gelatinización de las suspensiones	39
4.2	Transiciones térmicas	39
4.3	Capacidad de hinchamiento de los gránulos	41
4.4	Claridad de las pastas de almidón	43
4.5	Caracterización reológica de las pastas de almidón.....	44
4.6	Retrogradación de las pastas de almidón bajo condiciones de refrigeración	52
4.7	Estabilidad de las pastas de almidón al proceso de congelación-descongelación.....	58
 Capítulo 3: PELÍCULAS DE ALMIDÓN: OPTIMIZACIÓN DE LAS FORMULACIONES		
INTRODUCCION.....		61

OBJETIVOS	62
MATERIALES Y MÉTODOS	62
1. Muestras de almidones	62
2. Suspensiones filmogénicas.....	63
2.1 Comportamiento reológico de las suspensiones filmogénicas.....	63
3. Obtención de las películas.....	63
4. Espesor de las películas.....	63
5. Caracterización de las películas	64
5.1 Propiedades mecánicas.....	64
5.2 Permeabilidad al vapor de agua	64
6. Análisis estadístico.....	65
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
1. Películas de almidones nativos y químicamente modificados de maíz.....	65
1.1 Caracterización reológica de las suspensiones filmogénicas	65
1.2 Capacidad formadora de películas de las suspensiones filmogénicas	69
1.3 Optimización de la formulación.....	70
2. Películas a base de mezclas de almidón de maíz nativo y acetilado	76
2.1 Caracterización reológica de las suspensiones filmogénicas	76
2.2 Capacidad formadora de películas de las suspensiones filmogénicas	77
2.3 Optimización de la formulación.....	77

Capítulo 4: CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE ALMIDÓN DE MAÍZ NATIVO Y ACETILADO

INTRODUCCIÓN	81
OBJETIVOS	85
MATERIALES Y MÉTODOS	85
1. Formulación de las películas	85
2. Obtención de las películas.....	85
3. Caracterización de las películas	85
3.1 Espesor	85
3.2 Solubilidad	86

3.3	Humedad	86
3.4	Isotermas de sorción.....	86
3.5	Microscopía electrónica de barrido (SEM)	89
3.6	Microscopía de fuerza atómica (AFM)	89
3.7	Espectroscopía de difracción de rayos X	91
3.8	Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	91
3.9	Análisis termo-mecánico.....	93
3.10	Permeabilidad a los gases (O ₂ y CO ₂).....	96
3.11	Propiedades ópticas	99
3.12	Evaluación de la biodegradabilidad de las películas.....	100
3.13	Capacidad de termosellado	101
4.	Análisis estadístico.....	101
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		102
1.	Espesor	102
2.	Humedad	103
3.	Isotermas de sorción.....	104
4.	Solubilidad	108
5.	Apariencia y homogeneidad.....	110
6.	Topografía y rugosidad	111
7.	Difracción de rayos X	116
8.	Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	122
9.	Análisis termo-mecánico.....	126
10.	Permeabilidad al O ₂ y al CO ₂	132
11.	Propiedades ópticas	134
12.	Biodegradabilidad	137
13.	Capacidad de termosellado	140

Capítulo 5: PELÍCULAS OBTENIDAS POR EXTRUSIÓN Y SOPLADO

INTRODUCCIÓN.....	143
1. Almidón termoplástico (TPS)	143
2. Moldeo por extrusión de almidón	144
3. Proceso de fusión del polímero en la extrusora	145

OBJETIVOS	146
MATERIALES Y MÉTODOS	146
1. Muestras de almidones	146
2. Diseño experimental.....	146
3. Proceso de extrusión	147
4. Caracterización de las películas	148
5. Análisis de datos	149
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	149
1. Obtención de las películas.....	149
2. Apariencia y homogeneidad.....	152
3. Caracterización de las películas	152
3.1 Espesor	154
3.2 Humedad	156
3.3 Propiedades mecánicas.....	157
3.4 Permeabilidad al vapor de agua	159
3.5 Permeabilidad a los gases.....	160
3.6 Análisis termo-mecánico.....	162
3.7 Isotermas de sorción.....	165

Capítulo 6: PELÍCULAS ACTIVAS DE ALMIDÓN DE MAÍZ

INTRODUCCIÓN	169
PARTE I: CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS	172
MATERIALES Y MÉTODOS	172
1. Formulación de las películas con sorbato de potasio	172
2. Obtención de las películas con sorbato de potasio.....	172
3. Contenido de sorbato de potasio en las películas.....	172
4. Concentración mínima inhibitoria de sorbato de potasio.....	173
5. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las películas con sorbato de potasio.....	173

6.	Aplicación de las películas activas desarrolladas.....	174
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		175
1.	Formación de las películas	175
2.	Contenido de sorbato en las películas	175
3.	Concentración mínima inhibitoria de sorbato de potasio.....	177
4.	Capacidad antimicrobiana de las películas activas	177
5.	Evaluación de la capacidad antimicrobiana de películas activas sobre un producto lácteo envasado.....	180
PARTE II: CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS		182
MATERIALES Y MÉTODOS.....		182
1.	Espectroscopía de difracción de rayos X	182
2.	Espesor, propiedades mecánicas y permeabilidad al vapor de agua (WVP).....	182
3.	Solubilidad en agua, microscopía electrónica de barrido (SEM) y de fuerza atómica (AFM), espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), análisis termo-mecánico, permeabilidad a los gases y propiedades ópticas.....	182
4.	Análisis estadístico.....	182
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		183
1.	Propiedades ópticas: color superficial y barrera al UV	183
2.	Caracterización microestructural: espesor, microestructura, rugosidad y cristalinidad.....	187
3.	Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	192
4.	Humedad de las películas.....	195
5.	Solubilidad en agua	196
6.	Propiedades de barrera	197
7.	Propiedades mecánicas.....	199
8.	Análisis termo-mecánico.....	201
PARTE III: ESTUDIO DE LA LIBERACIÓN DEL AGENTE ANTIMICROBIANO		204
MATERIALES Y MÉTODOS.....		204
1.	Difusión del sorbato de potasio.....	204

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	208
-------------------------------------	-----

CONCLUSIONES

1. Caracterización de los almidones	217
1.1 Almidones nativos.....	217
1.2 Almidones químicamente modificados de maíz	218
2. Películas de almidones nativos y químicamente modificados de maíz.....	219
2.1 Optimización de las formulaciones	220
3. Películas a base de mezclas de almidón de maíz nativo y acetilado	220
3.1 Optimización de las formulaciones	220
4. Caracterización de las matrices	220
5. Películas por extrusión	222
6. Películas activas de almidón de maíz	223

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS	225
--	-----

Capítulo 1:

INTRODUCCIÓN

1. Consideraciones generales

El crecimiento de la población mundial es exponencial y para satisfacer sus necesidades se ha incrementado el desarrollo y extendido el uso de una gran diversidad de materiales en la producción, conservación y comercialización de los alimentos. Actualmente, muchos esfuerzos están orientados hacia la investigación y desarrollo del área de envasado de alimentos debido a la demanda de productos cada vez más seguros, nutritivos, duraderos y de alta calidad, siendo innumerables los avances tecnológicos conseguidos en este sector. A la hora de elegir un envase para un producto, es necesario conocer los mecanismos de deterioro primarios del producto y el material que mejor se adapta a las condiciones del mismo. Se dispone de una amplia gama de envases de diversos materiales y características para satisfacer la demanda de la gran cantidad de productos alimenticios que existen en la actualidad. Debido a esta enorme variabilidad no es posible el uso de un envase ideal que sea válido para todos ellos y, por lo tanto, es necesario seleccionar para cada uso el envase y la tecnología de envasado más adecuados en función de distintos parámetros como: las características del producto, forma de transporte y distribución comercial, vida útil esperada, costos, posibilidad de reutilización o reciclado de los materiales, compatibilidad con el medio ambiente, etc. Inicialmente, dentro de las materias primas utilizadas en la fabricación de envases para alimentos se pueden citar el metal, el vidrio y el papel. En los últimos cincuenta años ha habido una sustitución gradual de estos materiales por polímeros provenientes de la industria petroquímica ya que los mismos permiten obtener materiales flexibles con características distintivas. A pesar de que la mayoría de los productos poliméricos sintéticos derivados del petróleo garantizan la protección deseada en términos de costo, conveniencia, formato, marketing y características físicas, químicas y ópticas, tienen la desventaja de que no son biodegradables, siendo responsables de gran parte de los residuos contaminantes que se acumulan en la naturaleza. Además, su fabricación requiere un alto costo energético y generalmente se descartan tras el primer uso, siendo su destrucción también muy costosa y contaminante. Por lo tanto, ha surgido la necesidad de proponer restricciones ambientales basadas en una verdadera política de control de residuos no degradables con el fin de reducir la cantidad de desechos de envases además de reutilizar los materiales y reciclarlos para producir nuevos insumos. Así, se han realizado numerosos estudios para valorar algunos materiales alternativos; en ese sentido, surgió el concepto de materiales biodegradables asociado al uso de materias primas renovables. Los mismos son capaces de ser degradados por el medio

ambiente (expuestos a condiciones óptimas de humedad, microorganismos presentes en el suelo y oxígeno) en sustancias simples (agua y dióxido de carbono) y biomasa. El reemplazo de los envases sintéticos convencionales por materiales biodegradables puede reducir el uso de recursos no renovables y disminuir los desechos ambientales a través del reciclado biológico del sistema. Si bien, estos materiales son considerablemente más caros que los sintéticos convencionales, el mejoramiento de las prácticas de producción, que puedan realizarse a escala industrial y el aumento de los costos de los recursos fósiles conduciría a una situación económica más favorable.

2. Películas biodegradables

Dentro de los materiales que pueden utilizarse para desarrollar envases para alimentos se encuentran las **películas biodegradables**. Estas películas no pretenden reemplazar a las de polímeros sintéticos sino que se proponen como envases auxiliares mejorando la eficiencia de los materiales tradicionales. La utilidad de estas películas está determinada por sus propiedades mecánicas y de barrera, las cuales dependen de la microestructura y composición. La interpretación de estos aspectos básicos aporta datos útiles y permiten caracterizar las películas desarrolladas para su aplicación industrial.

Las formulaciones deben incluir al menos un componente capaz de formar una matriz cohesiva y continua. Los materiales básicos utilizados para el desarrollo de las mismas son: proteínas (de gluten, de suero, de leche, etc), lípidos (ceras naturales, ácidos grasos, etc.) y polisacáridos (celulosa y derivados, almidón y otros hidrocoloides), (Embuscado y Huber, 2009). Otro de los componentes que se incluye en las formulaciones son los plastificantes, los cuales ayudan a mantener la integridad de las películas, ya que reducen su fragilidad, aumentando la flexibilidad y la resistencia a la ruptura (Sothornvit y Krochta 2005). Los requerimientos básicos para un plastificante en un sistema polimérico son su compatibilidad con el polímero formador de la matriz y su permanencia dentro de la estructura resultante. Al adicionarse a la formulación, los plastificantes se asocian fisicoquímicamente con el polímero, reduciendo la cohesión de la estructura, interfieren en la asociación de las cadenas poliméricas, facilitan su deslizamiento, por lo que aumentan la flexibilidad de las películas. Ejemplos de plastificantes de grado alimentario son los polialcoholes (glicerol, sorbitol, manitol, sacarosa, propilenglicol y polietilenglicol), siendo el agua el plastificante más común (Lazaridou y Biliaderis, 2002; Mali y col., 2002).

Además, diversas sustancias se pueden incorporar a las formulaciones modificando las propiedades mecánicas, protectoras, organolépticas o nutricionales de las películas. El efecto depende de la concentración del aditivo y de su estructura química, grado de interacción y difusión en la película. De particular interés resulta la incorporación de nutrientes, vitaminas y preservadores, fundamentalmente agentes antimicrobianos y antioxidantes, generando películas activas con funcionalidades específicas (Chana-Thaworn y col., 2011; Shen y col., 2010; Fajardo y col., 2010; Salleh y col., 2009; Kristo y col., 2008; Famá y col., 2007, 2006 y 2005; Flores y col., 2007; Choi y col., 2005).

3. Películas de polisacáridos

Los polisacáridos son polímeros, cuyos monómeros constituyentes son monosacáridos, unidos mediante enlaces glucosídicos; que cumplen principalmente funciones estructurales y de reserva energética.

El almidón es el segundo componente en orden de abundancia en la naturaleza después de la celulosa y tiene aplicaciones en diversas industrias (alimenticia, farmacéutica, textil y papelera). Los almidones constituyen, a su vez, un componente mayoritario en el consumo humano, aportando entre el 75 y 80% del consumo energético total. Está formado por dos tipos de moléculas: la amilasa, de estructura lineal, que se encuentra generalmente en un porcentaje de entre 20 y 30%; y la amilopectina, de estructura ramificada, cuyo porcentaje varía del 70 al 80%. Las proporciones de amilosa y amilopectina dependen de la fuente vegetal. Dentro de las posibles aplicaciones del almidón en la industria alimenticia podemos mencionar los siguientes: ligante, estabilizante de espumas, gelificante, glaseante, humectante, estabilizante, texturizante y espesante. Para el desarrollo de películas biodegradables, el almidón ha recibido una considerable atención debido a su naturaleza totalmente biodegradable, buena capacidad formadora de películas y bajo costo (García y col., 2000; Liu, 2005; Lourdin y col., 1997; van Soest y Essers, 1997; Arvanitoyannis y col., 1999 y 1998). Las propiedades funcionales y nutricionales de estas películas comestibles, en conjunción con su biodegradabilidad comparada con otros polímeros, podría también garantizar su consideración en un futuro cercano (Arvanitoyannis y col., 1998).

3.1 Fuentes de almidón

3.1.1 Almidones nativos

Los almidones comerciales se obtienen de las semillas de cereales, particularmente de maíz (*Zea mays*), trigo (*Triticum* spp.), arroz (*Oryza sativa*) y de algunas raíces y tubérculos, especialmente de papa (*Solanum tuberosum*), batata (*Ipomoea batatas*) y mandioca (*Manihot esculenta*).

El maíz se considera la fuente de almidón más importante a nivel mundial (Figura 1.1).



Figura 1.1. Mazorcas de maíz (*Zea mays*)

En la campaña 2009/10 la producción mundial de maíz alcanzó 704 millones de toneladas, siendo Estados Unidos el mayor productor con el 34% de la producción total mundial, mientras que la Argentina se encuentra en el 7° lugar con el 2% de la producción total (Figura 1.2).

El método de obtención del almidón de maíz es la molienda húmeda; es una técnica que permite a partir del grano obtener almidón y otros productos (aceites, alimentos balanceados, harinas de gluten, tortas de germen y productos de hidrólisis). Las operaciones que tienen lugar en este método son: secado, maceración, extracción del germen, separación del almidón de las proteínas, filtración, decantación y secado.

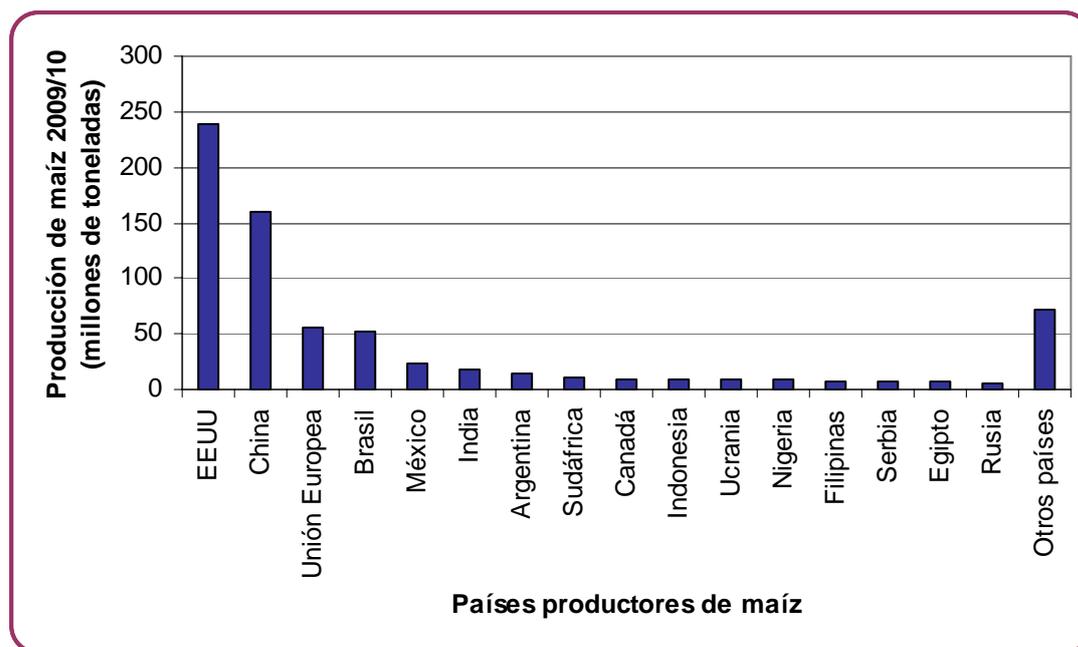


Figura 1.2. Principales países productores de maíz. Campaña 2009/10

Fuente: <http://www.agropanorama.com/news/Produccion-Mundial-de-Maiz.htm>

Aunque la principal fuente de almidón para uso humano son los cereales, las raíces y tubérculos también son cultivos importantes. De la producción anual total de almidón, aproximadamente el 67% corresponde a los cereales y el 33% a raíces y tubérculos (Burrell, 2003). El cultivo de tubérculos se encuentra ampliamente distribuido, de los cuales cinco especies proporcionan casi un 99% de la producción mundial: papa (46%), mandioca (28%), batata (18%) y ñame (*Dioscorea spp.*, 6%).

El proceso de extracción de almidón de tubérculos es muy sencillo y consta de las siguientes etapas: lavado, pelado, rallado, filtración, decantación y secado.

La mandioca es un arbusto perenne euforbiáceo, autóctono y extensamente cultivado en Sudamérica y el Pacífico por su raíz rica en almidón de alto valor alimentario (Figura 1.3). La mandioca es la séptima fuente mayoritaria de alimentos básicos del mundo, siendo uno de los más importantes recursos para la alimentación en extensas áreas de los trópicos. Es un cultivo apreciado por su adaptabilidad a diversos ambientes ecológicos, la facilidad con que se cultiva y su gran productividad.



Figura 1.3. Planta de Mandioca (*Manihot esculenta*)

La ahípa (*Pachyrhizus ahípa*) es una planta leguminosa cuya raíz tuberosa acumula almidón como principal compuesto de reserva (Grau, 1997), produce semillas (a partir de las cuales se propaga el cultivo) y tiene sus hojas y tallos impregnados de rotenona, una sustancia con propiedades insecticidas (Figura 1.4). Es una especie cultivada antiguamente en la región andina de Bolivia, Sur de Perú y Noroeste de Argentina, que alcanzó su máximo auge hace más de 500 años (Fassola y col., 2006). Su cultivo ha ido disminuyendo, restringiéndose a pequeñas parcelas en valles aislados, debido a los cambios culturales de las comunidades originarias, acentuados como consecuencia del fenómeno de la globalización, que tiende a favorecer el desarrollo de especies no autóctonas. Además, la ahípa presenta algunas dificultades biológico-agronómicas ya que su producción eficiente requiere un manejo cuidadoso del cultivo que incluye la poda sistemática de flores y frutos jóvenes durante el ciclo (Matos y col., 1998; Grau, 1997). Sin embargo, su capacidad productiva y de fijación simbiótica de nitrógeno es relativamente elevada, presentando además tolerancia al ataque de plagas. Estas características le otorgarían potencialidades como cultivo alternativo y/o complementario al de mandioca, factible de incorporar a los planteos rotacionales o como cultivo intercalar en forestaciones, favoreciéndose la diversificación productiva.



Figura 1.4. Planta de Ahipa (*Pachyrhizus ahipa*)

3.1.2 Películas formuladas a partir de almidones nativos

La obtención y caracterización de películas a base de almidones nativos de diversas fuentes biológicas ha sido ampliamente estudiada por diversos autores (López y col., 2008 2010 y 2011; Flores y col., 2010; Zhou y col., 2009; García y col., 2000, 1999 y 1998; Bertuzzi y col., 2007; Zhang y Han, 2006; Shogren y col., 1993; Mali y col., 2002, 2004 y 2005; Famá y col., 2005, 2006 y 2007, Karam y col., 2005 y 2006; Romero Bastidas y col., 2005, Alves y col., 2002). Sin embargo, la naturaleza hidrofílica del almidón es la principal desventaja que limita el desarrollo de estos materiales; ya que muchas de sus propiedades dependen de la humedad ambiente (Shogren y col., 1993). Así, una alternativa para reducir estos inconvenientes es el uso de almidones modificados (Lafargue y col., 2007).

3.2 Almidones modificados

Los métodos para modificar los almidones nativos pueden clasificarse en físicos o químicos. Los métodos físicos utilizan calor y humedad (pregelatinización); mientras que los métodos químicos involucran la introducción de grupos funcionales dentro de las moléculas constituyentes del almidón mediante reacciones de derivatización (eterificación, esterificación, entrecruzamiento o grafting) o reacciones de

descomposición (hidrólisis ácida o enzimática y oxidación). La derivatización química ha sido ampliamente estudiada para producir materiales con baja sensibilidad a la humedad (Fringant y col., 1998). Además, se puede obtener almidones dualmente modificados mediante la combinación de sustitución y entrecruzamiento.

La modificación del almidón es una herramienta a partir de la cual es posible obtener derivados con diferentes propiedades específicas, por ejemplo permite controlar el comportamiento reológico de sus pastas, la tendencia a la retrogradación y la estabilidad al proceso de congelación-descongelación, entre otros (Singh y col., 2007).

Así, el estudio de las propiedades fisicoquímicas, estructurales y funcionales, es relevante para determinar los potenciales usos de estos derivados en la industria de alimentos.

3.2.1 Películas formuladas a partir de almidones modificados

Se ha informado el uso de almidones químicamente modificados para el desarrollo de películas, principalmente sustituidos y pregelatinizados (López y col., 2011, 2010 y 2008; Bonacucina y col., 2006; Tarvainen y col., 2004 y 2002; Fringant y col., 1998). Además, a partir de estos almidones se han formulado películas compuestas con otros biopolímeros como gelatina (Arvanitoyannis y col., 1998) y κ -carragenina (Lafargue y col., 2007) y películas biodegradables laminadas (Fang y col., 2005). Sin embargo, esta alternativa es objeto aún de numerosos estudios.

OBJETIVOS GENERALES

El presente trabajo de Tesis está dedicado al desarrollo de películas a base de almidones nativos y químicamente modificados debido a que el uso de estos biopolímeros abre un gran potencial económico y benéfico en el área del envasado de alimentos utilizando una materia prima de bajo costo proveniente de un recurso renovable.

Los **objetivos generales** propuestos son los siguientes:

1. Caracterizar las propiedades fisicoquímicas, estructurales y funcionales de almidones nativos, provenientes de diferentes fuentes botánicas y de almidones de maíz químicamente modificados.
2. Desarrollar películas biodegradables a partir de los almidones mencionados a escala de laboratorio, por el método de moldeo y deshidratación y a escala semindustrial, por el método de extrusión y soplado; optimizando las formulaciones y las condiciones de procesamiento.
3. Caracterizar las películas obtenidas evaluando el efecto de la composición de las formulaciones sobre las propiedades de los materiales desarrollados.
4. Evaluar la capacidad y resistencia de termosellado de las películas desarrolladas con el propósito de obtener envases para alimentos, estudiando además la biodegradabilidad de estos materiales.
5. Desarrollar películas activas incorporando sorbato de potasio a las formulaciones, estudiar el efecto del antimicrobiano sobre las propiedades de las películas y la cinética de liberación del aditivo desde la matriz polimérica.

Capítulo 2:
CARACTERIZACIÓN
FISICOQUÍMICA,
MICROESTRUCTURAL Y
FUNCIONAL DE LOS
ALMIDONES

INTRODUCCION

El almidón es un carbohidrato importante a nivel mundial debido a su amplio uso en la industria de alimentos, agroquímica y farmacéutica, entre otras. El estudio y la evaluación de las características y propiedades funcionales de este polisacárido son necesarios para poder sugerir posibles usos y aplicaciones industriales del mismo.

1. El almidón

Es un polisacárido de reserva energética de los vegetales y se localiza principalmente en raíces, tubérculos, frutas y semillas. En los tejidos vegetales se presenta en entidades discretas, semicristalinas, las cuales reciben el nombre de gránulos. El tamaño, forma y estructura de los gránulos difieren substancialmente con la fuente botánica. Su forma es variada: esféricos o con forma de discos para los de trigo, poliédricos en arroz y maíz, con forma de ostras irregulares en papa, filamentosos en almidón de maíz de alto contenido de amilosa, etc. (Whistler, 1984).

El almidón está compuesto fundamentalmente por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina. Los gránulos también contienen trazas de otros constituyentes como lípidos polares, nitrógeno y fósforo, en forma de fosfolípidos, que, en muchas ocasiones, juegan un rol importante en las propiedades funcionales del almidón (Belitz, 1997). La relación amilosa/amilopectina y su organización física dentro de la estructura granular, le confieren a los almidones propiedades fisicoquímicas y funcionales características (Bello-Pérez, 1985).

La amilosa (Figura 2.1) se compone principalmente de cadenas de restos de α -D-glucopiranosilo unidas por enlaces α -(1 \rightarrow 4). Aunque se admite que se trata de un polímero lineal, existe una pequeña proporción de ramificaciones por enlaces α -(1 \rightarrow 6) (Thomas y Atwell, 1999). El tamaño molecular varía entre 1×10^5 y 1×10^6 Da y puede contener entre 500 y 6000 unidades de glucosa. La naturaleza lineal y de gran longitud le confieren a la amilosa algunas propiedades únicas, como por ejemplo su capacidad para formar complejos con yodo, alcoholes o ácidos orgánicos y su tendencia a asociarse consigo misma, precipitando de la solución. Cuando se enfría, la amilosa presenta una fuerte tendencia a la retrogradación, donde cristaliza formando geles de almidón, aumentando así la viscosidad de la solución.

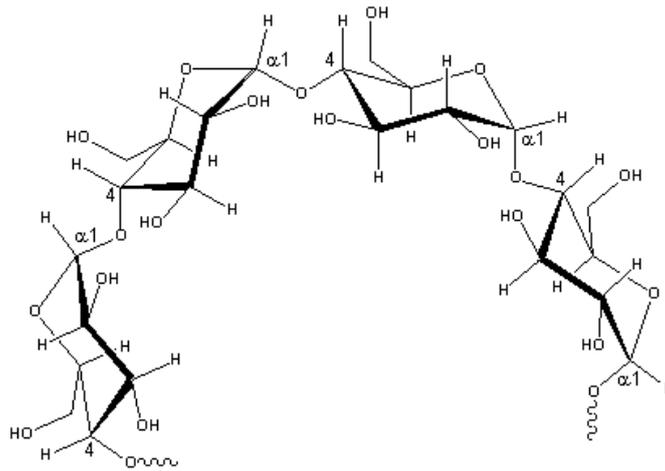


Figura 2.1. Estructura química de la amilosa

La amilopectina (Figura 2.2) está formada por α -D-glucosa, concatenada fundamentalmente por enlaces α -(1 \rightarrow 4). Está mucho más ramificada que la amilosa, con un 4-5% de enlaces α -(1 \rightarrow 6). Se encuentra en una proporción de 70-80% y en ciertos casos alcanza niveles de hasta 98-99%, dependiendo de la fuente botánica del almidón (Zobel, 1988). Su estructura y proporción en el almidón contribuyen notablemente a las propiedades funcionales del mismo (Bello-Pérez y col., 2002). El peso molecular es del orden de 10^8 Da, con aproximadamente 600000 restos de glucosa y se encuentra ramificada al azar. Posee una alta viscosidad intrínseca debido a su estructura ramificada y su alto peso molecular. Por calentamiento en agua, proporciona soluciones claras y de alta viscosidad, que son además filamentosas y cohesivas. Sus soluciones no tienen casi tendencia a la retrogradación, tampoco presentan envejecimiento ni formación de gel, aunque la concentración de las mismas sea muy elevada.

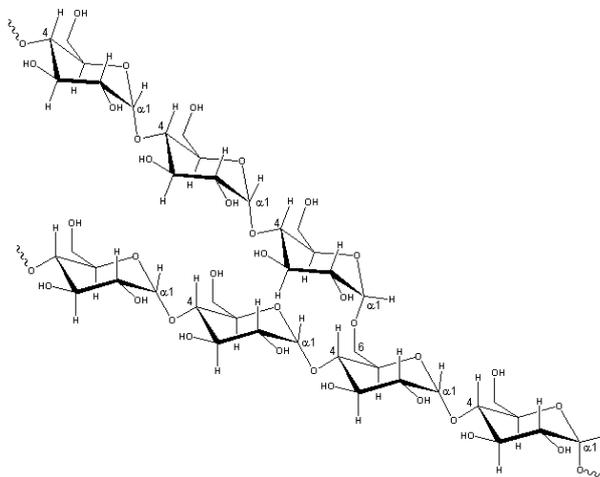


Figura 2.2. Estructura química de la amilopectina

Los gránulos de almidón son anisotrópicos debido a la presencia de regiones cristalinas en una masa predominantemente amorfa, dando como resultado el fenómeno de doble refringencia o birrefringencia y que a la luz polarizada se evidencie como una cruz de malta (Katz y col., 1993), (Figura 2.3).

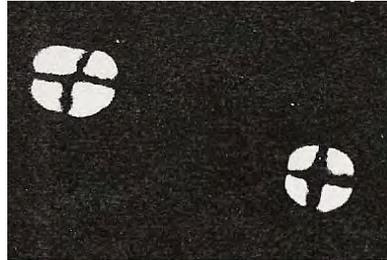


Figura 2.3. Gránulos de almidón mostrando cruces de malta
Fuente: Hoseney (1991)

La región cristalina está formada por cadenas de racimos de la amilopectina mientras que la región amorfa por puntos ramificados de la amilopectina y por la amilosa (Zobel, 1988). La región cristalina ha sido la más estudiada, además la estructura de los gránulos de almidón y el arreglo de sus componentes permiten explicar las propiedades fisicoquímicas y funcionales, como así también la digestibilidad de los diferentes almidones.

1.1 Modificación del almidón

En la industria de alimentos los almidones se han usado ampliamente como agentes espesantes o estabilizantes para proveer a los productos propiedades tales como textura y apariencia (Saartrat y col., 2005). Sin embargo, los almidones nativos pueden no ser adecuados para el desarrollo de determinados productos. Una alternativa para mejorar las propiedades y ampliar el uso de este polisacárido consiste en la modificación del almidón mediante métodos químicos o físicos. La modificación física se realiza mediante calor y humedad (pregelatinización), mientras que los métodos químicos involucran la introducción de grupos funcionales a partir de reacciones de derivatización (eterificación, esterificación, entrecruzamiento, etc.) o de descomposición (hidrólisis ácida o enzimática u oxidación) (Singh y col., 2007; Wursburg, 1986). El estudio y la evaluación de los efectos de las modificaciones sobre la estructura de los gránulos de almidón es necesaria para determinar las propiedades funcionales y desarrollar así almidones con determinadas propiedades específicas.

1.2 Gelatinización

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero se hinchan cuando se calientan en un medio acuoso. Inicialmente el hinchamiento es reversible y las propiedades ópticas del gránulo no se pierden; sin embargo cuando se alcanza una cierta temperatura, el hinchamiento llega a ser irreversible afectando la estructura del gránulo. Este proceso es conocido como gelatinización y ocurre en un intervalo de temperatura, ya que los gránulos presentan diferente resistencia debido a su composición y grado de cristalinidad. La gelatinización es un proceso endotérmico que va acompañada de la lixiviación de la amilosa y pérdida de la birrefringencia del gránulo. Al final de este fenómeno se genera una pasta en la que existen cadenas de amilosa de bajo peso molecular altamente hidratadas que rodean a los restos de los gránulos, también hidratados.

La intensidad de la gelatinización depende de la fuente botánica de la que proviene el almidón, del contenido de humedad de la muestra y de ciertas condiciones experimentales tales como pH, presencia de sólidos, etc. (Huang y Rooney, 2001).

1.3 Retrogradación

Varios autores consideran que los geles están compuestos por una matriz de amilosa que contiene gránulos gelatinizados compuestos mayoritariamente por amilopectina (Ring y col., 1987 y 1983; Miller y col., 1973 y Ott y Hester, 1965). El desarrollo de la estructura y cristalinidad de los geles de almidón a corto tiempo está dominado por la gelación y cristalización de la amilosa. Los aumentos en el módulo de elasticidad de los geles durante el almacenamiento están ligados a la cristalización de la amilopectina, aumentando la rigidez de los gránulos y reforzando la matriz de amilosa (Miles y col., 1985 a). La formación de cristales va acompañada por un aumento gradual en la rigidez y la separación de las fases entre el polímero y solvente (sinéresis). Estos procesos se agrupan bajo el término de retrogradación y afectan la textura, digestibilidad y aceptación por el consumidor de los productos a base de almidón. Dada la relevancia en su aspecto tecnológico estos procesos han sido ampliamente estudiados (Navarro y col., 1995; Ferrero y col., 1993; Biliaderis, 1992; Miles y col., 1985 a y b).

A nivel molecular se caracteriza por una asociación paralela mediante puentes de hidrógeno de las cadenas de amilosa lixiviadas, produciendo una red tridimensional donde quedan los gránulos hinchados, y dentro de éstos la amilopectina recrystaliza, en un arreglo que dependerá del tipo de almidón y la temperatura a la que se almacenan los

productos (Farhat y col., 2001). Eventualmente se forman agregados cristalinos, acompañados por un incremento gradual en la rigidez, opacidad en la suspensión y sinéresis (Huang y Rooney, 2001; Biliaderis, 1992). Cada almidón tiene una tendencia diferente a la retrogradación que esta relacionada principalmente con su contenido de amilosa, ya que la amilopectina está más limitada debido a que sus ramificaciones impiden la formación de puentes de hidrógeno entre cadenas adyacentes. Las fracciones de amilosa o las secciones lineales de amilopectina que retrogradan, forman zonas con una organización cristalina muy rígida, que requiere de una alta energía para que el almidón gelatinice.

OBJETIVOS

Los **objetivos** planteados para este capítulo son los siguientes:

- Desarrollar un proceso de extracción de almidón a partir de raíces tuberosas de ahípa (*Pachyrhizus ahípa*) y mandioca (*Manihot esculenta*) a escala de laboratorio que permita obtener muestras representativas.
- Caracterizar fisicoquímica y microestructuralmente almidones nativos (maíz y extraídos de raíces tuberosas de ahípa y mandioca) y almidones de maíz químicamente modificados.
- Estudiar las propiedades funcionales que determinan las aplicaciones tecnológicas de estos almidones.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Muestras de almidones nativos

Se utilizó almidón de maíz nativo provisto por Misky (Arcor, Tucumán, Argentina) y almidones extraídos a partir de raíces tuberosas de ahípa (*Pachyrhizus ahípa*) y de mandioca (*Manihot esculenta*) provistas por la Chacra experimental de la EEA INTA Montecarlo, cosechadas en el año 2007.

1.1 Extracción del almidón de ahípa y mandioca

El proceso que a continuación se describe se adaptó tanto a la extracción de almidón de ahípa como de mandioca (Figura 2.4).

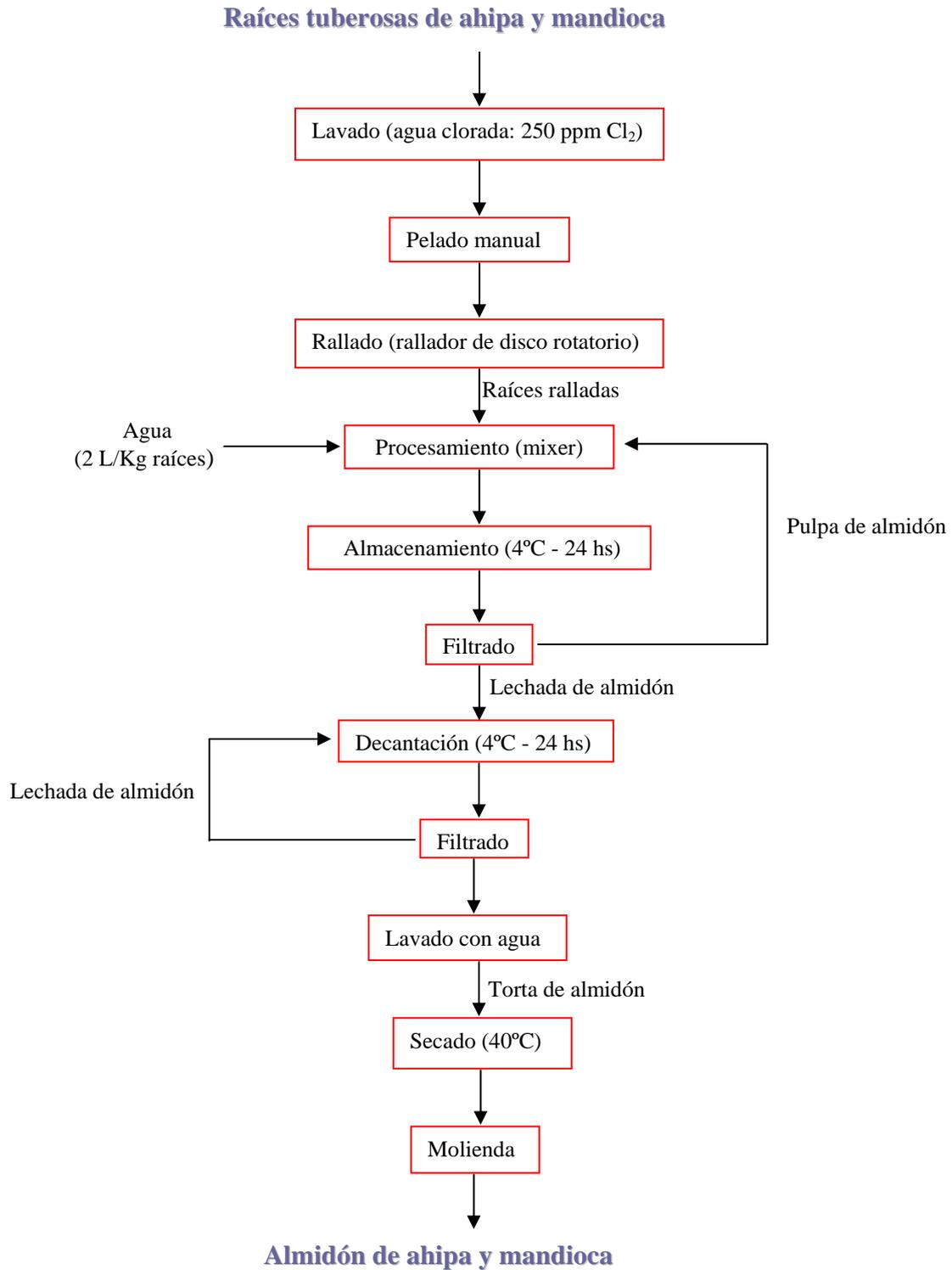


Figura 2.4. Diagrama de flujo del proceso de extracción de almidón de ahípa y mandioca

La extracción comenzó con la recepción de la materia prima y el lavado de las raíces para eliminar restos de tierra. Con el fin de reducir la carga microbiana de las raíces se incorporó una etapa de sanitización que consistió en el lavado con solución de hipoclorito de sodio (250 ppm de Cl_2) durante 10 minutos. Luego las raíces se pelaron y se procesaron con un rallador de disco rotatorio especialmente diseñado para este fin. La pasta rallada se colocó en agua (2L/Kg raíces), y se almacenó a 4 °C durante 24 hs. Luego, la mezcla se filtró a través de una muselina y se obtuvo el almidón en suspensión acuosa, denominado “lechada de almidón”. La suspensión se decantó a 4 °C y se recuperó el material insoluble sedimentado constituido principalmente por almidón, el que luego se secó a 40 °C. Finalmente, el material seco se sometió a molienda. Para el cálculo del rendimiento de la extracción se realizó el balance de masas del proceso, lo que permitió calcular la relación entre los pesos de las raíces y del almidón extraído.

1.2 Determinación del contenido de nitrógeno total del almidón extraído de ahípa y mandioca

Para evaluar la pureza de los almidones extraídos se determinó el contenido de proteínas presente mediante el método de Kjeldahl. Este método cuantifica el nitrógeno total, proveniente principalmente de las proteínas, y mediante un factor de conversión se estima la cantidad de las mismas presente en la muestra.

Se colocaron aproximadamente 0.8 g de la muestra de almidón en tubos de vidrio del digestor. Se agregó la mezcla catalizadora de sulfato cúprico y de sodio (1:10) y 15 ml de H_2SO_4 concentrado. El proceso de digestión comenzó con un calentamiento suave elevando luego la temperatura hasta que no se observaron partículas carbonosas sin oxidar; el líquido quedó translúcido, considerándose así que se completó la digestión de la materia orgánica. La solución resultante se dejó enfriar para luego comenzar la destilación de cada tubo.

En el erlenmeyer sobre el cual se iba a recoger el NH_3 destilado, se colocaron 50 ml de solución de H_3BO_3 al 4% p/v y 5 gotas del indicador Mórtimer. La solución se tornó de color rojo claro. El tubo con el digerido se colocó en el destilador y se adicionó solución de NaOH al 32% p/v para neutralizar el H_2SO_4 y un exceso para que el medio se tornara fuertemente alcalino (aparición de un color pardo oscuro).

Se realizó la destilación hasta que el color de la solución viró al verde-azulado. El destilado recogido se tituló con una solución de H_2SO_4 valorada hasta que el color del mismo viró nuevamente al rojo claro.

A partir de los datos obtenidos se calculó el contenido de proteínas, expresado en porcentaje en peso, a partir de la siguiente ecuación:

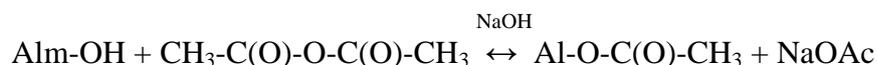
$$\text{Proteína (\% p/p)} = \frac{(V_{\text{muestra}} - V_{\text{blanco}}) * N_{\text{H}_2\text{SO}_4} * 0.014 * \text{factor de conversión}}{\text{peso de la muestra (g)}} * 100 \quad [2.1]$$

donde: V_{muestra} = volumen de ácido gastados para valorar la muestra (mL), V_{blanco} = volumen de ácido gastados para valorar el blanco (mL), 0.014: peso de un meq de N_2 , factor de conversión = 6.25.

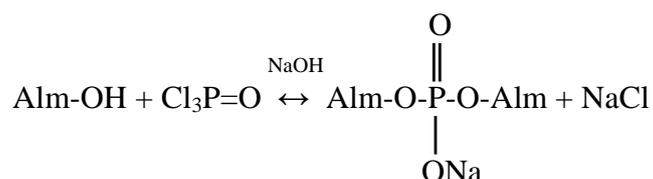
2. Muestras de almidones de maíz modificados

Se utilizaron almidones de maíz químicamente modificados provistos y sintetizados por Misky (Arcor, Tucumán, Argentina):

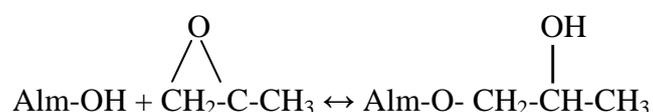
- *Almidón acetilado*: la esterificación se realizó con anhídrido acético en presencia de un catalizador alcalino.



- *Almidón acetilado entrecruzado*: la acetilación se llevó a cabo en las condiciones anteriormente descritas y el entrecruzamiento se realizó con oxiclورو de fósforo. La siguiente reacción corresponde al proceso de entrecruzamiento:



- *Almidón hidroxipropilado entrecruzado*: la eterificación se realizó con óxido de propileno bajo condiciones altamente alcalinas y para el entrecruzamiento se empleó POCl_3 . La eterificación se ejemplifica a partir de la siguiente reacción:



- *Almidón modificado vía ácida*: la hidrólisis ácida se realizó por la adición de ácido al almidón bajo condiciones de agitación desde los 25° C hasta 60°C (temperatura inferior a la temperatura de gelatinización del almidón de maíz nativo) hasta alcanzar el grado de hidrólisis deseado. Luego se neutralizó y los gránulos de almidón se recuperaron por filtración, se lavaron y secaron.

2.1 Extensión de la modificación

Para evaluar la extensión de la modificación de los almidones sustituidos se determinaron los correspondientes porcentajes de sustitución y grados de sustitución molar.

El *porcentaje de sustitución* corresponde a los gramos del sustituyente en 100 g de almidón seco (Wurzburg, 1986). Para el almidón acetilado y el acetilado entrecruzado se determinaron sus correspondientes grados de acetilación (GA) mientras que para el almidón hidroxipropilado entrecruzado se calculó el grado de hidroxipropilación (GH). El grado de acetilación se determinó mediante la técnica desarrollada por Ogawa y colaboradores (1999). Se preparó una suspensión acuosa de almidón (10% p/p en base seca) a la que se le adicionaron unas gotas de fenolftaleína e NaOH 0.1 M hasta que la solución cambió de color. Luego se agregaron 25 mL de NaOH 0.45 M y la mezcla se agitó durante 30 min, con el erlenmeyer tapado para evitar la evaporación del acetato de sodio formado durante la reacción de saponificación. Finalmente, el exceso de álcali en la muestra se tituló con una solución valorada de HCl 0.2 M. Se realizó un ensayo en blanco (sin almidón) siguiendo el mismo procedimiento. El GA se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$GA \% = \frac{(A - B) \times C_{HCl} \times 43 \times 100}{M} \quad [2.2]$$

donde A y B son los volúmenes de solución de HCl utilizados para titular el blanco y la muestra respectivamente, expresados en mL; C_{HCl} es la concentración de la solución de HCl; 43 es el peso molecular del grupo acetilo (CH_3CO-), expresado en mg/mmol y M es la masa de la muestra de almidón, expresada en mg.

El grado de hidroxipropilación se determinó usando una modificación del método propuesto por Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2001). La muestra de almidón (50-100 mg) se pesó en un matraz, se agregaron 25 mL de H_2SO_4

0.5 M, calentando suavemente hasta que la solución se aclaró. La muestra se enfrió, se diluyó hasta 100 mL con agua destilada y 1 mL de la misma se transfirió a un tubo de ensayo. El tubo se colocó en un baño de hielo y se agregaron 8 mL de solución de H₂SO₄ concentrado. La solución se agitó, se colocó durante 3 min en un baño de agua hirviendo y luego se transfirió inmediatamente a un baño de hielo hasta que la misma se enfrió nuevamente.

Una alícuota de 0.6 mL de reactivo de ninhidrina se agregó cuidadosamente por las paredes del tubo. El reactivo de ninhidrina se preparó disolviendo 100 mg de ninhidrina con 10 mL de etanol (96%) y luego se llevó a 100 mL con agua destilada. El tubo se agitó, se colocó en un baño a 25 °C durante 10 min y luego la solución se llevó a 25 mL con H₂SO₄ concentrado. Se preparó una muestra de almidón nativo siguiendo el mismo procedimiento.

Se transfirió una alícuota de la solución a una celda espectrofotométrica y luego de 5 min se leyó la absorbancia de la misma a 590 nm, usando H₂SO₄ concentrado como referencia. Se utilizó un espectrofotómetro Beckman DU650 (Palo Alto, CA, USA). Para construir la curva de calibración se utilizaron soluciones de propilenglicol cuyas concentraciones variaron entre 0.05 y 0.30 mg/mL.

El GH se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{GH \%} = \frac{F}{76.10} \times \left[\frac{C(\text{nativo})}{M(\text{nativo})} - \frac{C(\text{modificado})}{M(\text{modificado})} \right] \quad [2.3]$$

donde C es la concentración de propilenglicol en la solución (obtenida a partir de la curva de calibración), expresada en mg/mL; F es un factor de dilución; 76.10 es el peso molecular del propilenglicol (C₃H₈O₂), expresado en mg/mmol y M es la masa de la muestra de almidón, expresada en mg.

El **grado de sustitución** de los almidones modificados se define como el número de grupos hidroxilos (OH) sustituidos por unidad estructural de anhidroglucosa del polímero de almidón (Fang y col., 2002). Los sustituyentes acetilo e hidroxipropilo tienen la capacidad de polimerizarse, por lo tanto en lugar de calcular el grado de sustitución se informa el **grado de sustitución molar** (GSM) que representa el número de moles de unidades monoméricas del sustituyente por mol de anhidroglucosa (Wurzberg, 1986). El GSM de los almidones acetilado y acetilado entrecruzado se calcularon a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{GSM}_{\text{acetilado}} = \frac{162 \times \left(\frac{\text{GA \%}}{43} \right)}{100 - \left(\frac{42}{43} \times \text{GA \%} \right)} \quad [2.4]$$

donde 162 es el peso molecular de la unidad anhidroglucosa ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$), 43 es el peso molecular del grupo acetilo ($\text{CH}_3\text{CO}-$) y 42 es el peso molecular del sustituyente monomérico ($-\text{CH}_2\text{CO}-$); todos expresado en mg/mmol.

Para el almidón hidroxipropilado entrecruzado, el GSM se calculó de la siguiente manera:

$$\text{GSM}_{\text{hidroxipropilado}} = \frac{162 \times \left(\frac{\text{GH \%}}{59} \right)}{100 - \left(\frac{58}{59} \times \text{GH \%} \right)} \quad [2.5]$$

donde 59 es el peso molecular del grupo hidroxipropilo ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-$) y 58 es el peso molecular del sustituyente monomérico ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})-$), ambos expresados en mg/mmol.

3. Caracterización fisicoquímica y microestructural de los almidones

3.1 Determinación de la concentración de amilosa

El método seleccionado se basa en que la fracción de amilosa tiene afinidad para formar complejos con yodo, los que pueden ser cuantificados espectrofotométricamente (Morrison y Laignelet, 1983). Esta técnica incluye la remoción de los lípidos presentes en el almidón ya que éstos podrían interferir en la determinación (MacGregor y Fincher, 1993).

Se pesaron 70-80 mg de almidón en un tubo y se añadieron 10 mL de solución 1:9 de urea 6M-dimetilsulfóxido (DMSO). El tubo se colocó en una estufa a 100 °C durante 1 hora, se retiró y dejó enfriar. Se tomaron 0,5 mL de la solución, se transfirieron a un tubo de 10 mL y se pesaron; este paso se realizó por duplicado. Se adicionaron 5 mL de etanol 99.5% v/v para remover los lípidos, se mezcló en un vórtex, se centrifugó 30 min a 5000g, descartándose el sobrenadante. Se adicionó 1 mL de la solución de urea-

DMSO y se mezcló en un vórtex, obteniéndose una solución clara. El contenido se transfirió a un matraz de 50 mL y se adicionaron aproximadamente 25 mL de agua destilada, 1 mL de solución de I₂ (2 mg I₂ y 20 mg KI /mL), se llevó a volumen con agua destilada y se homogeneizó. La absorbancia a 635 nm se midió en un espectrofotómetro Beckman DU650 (Palo Alto, CA, USA) y se calcularon el valor azul y el porcentaje de amilosa a partir de las siguientes fórmulas:

$$\text{Valor azul} = \frac{\text{Absorbancia} \times 100}{2 \times \text{g solución} \times \text{mg almidón}} \quad [2.6]$$

$$\text{Porcentaje de amilosa} = 28,414 \times \text{valor azul} \quad [2.7]$$

3.2 Morfología y distribución de tamaño de los gránulos

Se estudió por microscopía electrónica de barrido (SEM), utilizando un microscopio electrónico marca JEOL 35 CF (Japón) equipado con un detector secundario de electrones, con una resolución nominal de 60 Å, trabajando con un voltaje de aceleración fue de 15 KV. Las imágenes fueron obtenidas con el software IDX especialmente diseñado para adquirir imágenes digitales, con una resolución de 1024 x 800 píxeles. Para el procesamiento y el análisis de las imágenes se utilizó el software AnalySis Pro 3.0. Los parámetros morfológicos evaluados fueron los siguientes: diámetro medio, radio medio de Martins (calculado considerando el centro de gravedad de la partícula), diámetro de círculo equivalente (DCE, diámetro correspondiente al círculo con igual área equivalente) y el factor de forma (relacionado con la forma del gránulo que varía entre 0 y 1, correspondiendo este último a partículas circulares).

3.3 Espectroscopía de difracción de rayos X

Un espectro de difracción de rayos X de un material semicristalino, como el almidón, se caracteriza por la presencia de picos de absorción y una zona de contribución amorfa, cuanto mayor es esta zona menor es el grado de cristalinidad de la muestra (Figura 2.5). Esta técnica permite obtener información sobre la estructura del material analizado ya que el diagrama de difracción es como una “huella dactilar” de las sustancias cristalinas.

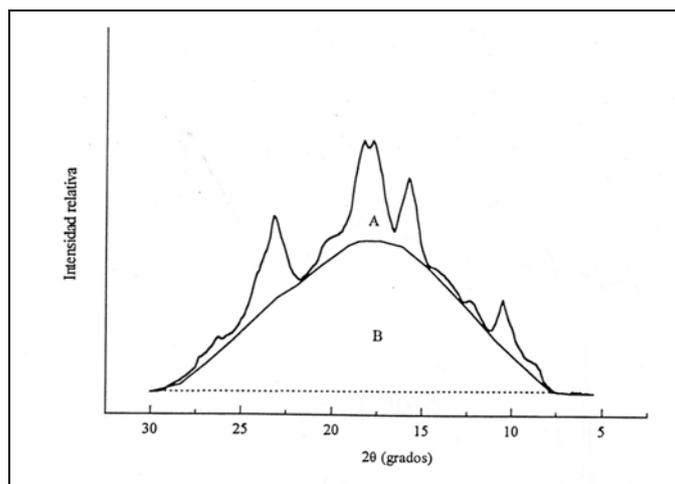


Figura 2.5. Diffractograma típico de un material semicristalino

Para el análisis de los almidones estudiados, se utilizó un difractómetro X'Pert Pro PAnalytical Model PW 3040/60 (Almelo, Holanda) provisto de un tubo con un ánodo de CuK, que emite radiación de $\lambda=1.543$ nm, y un detector que operó con una voltaje de 40 KV y una corriente de 40 mA. Los difractogramas se obtuvieron desde $2\theta = 3^\circ$ hasta $2\theta = 60^\circ$. Para cuantificar la cristalinidad, se utilizó una adaptación del método propuesto por Hermans y Weidinger (1948) para materiales semicristalinos; en el cuál se estima, mediante una integración, la relación del área de los picos de absorción (que se atribuye a las regiones cristalinas) respecto al área total de la muestra (Ottenhoff, 2003). El grado de cristalinidad de una muestra puede calcularse como:

$$\text{Grado de cristalinidad (\%)} = \frac{A}{(A+B)} \times 100 \quad [2.9]$$

donde A corresponde al área de los picos de absorción y (A+B) es el área total del difractograma, determinadas mediante el procesamiento de los difractogramas con el programa Origin versión 7.0, (OriginLab Corporation, USA).

4. Propiedades funcionales de los almidones

4.1 Gelatinización de las suspensiones

Para determinar las condiciones tiempo-temperatura que aseguraran la completa gelatinización de los almidones en estudio se prepararon suspensiones acuosas de los mismos al 4, 5 y 6% p/p. El proceso de gelatinización se llevó a cabo en un baño

termostatzado Haake (Alemania). Las temperaturas ensayas fueron 80, 85 y 90 °C y los tiempos de calentamiento variaron entre 5 y 30 min., tomando muestras que fueron observadas en un microscopio Leica DMLB (Heerbrugg, Alemania) equipado con luz polarizada y con una cámara fotográfica digital Leica DC 100.

4.2 Transiciones térmicas

La calorimetría diferencial de barrido es la técnica más comúnmente utilizada en la determinación de las transiciones de fase en los materiales orgánicos, inorgánicos o de origen alimenticio. Los calorímetros miden el flujo calórico diferencial requerido para mantener una muestra y una referencia inerte a la misma temperatura, sometidas a un programa de calentamiento o enfriamiento controlado. Los cambios entálpicos se registran como endotermas o exotermas, según el proceso que sufra la muestra.

Se utilizó un calorímetro diferencial de barrido Polymer Laboratories (Rheometric Scientific Surrey, Reino Unido) con un software PL-V5.41. Se utilizó indio para la calibración de la temperatura y flujo de calor. Se pesaron 7-10 mg de suspensión acuosa de almidón al 20% p/p y se colocaron en cápsulas de aluminio previamente pesadas que se sellaron herméticamente. Como referencia se utilizó una cápsula vacía. Las muestras se calentaron de 10 a 120 °C a una velocidad de 10 °C/min. Una vez analizadas las cápsulas se perforaron y se mantuvieron en estufa a 105 °C hasta peso constante para determinar el peso seco de las muestras. En los termogramas obtenidos se midieron las entalpías (ΔH , mJ/mg de muestra seca) y las temperaturas de la transición (temperatura de inicio T_o , de pico T_p y final T_f , °C) mediante el software PL-V5.41. En la Figura 2.6 se muestra un termograma típico y cada uno de los parámetros térmicos determinados a partir del mismo.

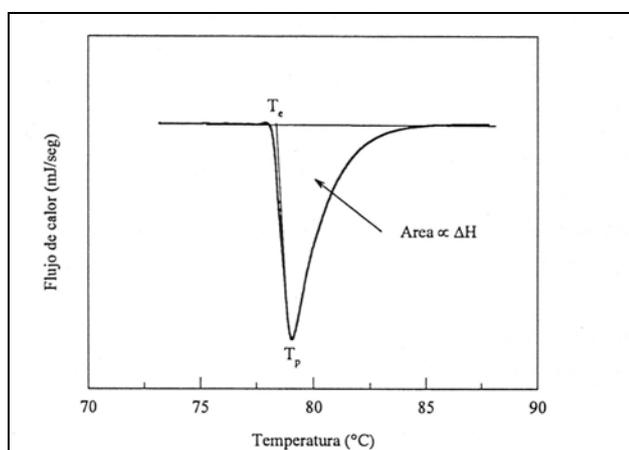


Figura 2.6. Termograma típico obtenido por DSC, donde se muestra el área, proporcional a la entalpía y las temperaturas de inicio (T_o) y de pico máximo (T_p).

4.3 Capacidad de hinchamiento de los gránulos

Se determinó de acuerdo a una modificación del método propuesto por Tsai y colaboradores (1997). Se prepararon suspensiones acuosas de almidón al 1% p/p que se colocaron en tubos de centrífuga con tapa, los que se calentaron a 55, 65, 75, 85, 90 y 95 °C durante 1 hora. Luego las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y centrifugaron a 5000g durante 15 min. La capacidad de hinchamiento se determinó como la razón entre el peso del almidón hidratado (sedimento) y el peso inicial del almidón seco.

4.4 Claridad de las pastas de almidón

Se empleó la técnica propuesta por Piyachomkwan y colaboradores (2002). Se prepararon suspensiones acuosas de almidón al 1% p/v que se gelatinizaron durante 30 min. en un baño de agua hirviendo. Luego, las mismas se enfriaron a temperatura ambiente y se midió a 650 nm el porcentaje de transmitancia de las pastas obtenidas, usando agua destilada como referencia, en un espectrofotómetro Beckman DU650 (Palo Alto, USA).

4.5 Caracterización reológica de las pastas de almidón

Las propiedades reológicas de un fluido se definen a partir de la relación existente entre un sistema de fuerzas externas y su respuesta. Todo fluido se va deformar en mayor o menor medida al someterse a fuerzas externas, representadas matemáticamente mediante el esfuerzo de corte o de cizalladura “ τ ”; la respuesta dinámica del fluido se cuantifica mediante la velocidad de deformación “ $\dot{\gamma}$ ”. Existen 3 tipos de fluidos:

a. Newtonianos: se caracterizan por cumplir la Ley de Newton, es decir, existe una relación lineal entre el esfuerzo de corte y la velocidad de deformación:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad [2.10]$$

donde η es la viscosidad dinámica o absoluta del fluido, la que puede calcularse como la pendiente de la recta de esfuerzo de corte vs. velocidad de deformación. Para este tipo de fluidos, la viscosidad es constante ya que no depende del esfuerzo de cizalladura ni del tiempo de aplicación del mismo, aunque sí puede depender de la temperatura y presión a la que se encuentre dicho fluido.

b. No Newtonianos: son aquellos en los que la relación entre esfuerzo de corte y velocidad de deformación no es lineal. Para este tipo de fluidos se calcula la viscosidad aparente definida para cada velocidad de deformación.

b.1 Independientes del tiempo de aplicación: se pueden clasificar según si requieren o no un mínimo valor de esfuerzo de corte (umbral) para que el fluido se ponga en movimiento.

b.1.1 Sin esfuerzo umbral

Pseudoplásticos: se caracterizan por una disminución de su viscosidad y del esfuerzo de corte con la velocidad de deformación. El comportamiento de un fluido pseudoplástico se puede modelar matemáticamente a partir de la Ley de la Potencia propuesta por Ostwald de Waele:

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad [2.11]$$

donde k (Pa/s^n) es el coeficiente de consistencia y sus dimensiones dependen del valor de la viscosidad aparente y n (adimensional) es el índice de comportamiento de flujo y toma valores menores que uno.

Dilatantes: son fluidos en los que se produce un aumento de la viscosidad con la velocidad de deformación. Para describir matemáticamente este comportamiento también se puede utilizar la Ley de la Potencia anteriormente descrito, con valores de índice de flujo n mayores que la unidad.

b.1.2 Con esfuerzo umbral (plásticos o viscoplásticos)

Este tipo de fluido se comporta como un sólido hasta que sobrepasa un esfuerzo de corte mínimo (umbral) y a partir de dicho valor se comporta como un líquido. Los fluidos plásticos, a su vez, se diferencian en la existencia de proporcionalidad entre el esfuerzo de corte y la velocidad de deformación, a partir de su esfuerzo umbral. Si existe proporcionalidad, se denominan fluidos plásticos de Bingham y si no la hay, se denominan solamente plásticos (Modelo de Herschel-Bulkey).

b.2 Dependientes del tiempo de aplicación: este tipo de fluidos pueden ser **tixotrópicos**, en los que su viscosidad disminuye al aumentar el tiempo de aplicación del esfuerzo de corte recuperando su estado inicial después de un reposo prolongado, o **reopécticos**, en los cuales su viscosidad aumenta con el tiempo de aplicación de la fuerza y vuelven a su estado anterior tras un tiempo de reposo.

c. Sistemas viscoelásticos: se caracterizan por presentar a la vez tanto propiedades viscosas como elásticas. Este comportamiento es característico de las soluciones de moléculas muy largas y flexibles y de las suspensiones.

Los ensayos reológicos se realizaron en un reómetro Rheo Stress 600 ThermoHaake (Haake, Alemania) usando un sistema plato-plato PP35 a temperatura controlada (25 °C). Se trabajó con suspensiones acuosas de almidón (4% p/p) las cuales fueron gelatinizadas a 90 °C durante 20 min. La concentración utilizada corresponde a la mínima concentración que permite la formación de geles además de ser una de las más utilizadas en la formulación de alimentos.

Para investigar el comportamiento de flujo de las suspensiones de almidón se utilizó el modo rotacional. El mismo fue modelado matemáticamente con el modelo Newtoniano o el de Ostwald de Waele, calculándose para estos últimos la viscosidad aparente a 500s^{-1} . Para evaluar la dependencia con el tiempo se determinaron los índices de tixotropía o reopexia, que corresponden al área de histéresis entre las curvas ascendente y descendente.

Considerando que los almidones modificados vía ácida generalmente exhiben comportamiento Newtoniano, para caracterizarlos se utilizó la escala de “water fluidity” (WF) empleando una modificación del método propuesto por Wurzburg (1986). WF es el recíproco de la viscosidad y varía entre 0, correspondiente a la viscosidad de una suspensión gelatinizada de almidón nativo y 100, correspondiente a la viscosidad del agua (0.8904 mPa.s a 25 °C, Weast y col., 1983).

El valor de WF se calculó de la siguiente manera:

$$WF = \frac{(\text{viscosidad}_{\text{suspensión almidón hidrolizado}} - \text{viscosidad}_{\text{suspensión almidón nativo}}) \times 100}{(\text{viscosidad}_{\text{suspensión almidón nativo}} - \text{viscosidad}_{\text{agua}})} \quad [2.12]$$

Para caracterizar el comportamiento viscoelástico de las suspensiones de almidón no Newtonianas se realizaron ensayos en modo dinámico. En primer lugar, se realizaron barridos de esfuerzo (0-20 Pa) a frecuencia constante (1 Hz) para determinar el rango de viscoelasticidad lineal (RVL). Luego se realizaron barridos de frecuencia (0.01 a 10 Hz) a un valor de esfuerzo constante. Los parámetros reológicos dinámicos registrados fueron el módulo de almacenamiento (G'), el módulo de pérdida (G''), la tangente del ángulo de desfasaje ($\tan \delta = G''/G'$) y el módulo complejo del esfuerzo de corte (G^*).

También se obtuvieron los espectros mecánicos graficando G' y G'' en función de la frecuencia.

La influencia del tiempo de post gelatinización sobre el comportamiento viscoelástico de las pastas de almidón se evaluó a partir de ensayos reológicos en el modo dinámico luego de 0, 120 y 600 min. de transcurrida la gelatinización de las suspensiones.

4.6 Retrogradación de las pastas de almidón bajo condiciones de refrigeración

Se utilizaron tres técnicas complementarias: DSC y grado de sinéresis, para evaluar la retrogradación de amilopectina y amilosa respectivamente; y ensayos de análisis de perfil de textura (TPA), para evaluar el proceso en general.

Se prepararon suspensiones acuosas al 7% p/p que fueron gelatinizadas a 90 °C durante 20 min. en un baño termostático Haake. La concentración utilizada corresponde a la mínima concentración a la cual se obtenía un gel autoportante que permitía realizar los ensayos de TPA. Para los ensayos de TPA y DSC, aproximadamente 5 g de dichas suspensiones fueron colocadas dentro de contenedores plásticos (diámetro: 2.5 cm; altura: 1.5 cm) y cubiertos con un film de PVC. Para evaluar el grado de sinéresis de las pastas, aproximadamente 10 g de las suspensiones se colocaron en tubos de centrifuga previamente pesados. Los contenedores y los tubos se almacenaron a 4 °C y a diferentes tiempos de ensayo (0, 4, 6, 8 y 12 días) se tomaron muestras que fueron acondicionadas a temperatura ambiente durante 1 hora antes de ser analizadas.

Para determinar el grado de sinéresis los tubos se centrifugaron (5000g) durante 15 min., el líquido sobrenadante se removió cuidadosamente y el sedimento obtenido se pesó en una balanza analítica. El grado de sinéresis (%) se determinó por diferencia entre el peso del tubo antes y después de la separación del sobrenadante.

Los ensayos de DSC se realizaron en un calorímetro diferencial de barrido modelo Q100 controlado por el módulo TA 5000 (TA Instruments, USA), con un accesorio de calentamiento-enfriamiento bajo atmósfera de N_2 (20 mL/min). El porcentaje de retrogradación (R, %) se determinó como la relación entre la entalpía de retrogradación a cada tiempo de almacenamiento ensayado y la de gelatinización:

$$R(\%) = \frac{\Delta H_{\text{retrogradación}}}{\Delta H_{\text{gelatinización}}} \times 100 \quad [2.13]$$

Para los ensayos de TPA, las pastas se desmoldaron sobre la base del TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd, Reino Unido) equipado con una celda de carga de

25 kg. Las mismas fueron comprimidas 4 mm con una sonda de aluminio de 75 mm de diámetro (P75), la que operó en modo de compresión. El programa consistió en dos ciclos de compresión y las condiciones de medida fueron las siguientes: velocidad de pre y post-ensayo 2 mm/s, velocidad de ensayo 1 mm/s y tiempo entre ciclos 5 s. Previamente el texturómetro se calibró con una pesa de 5 kg. Las medidas se realizaron sobre al menos 5-6 pastas de cada tipo de muestra para cada uno de los tiempos ensayados. Los datos se procesaron utilizando el software Texture Expert[®], para obtener el perfil de textura (curva de fuerza vs. tiempo). En la Figura 2.7 se ejemplifica el patrón mecánico de una muestra en un ensayo típico de TPA.

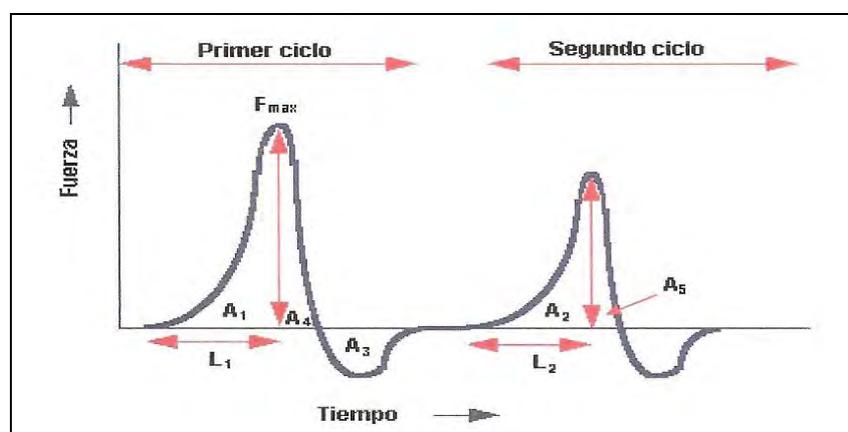


Figura 2.7. Patrón mecánico de una muestra en un ensayo típico de TPA.

A partir de los patrones mecánicos se calcularon los siguientes parámetros:

- Dureza (N): corresponde a la fuerza máxima en el primer pico, relacionada con la resistencia a la compresión.
- Elasticidad (adimensional): se determina como el cociente entre L_2 y L_1 (Figura 2.7); es la habilidad de la muestra para recuperar su forma original y está relacionada con la altura que el material recupera entre el final de la primera compresión y el comienzo de la segunda.
- Cohesividad (adimensional): es el cociente entre las áreas del pico positivo del 2° ciclo de compresión respecto al primero, $[(A_2 + A_5) / (A_1 + A_4)]$; indica el trabajo necesario para vencer las fuerzas internas del material.
- Gomosidad (N): es el producto de la dureza por la cohesividad.
- Adhesividad (N mm): es el área del pico negativo (A_3).
- Masticabilidad (N): es el producto de la gomosidad por la elasticidad.

4.7 Estabilidad de las pastas de almidón al proceso de congelación-descongelación

Se emplearon geles obtenidos a partir de la gelatinización de suspensiones acuosas al 7% p/p, preparados de la misma forma que para los ensayos de retrogradación, los que se almacenaron a -18 °C durante una semana. Los geles se retiraron del almacenamiento y se acondicionaron a temperatura ambiente durante 3 horas, antes de ser sometidos a los ensayos correspondientes. La evaluación de la estabilidad al proceso de congelación-descongelación se realizó a partir de ensayos de DSC y TPA, realizados en las condiciones previamente descriptas.

5. Análisis estadístico

Se realizaron análisis multifactoriales de varianza mediante el uso del software Systat (SYSTAT, Inc., USA) versión 10.0. Las diferencias se determinaron mediante el test de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) usando un nivel de significación $\alpha=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Extracción y rendimiento del almidón de ahípa y mandioca

Durante el proceso de extracción (Figura 2.4), se optimizó el volumen de agua utilizado como así también el número de veces que debían repetirse la obtención de la lechada y la posterior sedimentación del almidón suspendido en la misma, comprobándose que con 4 repeticiones se obtenían resultados óptimos. El lavado con agua clorada de las raíces y la elección de una baja temperatura (4 °C) fueron determinantes para evitar el desarrollo de hongos durante la extracción y posterior almacenamiento de las muestras. También se comprobó que no era necesario realizar una centrifugación de la lechada para recuperar el almidón ya que con una simple decantación durante 24 hs se obtenían resultados similares.

Se comprobó gran eficiencia y alto desempeño del procedimiento de extracción ya que no se detectaron valores significativos de nitrógeno total en los almidones extraídos utilizando el método de Kjeldhal.

El procedimiento para la extracción de almidón permitió obtener los siguientes rendimientos: 56.54% p/p y 80.88% p/p (base seca) para ahípa y mandioca

respectivamente. Los resultados obtenidos se encuentran dentro del rango de valores reportados por Huang (2009) para diferentes raíces y tubérculos no tradicionales (cará, taro y batata).

A pesar de que el rendimiento de almidón de mandioca fue 30% mayor que el ahípa, hay que tener en cuenta que, siendo una leguminosa, el cultivo de ahípa se propaga a través de sus semillas por lo que toda su producción podría destinarse al aislamiento de almidón, no así la producción de mandioca ya que el cultivo requiere del uso de propágulos obtenidos de las raíces.

El proceso de extracción de almidón a partir de cereales requiere mayor tecnología y solamente se lleva a cabo a nivel industrial. Las ventajas del método de extracción utilizado en el presente trabajo son su bajo costo y simplicidad, por lo que podría ser implementado por cooperativas agrícolas, contribuyendo de esta manera al desarrollo de regiones económicamente comprometidas.

2. Extensión de la modificación química de los almidones de maíz químicamente sustituidos

Los grados de acetilación, hidroxipropilación y sustitución molar de los almidones de maíz químicamente sustituidos estudiados en este trabajo de Tesis se muestran en la Tabla 2.1. El grado de sustitución molar del almidón de maíz acetilado se encuentra próximo a los valores reportados en la literatura para aplicaciones en la formulación de alimentos (Singh y col., 2004). En el caso del almidón de maíz acetilado entrecruzado, el grado de sustitución molar resultó levemente menor que para el caso del almidón acetilado (Tabla 2.1); sugiriendo que el entrecruzamiento se realizó antes de la sustitución quedando menor cantidad de grupos hidroxilos disponibles para ser reemplazados.

Los almidones acetilados utilizados en la formulación de alimentos generalmente contienen entre 0.5 y 2.5% de grupos acetilos, siendo éste el máximo permitido por el Código Alimentario Argentino (CAA). Aunque la legislación mundial para el uso de estos derivados se encuentra todavía en debate (Singh y col., 2007), el máximo valor de GSM permitido en USA es 0.09 para el caso de los acetilados (Whistler y col., 1984). Así, los resultados obtenidos están de acuerdo con este requerimiento. Un grado de sustitución bajo es indicativo de la preservación de la estructura del gránulo durante el proceso de modificación permitiendo obtener de esta manera derivados compatibles con propósitos farmacéuticos y alimenticios. Con respecto al almidón hidroxipropilado

entrecruzado el valor del GSM obtenido resultó cercano a 0.20, siendo éste el máximo valor permitido por el CAA.

Tabla 2.1. Grados de acetilación, hidroxipropilación y de sustitución molar para almidones de maíz sustituidos: acetilado, acetilado entrecruzado e hidroxipropilado entrecruzado.

<i>Almidón de maíz</i>	<i>GA %</i>	<i>GH %</i>	<i>GSM</i>
<i>Acetilado</i>	2.20±0.04 ^a	-	0.084±0.002 ^a
<i>Acetilado entrecruzado</i>	1.89±0.03 ^b	-	0.073±0.001 ^b
<i>Hidroxipropilado entrecruzado</i>	-	7.00±0.35	0.206±0.014 ^c

GA: grado de acetilación; **GH:** grado de hidroxipropilación; **GSM:** grado de sustitución molar
 Los valores informados corresponden al promedio ± desviación estándar. Diferentes letras asignadas a valores dentro de una misma columna indican que los mismos son significativamente diferentes (p<0.05).

3. Caracterización fisicoquímica y microestructural de los almidones

3.1 Concentración de amilosa

La Figura 2.8.A muestra las concentraciones de amilosa de los almidones nativos de maíz, ahípa y mandioca. El contenido de amilosa del almidón nativo de maíz resultó significativamente (p<0.05) mayor que los correspondientes a los almidones extraídos de las raíces tuberosas de ahípa y mandioca. Estos resultados demuestran que, como era de esperar, el contenido de amilosa varía con el origen botánico de la fuente.

El contenido de amilosa del almidón de maíz resultó próximo al valor informado por Whistler y col. (1984). El valor hallado para el almidón de ahípa se encuentra muy próximo a los reportados por otros autores; Forsyth y colaboradores (2002) informaron que el contenido de amilosa varió entre 11.6 y 16.8% mientras que Leonel y colaboradores (2003) hallaron un valor de 12.84±0.56%. En el caso de almidón de mandioca existe un amplio rango de valores reportados por otros autores: Swinkels (1985) y Hung y Morita (2005) informaron que contiene 17% de amilosa; mientras que Aryee y colaboradores (2006) trabajando con 31 variedades de mandioca encontraron que el mismo varió entre 10.9 y 44.3%. Estas diferencias podrían estar relacionadas con las variedades de mandioca empleadas, las condiciones de crecimiento del cultivo como así también el método de cuantificación utilizado (Mali y col., 2002).

Los bajos valores de amilosa hallados para los almidones de ahípa y mandioca podrían relacionarse con la alta digestibilidad y estabilidad de sus pastas (Skrabanja y col., 1999). Esta característica los hace muy atractivos como aditivos alternativos al almidón

nativo de maíz para la industria alimentaria en la formulación de productos donde la retrogradación de las pastas de almidón es un problema crítico.

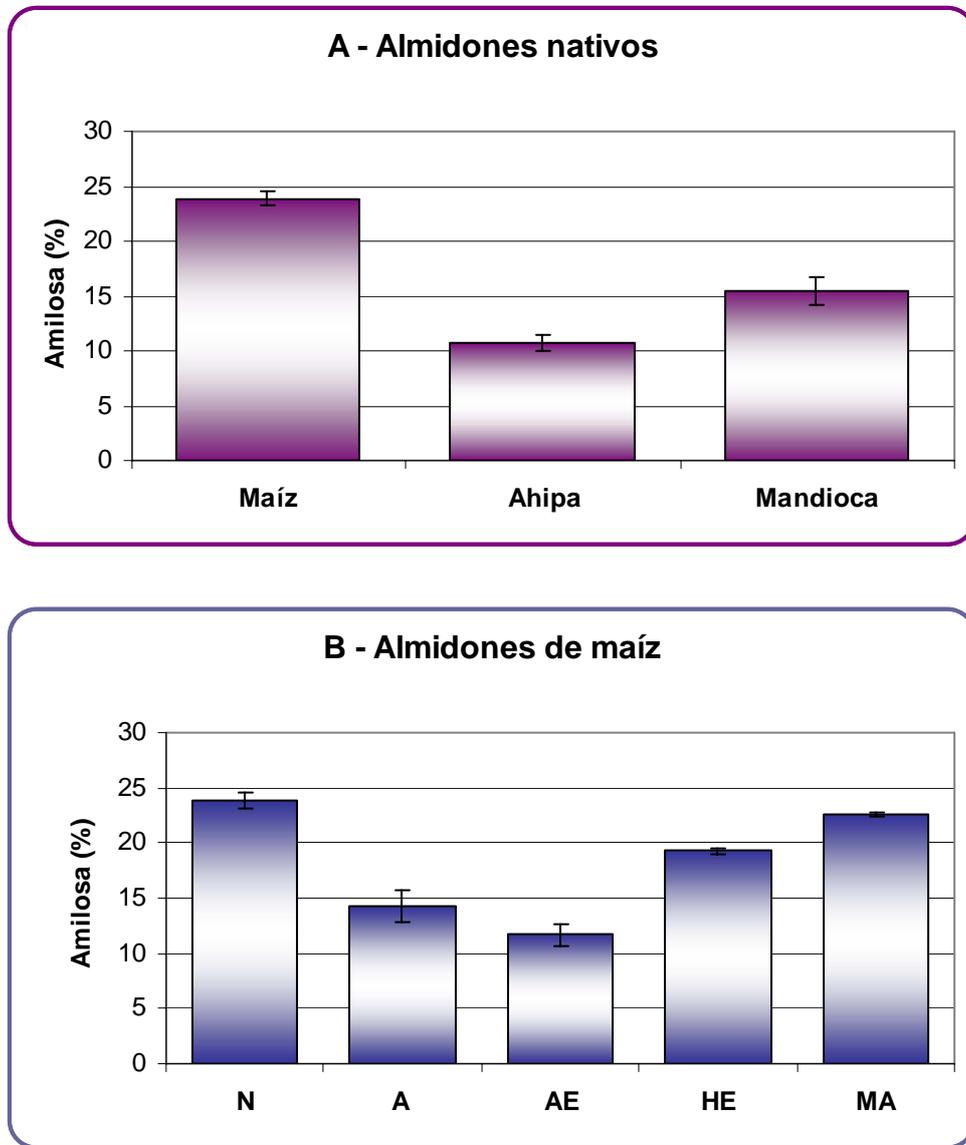


Figura 2.8. Concentración de amilosa en: **A:** almidones nativos (maíz, ahipa y mandioca) y **B:** almidones de maíz nativo (N) y químicamente modificados (acetilado: A, acetilado entrecruzado: AE, hidroxipropilado entrecruzado: HE y modificado vía ácida: MA)

La Figura 2.8.B muestra los contenidos de amilosa de los almidones de maíz nativo y químicamente modificados estudiados en este trabajo de Tesis. Se observa que la modificación ácida del almidón de maíz nativo no afectó significativamente ($p > 0.05$) la concentración de amilosa, mientras que la sustitución y la modificación dual (sustitución+entrecruzamiento) disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) dicho

contenido. La técnica de cuantificación empleada determina la fracción de amilosa capaz de complejarse con el yodo y la inclusión de sustituyentes químicos en las moléculas de almidón podría afectar dicha capacidad. Por otra parte, Adebowale y Lawal (2003) reportaron que esta reducción en la fracción de amilosa de los gránulos de almidón también podría atribuirse a las condiciones de los tratamientos químicos a los que se somete al almidón nativo. Esta disminución además indica que los almidones sustituidos y modificados dualmente son una opción para la formulación de productos donde se requiera que las pastas del almidón empleadas sean estables bajo ciertas condiciones específicas.

3.2 Morfología y distribución de tamaño de los gránulos

La Figura 2.9 muestra las micrografías electrónicas de barrido, los parámetros morfológicos y los histogramas de distribución de tamaño de los gránulos de los almidones nativos de maíz, ahípa y mandioca. Con respecto a la morfología, se observó que los gránulos de los tres almidones nativos estudiados resultaron poligonales, presentando los de ahípa bordes más irregulares. Además, para el caso de los almidones de ahípa y mandioca se comprobó que el proceso de extracción no causó daño en los gránulos ya que no se evidenciaron grietas y sus superficies resultaron lisas. Los gránulos de almidón de maíz y de ahípa exhibieron distribuciones de tamaño monomodales que variaron entre 4 y 22 μm , con un valor medio de $11.50 \pm 4.30 \mu\text{m}$ y entre 2 y 20 μm , con un valor medio de $8.85 \pm 3.69 \mu\text{m}$, respectivamente. En cambio, los gránulos de almidón de mandioca presentaron una distribución de tamaños bimodal con dos grupos bien diferenciados centrados alrededor de 3 y 10 μm . Siroth y colaboradores (1999) señalaron que la distribución de tamaño de los gránulos de almidón de mandioca depende de la fase que esté cursando el cultivo al momento de cosecharse.

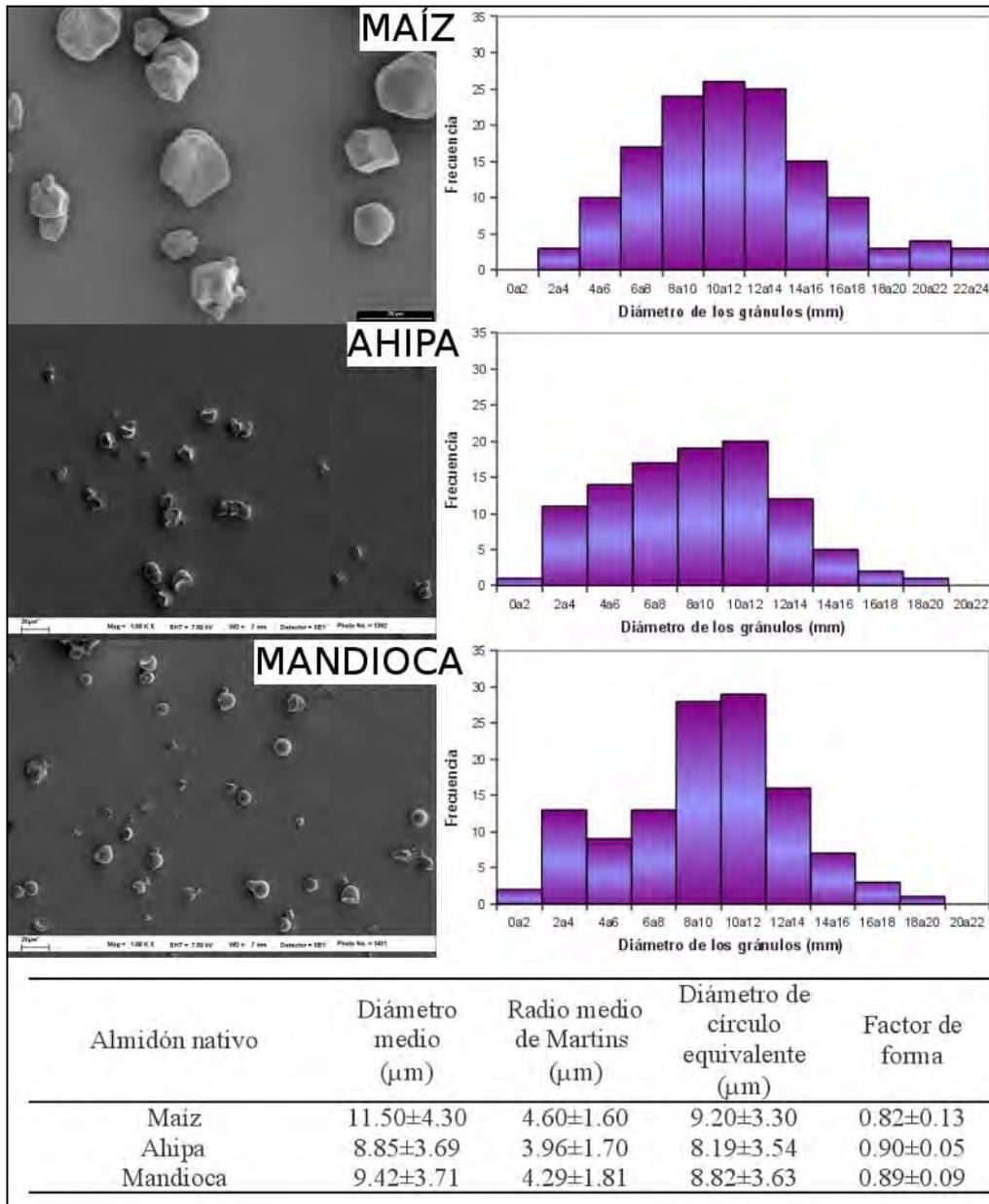


Figura 2.9. Micrografías electrónicas de barrido, parámetros morfológicos e histogramas de distribución de tamaño de gránulos de almidones nativos.

La Figura 2.10 muestra las micrografías electrónicas de barrido, los parámetros morfológicos y los histogramas de distribución de tamaño de los gránulos de los almidones de maíz nativo y modificados. Se observó que ninguna de las modificaciones químicas estudiadas causó cambios en la forma y apariencia de los gránulos de almidón de maíz. Sin embargo, las modificaciones duales y el tratamiento ácido alteraron las distribuciones de tamaños de los gránulos, no así la acetilación (Figura 2.10).

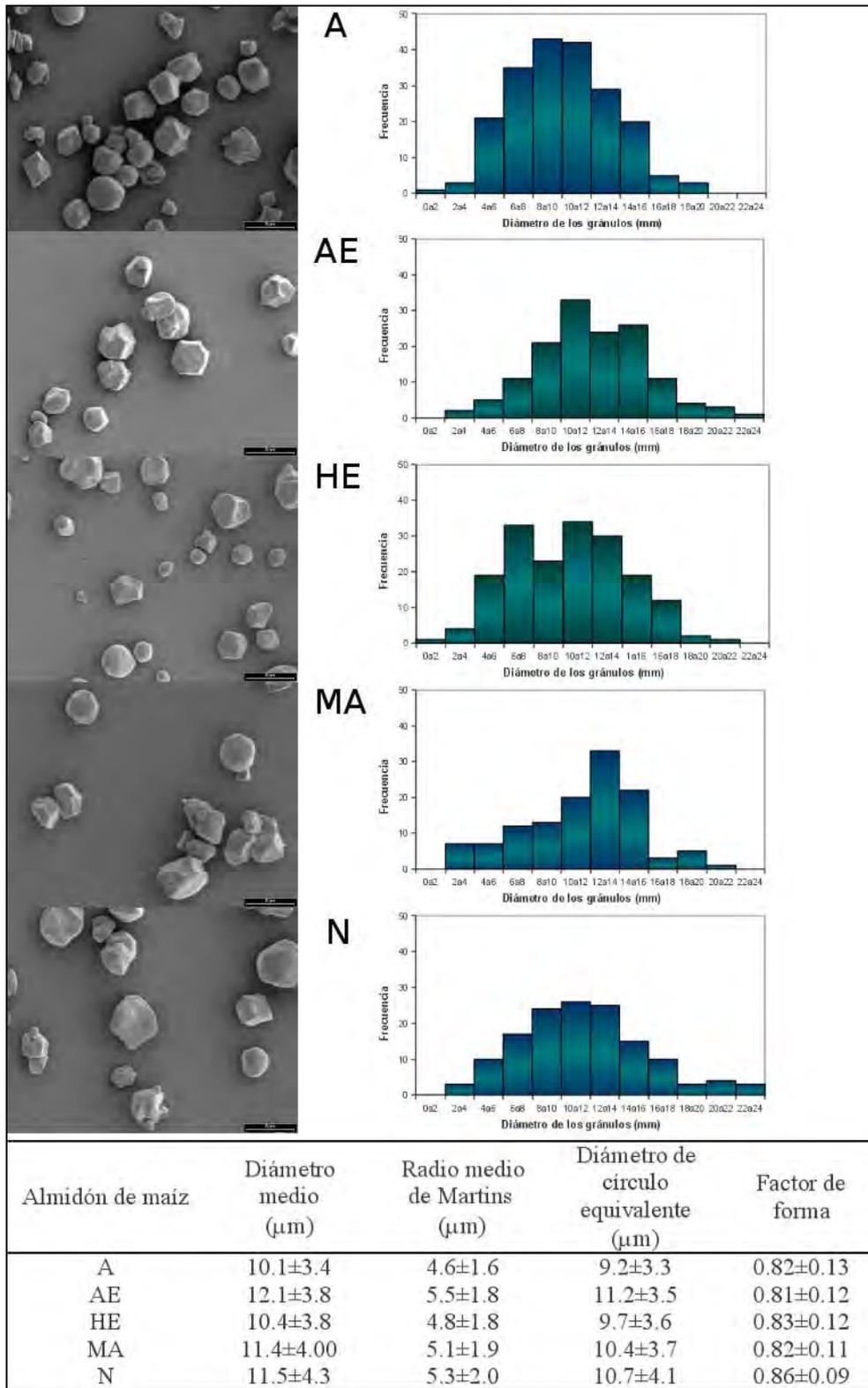


Figura 2.10. Micrografías electrónicas de barrido, parámetros morfológicos e histogramas de distribución de tamaño de gránulos de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A), acetilado entrecruzado (AE), hidroxipropilado entrecruzado (HE) y modificado vía ácida (MA).

Varios autores han reportado que diferentes tratamientos químicos sobre gránulos de almidón de diversos orígenes botánicos, han causado alteraciones en la morfología y apariencia de los mismos, dependiendo de las condiciones del tratamiento. Para el caso de almidón de papa y de maíz, Singh y colaboradores (2004) informaron que luego de la acetilación los gránulos de ambos almidones presentaron superficies más rugosas. Además, en condiciones drásticas, este tratamiento químico afecta la morfología de gránulos de almidón de arroz evidenciándose deformación, superficies más rugosas y formación de agregados (Sodhi y Singh, 2005; González y Pérez, 2002; Jae y col., 1994; Jeong y col., 1993). Por otra parte, Kaur y colaboradores (2004) indicaron que el tratamiento de gránulos de almidón de papa con óxido de propileno alteró la morfología de los mismos, formándose ampollas y pequeñas protuberancias sobre las superficies como así también depresiones en la zona central de los gránulos.

Las observaciones morfológicas de los gránulos de los almidones modificados empleados en este trabajo de Tesis se correlacionan con los bajos grados de sustitución determinados indicando además, que los tratamientos químicos empleados se llevaron a cabo bajo condiciones suaves.

3.3 Espectroscopía de difracción de rayos X

Los almidones son materiales semicristalinos que tienen la capacidad de difractar los rayos X, permitiendo así obtener información de su estructura (Bello-Pérez y col., 2002). El almidón produce diferentes respuestas frente a la difracción de los rayos X y en general pueden observarse cuatro patrones diferentes que se presentan en la Figura 2.11.

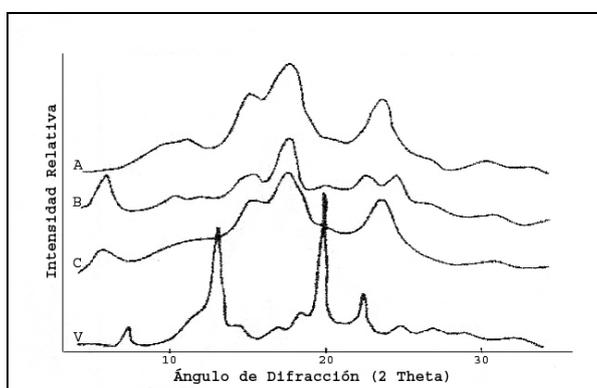


Figura 2.11. Espectros de difracción de rayos X de almidones de diferente origen botánico (A: cereales, B: tubérculos, C: legumbres y V: complejos de inclusión helicoidal de la amilosa cristalina)

El patrón A es típico de los cereales, el B de los almidones de maíz de alto contenido de amilosa y de los tubérculos, el C de los almidones de legumbres y corresponde a una estructura intermedia entre A y B y el patrón V se asocia a complejos de inclusión helicoidal de la amilosa cristalina (Zobel, 1988).

La parte amorfa del gránulo del almidón está formada esencialmente por la amilosa, mientras que la región cristalina por cúmulos paralelos de cadenas cortas en la amilopectina, la cual asimismo, presenta regiones amorfas y regiones altamente cristalinas. Las regiones amorfas están asociadas a los puntos de ramificación de la amilopectina mientras que la región cristalina se debe a los planos formados por los cúmulos y las cadenas lineales en la molécula de la amilopectina (Rodríguez-Hernández y col., 2001)

La Figura 2.12.A muestra los difractogramas y los grados de cristalinidad de los almidones nativos. Los gránulos de almidón de maíz presentaron un patrón de difracción Tipo A, siendo los picos ubicados en $2\theta = 15, 18$ y 23° los de mayor intensidad (Bader y Göritz, 1994). La asignación del patrón para el caso de los almidones de ahipa y de mandioca no resultó sencilla; los difractogramas presentaron picos a $2\theta = 5.5, 15.4, 17.0, 18.0, 20.0$ y 23.5° , por lo que se les asignó un patrón Tipo C (Geng y col., 2007; Whistler y col., 1984). Este patrón es típico de almidones de legumbres (Zobel, 1988) y de almidones de frutas y tubérculos tropicales (Luengwilai y Beckles, 2009). En la literatura no hay homogeneidad respecto a la asignación de patrones de difracción de rayos X para almidones provenientes de raíces y tubérculos no tradicionales como taro, cará, batata y kudzu (Huang, 2009; Geng y col., 2007).

Se observó que el origen botánico del almidón afectó el grado de cristalinidad de los gránulos; esta variación podría relacionarse en forma inversa con el contenido de amilosa.

La Figura 2.12.B muestra los difractogramas y los grados de cristalinidad de las muestras de almidones de maíz nativo y químicamente modificados. Todos los gránulos presentaron patrones de difracción Tipo A. Los grados de cristalinidad de los almidones modificados resultaron significativamente ($p < 0.05$) menores que el del almidón nativo, correspondiendo el más bajo al hidroxipropilado entrecruzado.

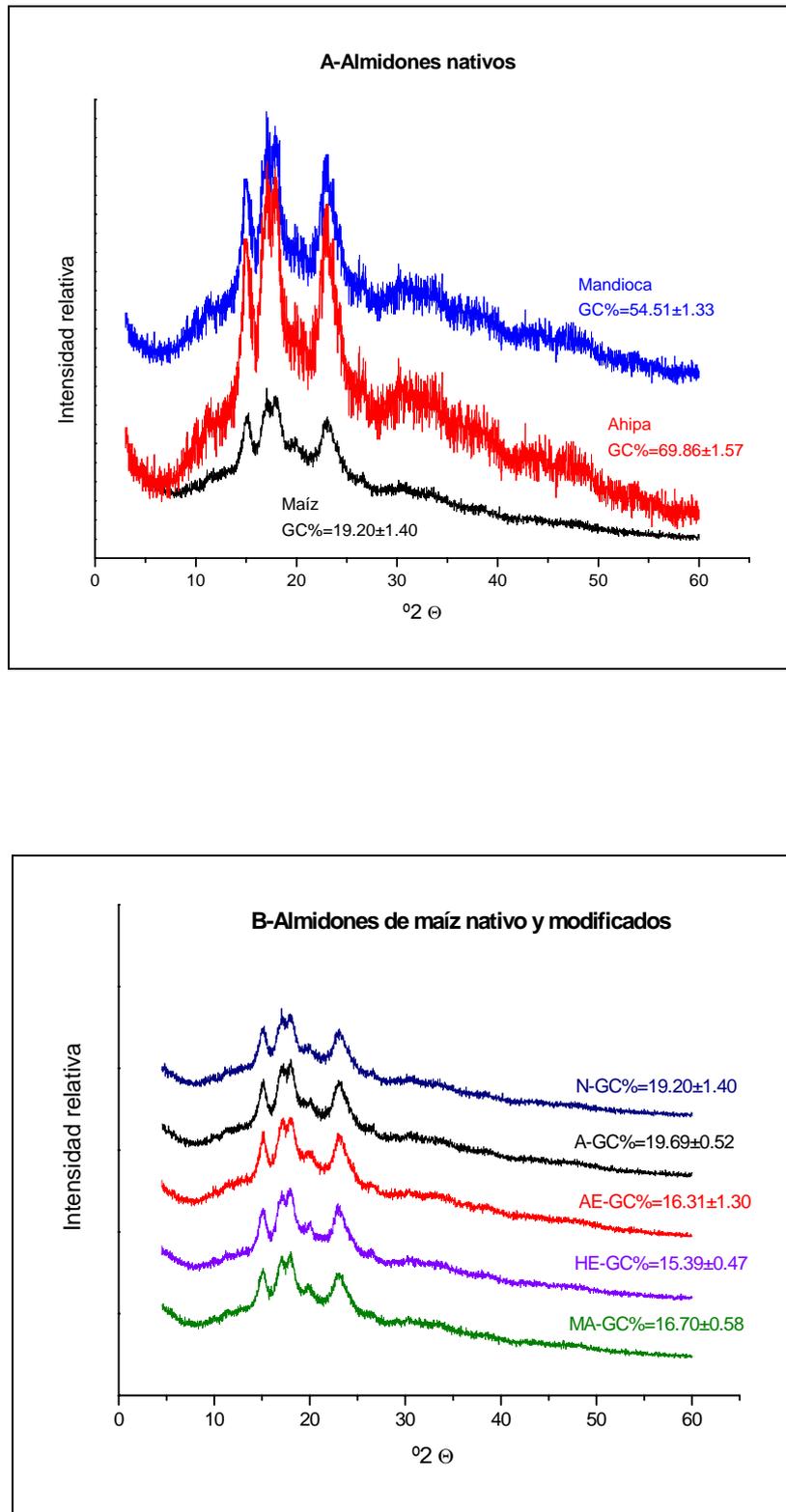


Figura 2.12. Espectros de difracción de rayos X y grados de cristalinidad (GC%) de: **A:** almidones nativos y **B:** almidones de maíz nativo (N) y químicamente modificados (acetilado: A, acetilado entrecruzado: AE, hidroxipropilado entrecruzado: HE y modificado vía ácida: MA)

4. Propiedades funcionales de los almidones

4.1 Gelatinización de las suspensiones

La observación microscópica permitió determinar las condiciones (tiempo-temperatura) que aseguraran que las suspensiones de almidón se encontraban gelatinizadas. En la Figura 2.13 se muestran las micrografías de las suspensiones de almidón de maíz nativo al 5% durante el calentamiento a 90 °C. Inicialmente se observa cómo los gránulos de almidón se encuentran íntegros y a medida que el calentamiento avanza los mismos se van hinchando, erosionando y rompiendo hasta que a los 5 min sólo se observa una red continua de la matriz de amilosa.

A partir de estas observaciones se determinó que todas las suspensiones, independientemente de la concentración analizada, se encontraban completamente gelatinizadas cuando se sometieron a un calentamiento a 90 °C durante 5 min.

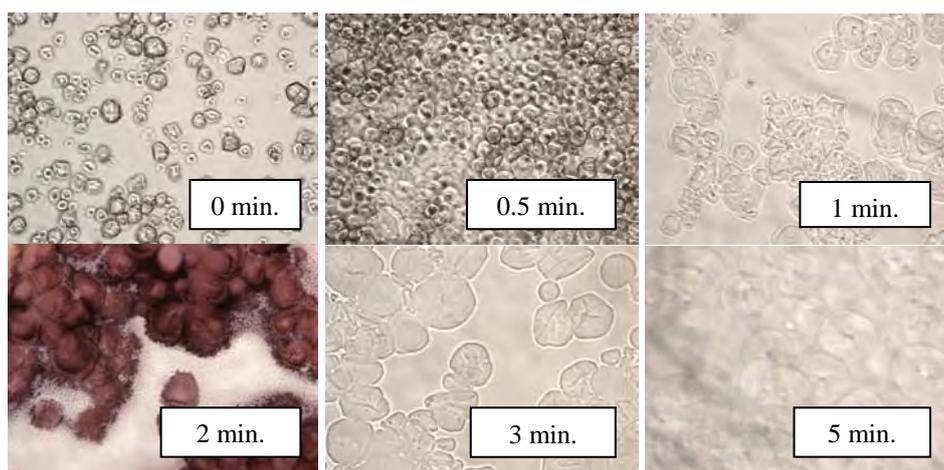


Figura 2.13. Micrografías de suspensiones al 5% p/p de almidón de maíz nativo a diferentes tiempos de calentamiento a 90 °C.

4.2 Transiciones térmicas

El proceso de gelatinización del almidón depende de varios factores como la arquitectura molecular de la región cristalina, la relación amilosa/amilopectina, la distribución de la longitud de las cadenas como así también la fuente botánica (López y col., 2010). Las suspensiones de los almidones estudiados exhibieron termogramas con una sola transición endotérmica, típica del proceso de gelatinización de suspensiones con elevado contenido de agua. Este proceso es de gran importancia para la industria de alimentos ya que la gelatinización del almidón se relaciona directamente con la textura

de los alimentos. La Tabla 2.2 muestra los parámetros térmicos determinados por DSC, de los almidones nativos y modificados de maíz estudiados en este trabajo de Tesis.

Las temperaturas y entalpías de gelatinización de los almidones nativos dependieron de su origen botánico ya que resultaron significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre sí; además, dependen de la variedad y las condiciones de cultivo.

Los almidones extraídos de ahipa y mandioca presentaron temperaturas de gelatinización más bajas que el almidón de maíz, indicando una mejor aptitud para la cocción. Se espera además que sus pastas presenten mayor claridad y viscosidad comparadas con las obtenidas a partir de almidones de cereales (Mélo y col., 2003). El almidón de ahipa presentó un rango de gelatinización significativamente ($p < 0.05$) menor que el de los otros almidones nativos que podría relacionarse con un proceso altamente cooperativo (Huang, 2009) y una distribución de tamaño de las cadenas de amilosa y amilopectina más estrecho. Los parámetros térmicos obtenidos se encuentran próximos a los reportados por otros autores para almidones de diferentes orígenes botánicos (Mélo y col., 2003; Pérez y col., 1998). La entalpía de gelatinización obtenida para almidón de mandioca resultó similar a la informada por Betancur-Ancona (2001). Los parámetros térmicos del almidón de maíz nativo están de acuerdo con los informados por otros autores (Navarro y col., 1995; Ferrero y col., 1993).

Tabla 2.2. Temperaturas de inicio, de pico y final (T_o , T_p y T_f) y entalpía de gelatinización (ΔH) de almidones nativos y químicamente modificados de maíz.

<i>Almidón</i>		T_o [°C]	T_p [°C]	T_f [°C]	ΔH [mJ/mg, base seca]
	<i>Ahipa</i>	64.25±0.20	67.18±0.07	70.54±0.18	9.53±0.61
<i>Nativo</i>	<i>Mandioca</i>	51.67±0.78	69.90±0.01	84.95±0.54	9.69 ± 0.39
	<i>Maíz</i>	67.95±0.56	72.16±0,14	76.88±0.34	11.43±0.15
	<i>A</i>	61.88±0.47	65.65±0.90	70.01±0.86	6.25±0.32
<i>Modificado de maíz</i>	<i>AE</i>	63.60±1.22	68.64±0,87	73.75±0.92	6.23±0.38
	<i>HE</i>	61.47±0.66	67.23±0.83	73.07±0.75	6.72±1.61
	<i>MA</i>	67.19±0.03	73.69±0.93	80.21±0.21	6.27±0.32

Los valores informados corresponden al promedio \pm desviación estándar.

A: Acetilado; **AE:** acetilado entrecruzado, **HE:** hidroxipropilado entrecruzado **MA:** modificado vía ácida

Comparado con el almidón nativo de maíz, la acetilación disminuyó significativamente ($p < 0.05$) los parámetros térmicos de gelatinización. Según Adebawale y Lawal (2003) este tratamiento químico debilita los gránulos de almidón permitiendo una ruptura anticipada de las dobles hélices de la amilopectina, facilitando la gelatinización del almidón acetilado. Asimismo Singh y colaboradores (2004) informaron que luego de la modificación hay menos cristales dentro del gránulo debido a que parte de los mismos resultaron dañados durante el proceso y la fusión ocurre a menores temperaturas. La disminución del grado de cristalinidad observado en el caso del almidón de maíz acetilado está de acuerdo con los resultados del análisis térmico.

Para el almidón acetilado entrecruzado, los parámetros térmicos exhibieron valores intermedios entre los del almidón nativo y el acetilado. Mientras la acetilación reduce la temperatura de gelatinización, el entrecruzamiento la incrementa debido a la disminución de la movilidad de las cadenas como resultado de la formación de enlaces intermoleculares (Singh y col, 2007).

En el caso del almidón hidroxipropilado entrecruzado, las temperaturas asociadas al proceso resultaron significativamente ($p < 0.05$) menores que las correspondientes al almidón nativo; mientras que las entalpías de gelatinización no variaron significativamente entre sí ($p > 0.05$). Los grupos hidroxipropilos introducidos interrumpen la formación de enlaces puente de hidrógeno, permitiendo un aumento de la accesibilidad del agua y promoviendo la fusión de los cristales dentro del gránulo de almidón (Singh y col., 2007). Una tendencia similar fue observada por Liu y colaboradores (1999) estudiando diferentes almidones hidroxipropilados.

Para el almidón hidrolizado vía ácida la temperatura de gelatinización fue similar a la correspondiente al nativo, sin embargo el mayor rango de fusión indicaría que el proceso es menos cooperativo. El valor de la entalpía de gelatinización fue significativamente menor ($p < 0.05$) que para el nativo.

4.3 Capacidad de hinchamiento de los gránulos

Cuando una suspensión acuosa de almidón se calienta, la estructura cristalina del mismo se ve interrumpida, causando el hinchamiento de los gránulos (Huang y col., 2007).

La Figura 2.14.A muestra la capacidad de hinchamiento de los gránulos de los almidones nativos en función de la temperatura de calentamiento, éste parámetro cumple un rol muy importante en el comportamiento reológico de las suspensiones de almidón. Se observa que el hinchamiento se incrementa con el aumento de la

temperatura ya que a altas temperaturas ocurre una relajación progresiva de las fuerzas de enlace dentro del gránulo. La capacidad de hinchamiento de los gránulos de almidón puede relacionarse con los parámetros térmicos presentados en la Tabla 2.2.

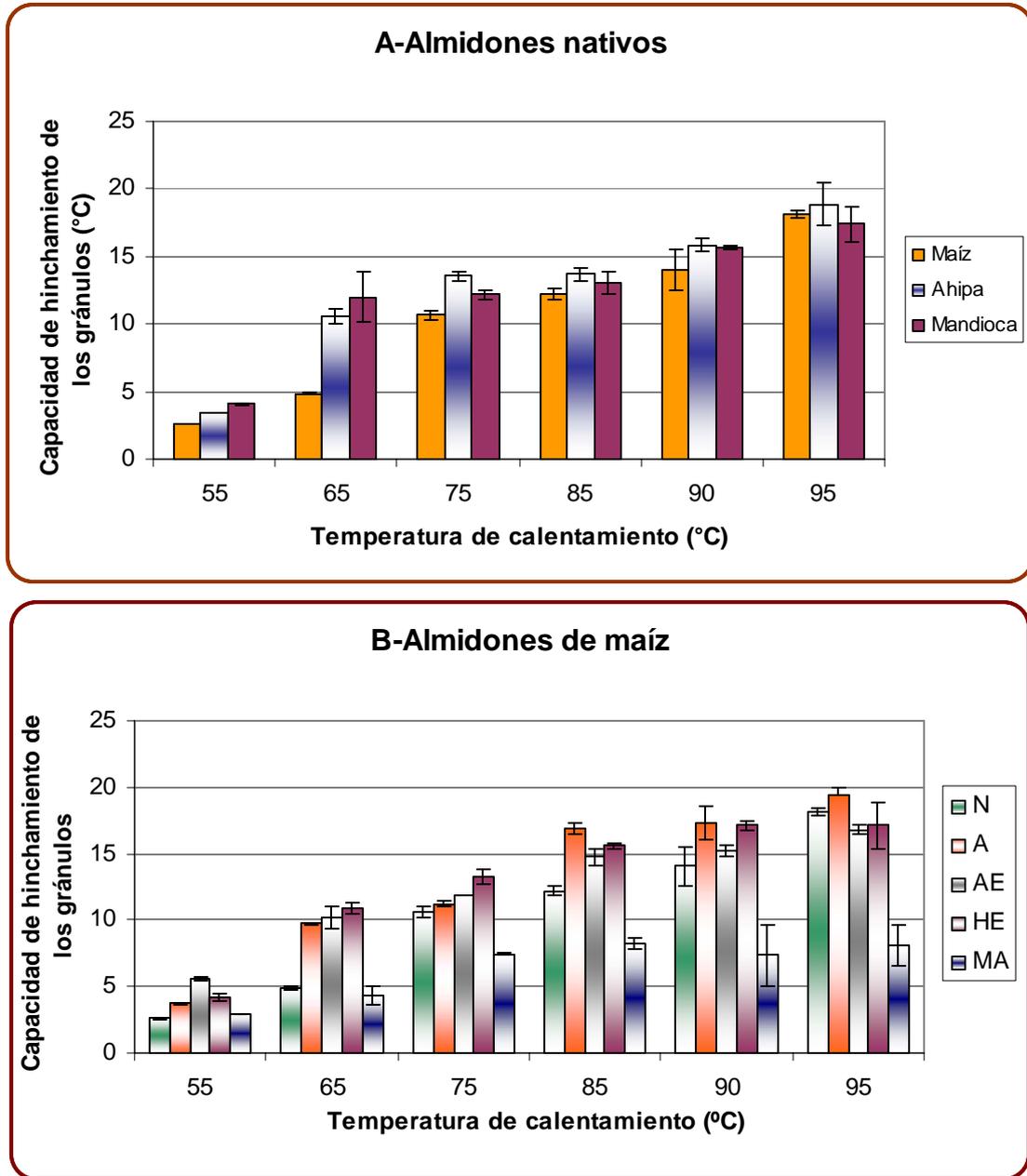


Figura 2.14. Capacidad de hinchamiento de gránulos de almidón de: **A:** almidones nativos y **B:** almidones de maíz nativo (N) y químicamente modificados (acetilado: A, acetilado entrecruzado: AE, hidroxipropilado entrecruzado: HE y modificado vía ácida: MA) luego de 1h de calentamiento a diferentes temperaturas.

A 55 °C el mayor grado de hinchamiento de los gránulos de mandioca se correlaciona con la menor temperatura de inicio del proceso de gelatinización (51.67 ± 0.78 °C).

Cuando la suspensión alcanza los 65 °C, el hinchamiento de los gránulos de almidón de maíz resulta significativamente ($p < 0.05$) menor que los de ahipa y mandioca ya que a esta temperatura los gránulos de los almidones de raíces y tubérculos comenzaron el proceso de gelatinización ($T > T_0$, Tabla 2.2).

A partir de los 85 °C ($T > T_f$, Tabla 2.2) no se hallaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el hinchamiento de los gránulos de los almidones de diferente origen botánico. A temperaturas mayores el aumento registrado podría atribuirse a la mayor cantidad de agua asociada a la red de amilosa y a la amilopectina remanente en los gránulos.

La Figura 2.14.B muestra la capacidad de hinchamiento de los almidones de maíz (nativo y químicamente modificados) en función de la temperatura. En general, se observó que la capacidad de hinchamiento aumenta con la temperatura de calentamiento. El efecto del tratamiento químico sobre la capacidad de hinchamiento de los gránulos dependió de la temperatura de calentamiento.

Para todas las temperaturas ensayadas el almidón de maíz hidrolizado vía ácida presentó la menor capacidad de hinchamiento. A las menores temperaturas ensayadas (55 y 65 °C) los almidones sustituidos y entrecruzados presentaron capacidad de hinchamiento mayores que la del nativo; estos resultados se relacionan con las menores temperaturas de inicio de gelatinización de los almidones modificados (Tabla 2.2). Una vez que el proceso de gelatinización se completó ($T > 85$ °C) los almidones sustituidos y entrecruzados presentaron, en general, mayor capacidad de hinchamiento.

4.4 Claridad de las pastas de almidón

La claridad de las pastas de almidón es un valor práctico y útil en muchas aplicaciones industriales ya que una menor claridad de pasta puede relacionarse con la presencia de moléculas de almidón menos susceptibles a la retrogradación. La Tabla 2.3 muestra las claridades de las pastas de los almidones nativos y modificados de maíz estudiados.

Las claridades de las pastas de los almidones nativos estudiados resultaron significativamente diferentes ($p < 0.01$) entre sí, obteniéndose el siguiente orden: maíz < ahipa < mandioca. Estos resultados indican que esta propiedad depende del origen botánico del almidón. La claridad de las pastas de almidón de maíz nativo obtenida está de acuerdo con los valores reportados por Sandhu y Singh (2007) para almidones provenientes de diferentes variedades de maíz, sin embargo Mélo y colaboradores (2003) informaron un valor significativamente más elevado (5.6%). Estos autores

también informaron valores de claridad de pastas de almidón de mandioca de 21.84% y de 11.44% para almidón de ñame (*P. erosus*).

Tabla 2.3. Claridad de las pastas de almidones nativos y de maíz químicamente modificados

<i>Claridad de las pastas (T, %)</i>	<i>Almidones nativos</i>			<i>Almidones de maíz modificados</i>			
	<i>Maíz</i>	<i>Ahipa</i>	<i>Mandioca</i>	<i>A</i>	<i>AE</i>	<i>HE</i>	<i>MA</i>
	1.27±0.01	7.95 ± 0.45	15.04±2.56	2.52±0.01	3.74±0.01	4.06±0.01	8.45±0.04

Los valores informados corresponden al promedio ± desviación estándar.

A: Acetilado; **AE:** acetilado entrecruzado, **HE:** hidroxipropilado entrecruzado **MA:** modificado vía ácida

Las modificaciones químicas del almidón de maíz consideradas en este trabajo de Tesis aumentaron significativamente ($p < 0.01$) la claridad de las pastas obtenidas. Una tendencia similar fue observada por varios autores (Singh y col., 2007 y 2004; Lawal, 2004) y en el caso de los derivados sustituidos podría atribuirse a que la asociación de las ramificaciones externas de la amilopectina, responsable de la turbiedad y sinéresis de las dispersiones acuosas de almidón, se encuentra limitada (Betancur-Ancona y col., 2001). Se esperaría así, que los almidones modificados desarrollen pastas más estables.

4.5 Caracterización reológica de las pastas de almidón

Las propiedades reológicas de las pastas de almidón tienen un alto impacto tecnológico en el desarrollo de alimentos ya que determinan las condiciones de procesamiento de los mismos.

Ensayos rotacionales

Los ensayos rotacionales permiten analizar el comportamiento reológico de las pastas sometidas a condiciones cercanas a las de procesamiento industrial como altos esfuerzos de corte. La Figura 2.15 muestra las curvas de comportamiento de flujo de las suspensiones gelatinizadas de los almidones nativos y modificados de maíz estudiados. Las suspensiones gelatinizadas de los tres almidones nativos presentaron un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$) modelado satisfactoriamente por el modelo de Ostwald de Waele (Figura 2.15.A, Tabla 2.4).

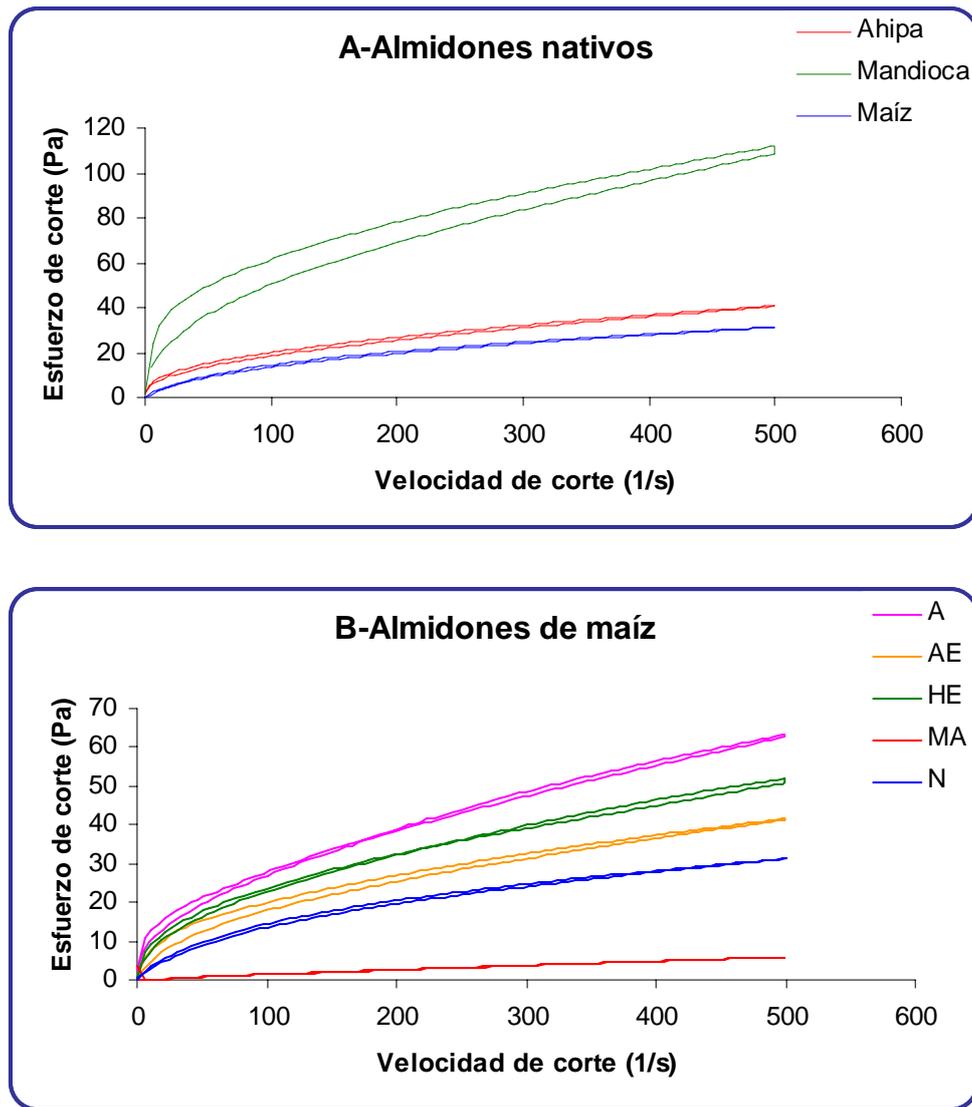


Figura 2.15. Curvas de comportamiento de flujo de suspensiones al 4% p/p de almidón gelatinizadas de: **A:** almidones nativos y **B:** almidones de maíz nativo (N) y químicamente modificados (acetilado: A, acetilado entrecruzado: AE, hidroxipropilado entrecruzado: HE y modificado vía ácido: MA)

Las pastas de almidón de mandioca presentaron los valores significativamente ($p < 0.05$) más altos en todos los parámetros reológicos (Tabla 2.4). Los valores de viscosidad y del índice de consistencia de este almidón indican que la amilopectina remanente en los gránulos refuerza la red de amilosa. Además las características estructurales de las macromoléculas (peso molecular, grado de polimerización, distribución de tamaño de las cadenas, etc.) determinan el grado de refuerzo de la red. Por otra parte, el alto índice de tixotropía registrado indicaría una mayor susceptibilidad de las pastas de almidón de mandioca a los esfuerzos de corte.

Tabla 2.4. Comportamiento reológico rotacional de suspensiones gelatinizadas al 4% p/p de almidones nativos y de maíz químicamente modificados.

<i>Almidón</i>	<i>Índice de tixotropía/ antitixotropía (Pa /s)</i>	<i>Índice de consistencia (k) (Pa/sⁿ)</i>	<i>Índice de comportamiento de flujo (n)</i>	<i>Viscosidad aparente a 500 s⁻¹ (mPa s)</i>	
<i>Maíz</i>	335.93	1.24±0.09	0.510±0.005	59.96±2.44	
<i>Nativos</i>	<i>Ahipa</i>	673.49	2.59±0.70	0.450±0.030	81.40±6.79
	<i>Mandioca</i>	4123	11.78±1.77	0.600±0.001	220.44±36.25
<i>Modificados de maíz</i>	<i>A</i>	526.60	2.86±0.53	0.510±0.022	125.78±0.04
	<i>AE</i>	819.20	2.12±0.15	0.490±0.003	87.99±4.56
	<i>HE</i>	-1084.83	2.50±0.66	0.490±0.042	104.87±2.57

Los valores informados corresponden al promedio ± desviación estándar.

A: Acetilado; **AE:** acetilado entrecruzado, **HE:** hidroxipropilado entrecruzado

El almidón de maíz hidrolizado exhibió un comportamiento Newtoniano ($r^2=0.9913$) con una viscosidad de 11.95 ± 0.16 mPa s que permitió obtener un valor de “water fluidity” de 20.23. Este parámetro es utilizado para caracterizar los almidones modificados vía ácida ya que da una idea del grado de hidrólisis que ha sufrido la muestra.

El resto de los almidones modificados exhibieron comportamientos pseudoplásticos ($n<1$) al igual que el nativo, que también fueron modelados satisfactoriamente con el modelo Ostwald de Waele (Tabla 2.4). Los almidones acetilado y acetilado entrecruzado presentaron un comportamiento tixotrópico mientras que el hidroxipropilado entrecruzado resultó antitixotrópico (reopéctico). La sustitución y el entrecruzamiento incrementaron significativamente ($p<0.05$) la viscosidad aparente de las suspensiones (Tabla 2.4). Resultados similares fueron reportados por Betancur-Ancona y colaboradores (2001), quienes atribuyeron este comportamiento al incremento de la capacidad de retención de agua de la matriz y al desarrollo de una estructura más organizada.

Los valores de viscosidades aparentes de los almidones modificados están de acuerdo con los valores de capacidad de hinchamiento de los gránulos hallados a 90 °C. En general, la viscosidad y el índice de consistencia de las pastas son el resultado del hinchamiento de los gránulos (Olkku y Rha, 1978), observándose la misma tendencia en ambas propiedades: $A>HE>AE>N>MA$.

Ensayos dinámicos

Los ensayos oscilatorios evalúan el comportamiento viscoelástico dentro del rango de viscoelasticidad lineal donde la muestra no sufre daño estructural. A partir de los barridos de esfuerzo se determinó que el rango de viscoelasticidad lineal se extendió hasta 1.1 Pa para los almidones nativos de maíz, ahípa y mandioca por lo que se seleccionó un esfuerzo de corte 1 Pa para los barridos de frecuencia.

La Figura 2.16 muestra los espectros mecánicos correspondientes a los tres almidones nativos en estudio. Las suspensiones de almidón de maíz mostraron un comportamiento típico de un fluido viscoso ya que $G'' > G'$ a lo largo del rango analizado, aproximándose entre sí a frecuencias altas (Figura 2.16). En cambio, para las suspensiones de almidón de ahípa y de mandioca el valor de G' fue significativamente más alto ($p < 0.05$) que el de G'' , permaneciendo prácticamente constante en el rango de frecuencias analizado, comportándose así como un gel débil (Figura 2.16).

Los valores de G' y de G'' para las suspensiones gelatinizadas de mandioca resultaron mayores que para las de ahípa y maíz. Por ejemplo, a 1.1 Hz, G'_{mandioca} resultó 20% mayor que $G'_{\text{ahípa}}$ mientras que G''_{mandioca} fue 60% mayor que $G''_{\text{ahípa}}$. Estos resultados se correlacionan con los valores de viscosidad aparente de las suspensiones obtenidas a partir de los ensayos rotacionales (Tabla 2.4) y con la claridad de las pastas (Tabla 2.3). Además, el comportamiento viscoelástico de las suspensiones gelatinizadas depende de la concentración de las mismas. Para el caso de las suspensiones de almidón de maíz, este comportamiento cambia de fluido viscoso a gel cuando la concentración de las mismas pasa de 4 a 5% p/p, siendo la concentración crítica de formación de gel para este caso de 4.5% (Whistler y col., 1984).

El rango de viscoelasticidad lineal para los almidones de maíz dualmente modificados (sustituidos+entrecruzados) fue de 0.01 a 1.1 Pa mientras que para el acetilado el rango fue mayor, extendiéndose hasta 2.7 Pa. Esto indicaría que el almidón acetilado exhibe una mayor resistencia a la deformación siendo más adecuado para la formulación de alimentos donde se requieran condiciones severas de procesamiento.

El almidón acetilado mostró un comportamiento similar a los almidones nativos de ahípa y mandioca ya el valor de G' fue significativamente más alto ($p < 0.05$) que el de G'' y permaneció constante a través de todo el rango de frecuencias analizado, comportándose como un gel (Figura 2.17). Estos resultados indicarían que la acetilación disminuye la concentración crítica de formación de gel del almidón de maíz.

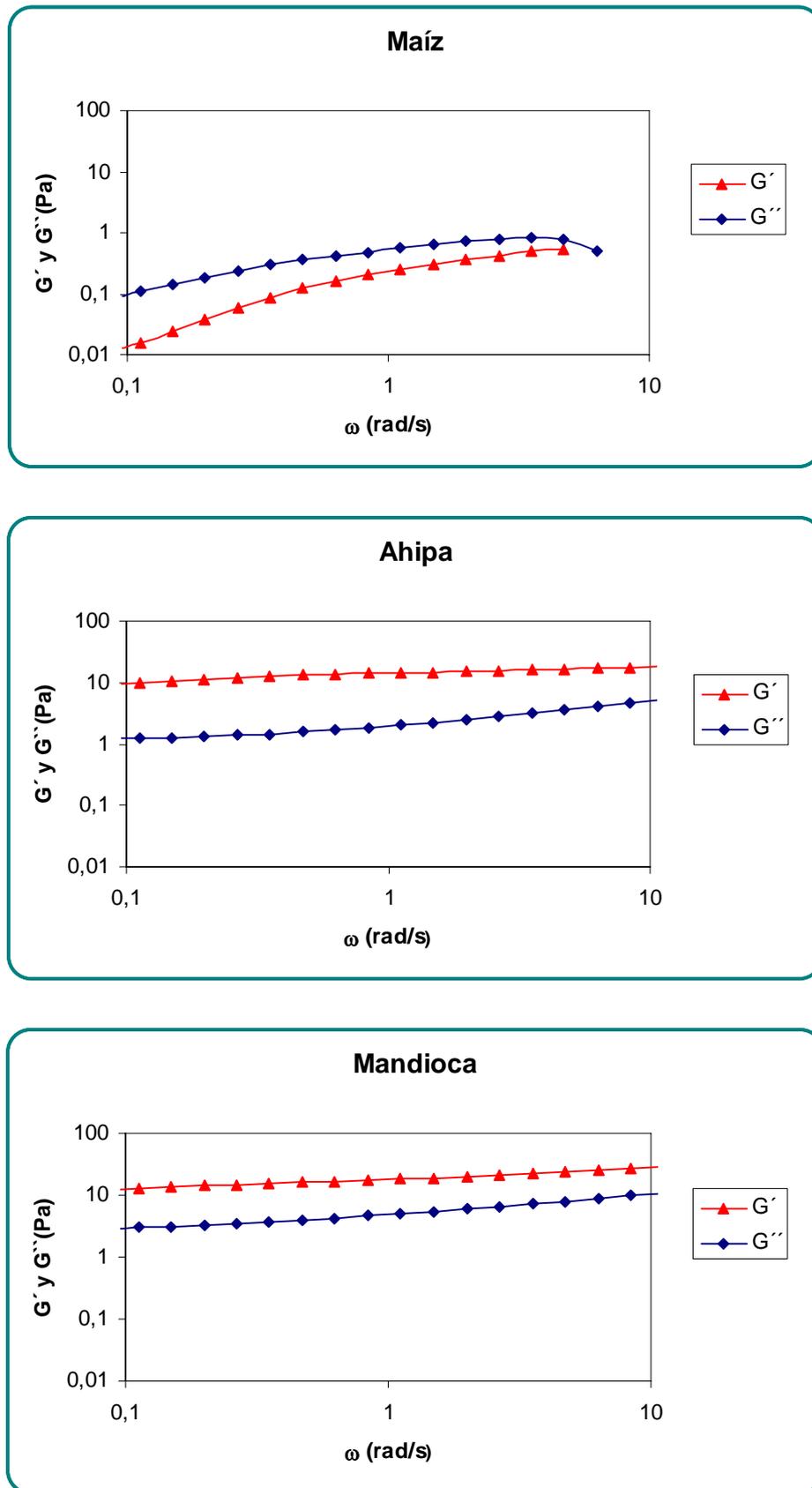


Figura 2.16. Espectros mecánicos de suspensiones al 4% p/p gelatinizadas de almidones nativos.

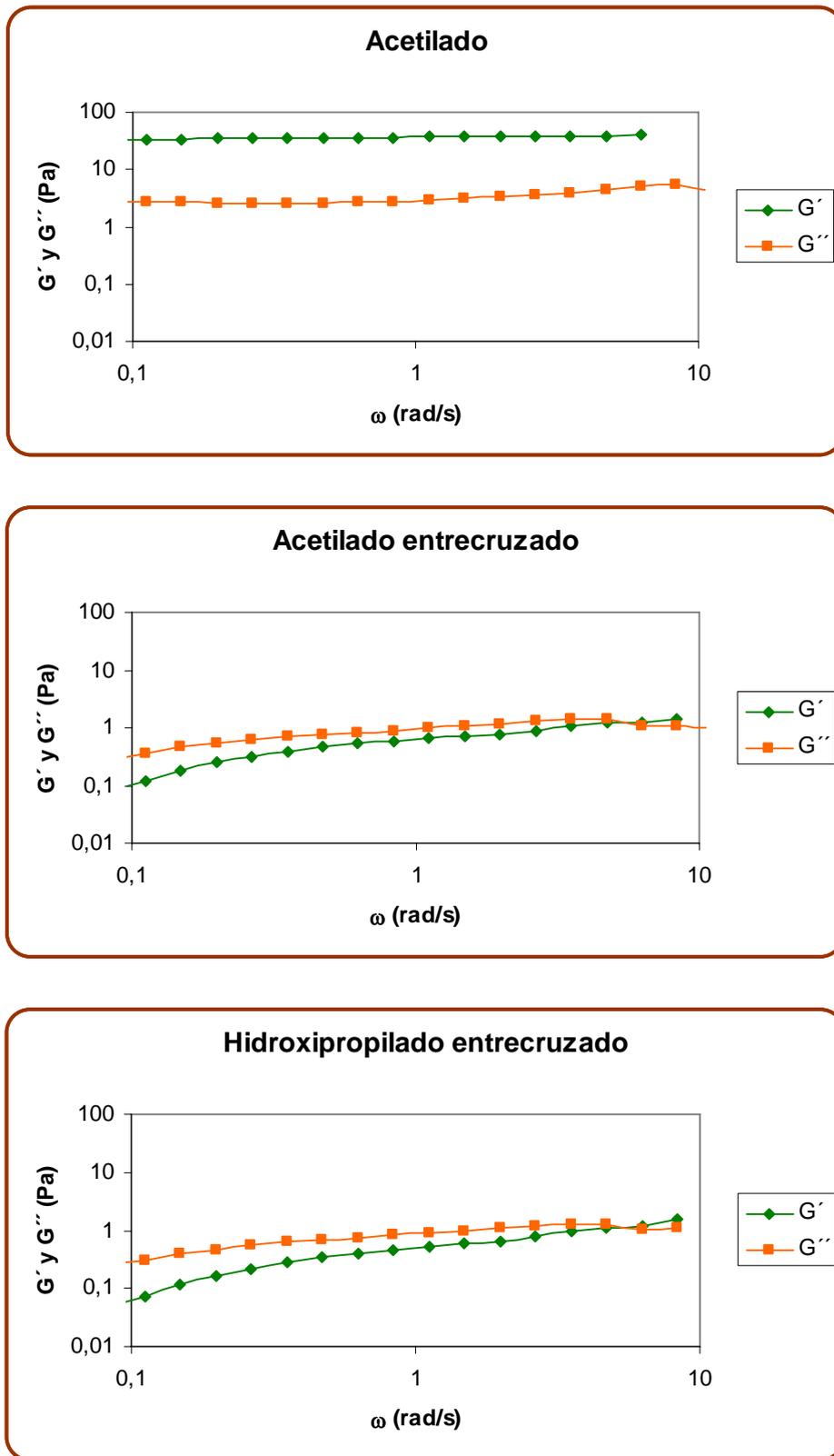


Figura 2.17. Espectros mecánicos de suspensiones al 4% p/p gelatinizadas de almidones de maíz químicamente modificados (acetilado, acetilado entrecruzado e hidroxipropilado entrecruzado)

Comparando los valores de G' y G'' para las suspensiones gelatinizadas de los almidones que presentaron comportamiento de gel se observó la siguiente tendencia acetilado>mandioca>ahipa en la rigidez de la estructura desarrollada.

La modificación dual (sustitución+entrecruzamiento) no afectó el comportamiento viscoelástico de las suspensiones ya que presentaron un espectro mecánico similar a las del almidón de maíz nativo (Figura 2.17), típico de un fluido viscoso.

Los patrones mecánicos de las suspensiones de los almidones en estudio se modelaron matemáticamente mediante la Ley de la Potencia a partir de las siguientes ecuaciones (Steffe, 1996):

$$G' = a\omega^b \quad [2.14]$$

$$G'' = c\omega^d \quad [2.15]$$

donde ω es la frecuencia expresada en Hz y a, b, c y d son parámetros del modelo.

Los valores de los coeficientes de correlación r^2 para los datos experimentales de G' resultaron mayores que 0.95, mientras que para G'' variaron entre 0.75 y 0.946; por lo tanto, el modelo matemático empleado ajustó más satisfactoriamente los datos de G' que de G'' , para las suspensiones gelatinizadas de todos los almidones en estudio (Tabla 2.5). También se observó que para las suspensiones gelatinizadas de los almidones dualmente modificados el ajuste para los datos de G'' resultó mejor que para el caso de los almidones nativos y el acetilado ya que los valores de r^2 hallados fueron mayores (Tabla 2.5).

Los valores del parámetro a, relacionado con el comportamiento de gel, resultaron como era de esperar significativamente ($p<0.01$) mayores para las suspensiones gelatinizadas de los almidones de ahipa, mandioca y de maíz acetilado, observándose la misma tendencia en el parámetro a que en la rigidez de la estructura desarrollada. Para estas tres suspensiones, los valores del parámetro b, relacionado con la estructura del gel, resultaron significativamente ($p<0.05$) menores que para el caso de los almidones de maíz nativo y los dualmente modificados (Tabla 2.5). En general, los parámetro c y d para el modelado de las curvas de G'' siguieron una tendencia similar que los correspondientes a y b para las curvas de G' .

Tabla 2.5. Comportamiento viscoelástico y parámetros del modelo matemático de suspensiones al 4% p/p de almidones nativos y químicamente modificados de maíz.

<i>Almidón</i>		<i>Módulo de almacenamiento G' (Pa) $G' = a \omega^b$</i>		
		<i>Coefficiente de correlación (r^2)</i>	<i>Parámetro a (Pa s^b)</i>	<i>Parámetro b</i>
<i>Nativo</i>	<i>Maíz</i>	0.979	0.35±0.19	0.60±0.09
	<i>Ahipa</i>	0.960	32.60±2.32	0.06±0.00
	<i>Mandioca</i>	0.952	34.24±1.27	0.054±0.002
<i>Modificado de maíz</i>	<i>A</i>	0.958	37.26±1.24	0.053±0.004
	<i>AE</i>	0.983	0.65±0.13	0.43±0.04
	<i>HE</i>	0.989	0.61±0.14	0.49±0.06

<i>Almidón</i>		<i>Módulo de pérdida G'' (Pa) $G'' = c \omega^d$</i>		
		<i>Coefficiente de correlación (r^2)</i>	<i>Parámetro c (Pa s^d)</i>	<i>Parámetro d</i>
<i>Nativo</i>	<i>Maíz</i>	0.781	0.69±0.37	0.29±0.09
	<i>Ahipa</i>	0.75	2.11±1.32	0.11±0.05
	<i>Mandioca</i>	0.77	1.17±0.02	0.87±0.01
<i>Modificado de maíz</i>	<i>A</i>	0.784	3.44±0.12	0.13±0.01
	<i>AE</i>	0.917	0.95±0.14	0.25±0.01
	<i>HE</i>	0.946	0.94±0.13	0.27±0.01

Los valores informados corresponden al promedio ± desviación estándar.

A: Acetilado; **AE:** acetilado entrecruzado, **HE:** hidroxipropilado entrecruzado

Efecto del tiempo de post gelatinización en el comportamiento viscoelástico

El tiempo de post gelatinización no afectó las propiedades reológicas de las suspensiones de los almidones de ahipa y mandioca pero sí el de las de maíz. Luego de la gelatinización, las suspensiones de almidón de maíz pasan de ser un fluido típicamente viscoso a desarrollar una estructura más organizada. Este efecto se atribuye principalmente a la retrogradación a corto plazo de las cadenas de amilosa.

Para los almidones modificados de maíz no se observaron cambios en los comportamientos viscoelásticos de sus suspensiones luego de la gelatinización. Al máximo tiempo ensayado (600 min luego de la gelatinización) las pastas de almidón de

maíz nativo desarrollaron una estructura más rígida que las del acetilado ya que los valores de G' resultaron 270% mayores que para el acetilado (Figura 2.18).

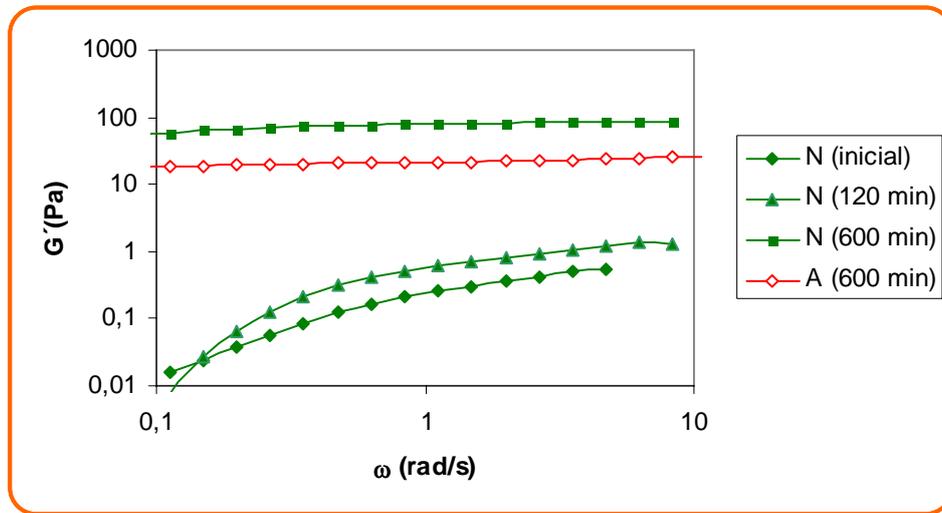


Figura 2.18. Efecto del tiempo de post gelatinización sobre el módulo de almacenamiento (G') de suspensiones al 4% p/p gelatinizadas de almidón de maíz: nativo (N) y acetilado (A)

4.6 Retrogradación de las pastas de almidón bajo condiciones de refrigeración

La retrogradación es un proceso que ocurre cuando las cadenas de amilosa y amilopectina en las suspensiones de almidón gelatinizadas se reasocian formando una estructura más ordenada. Las pastas de todos los almidones estudiados se almacenaron durante 12 días bajo condiciones de refrigeración, siendo este el máximo tiempo de almacenamiento debido al desarrollo microbiano de los geles.

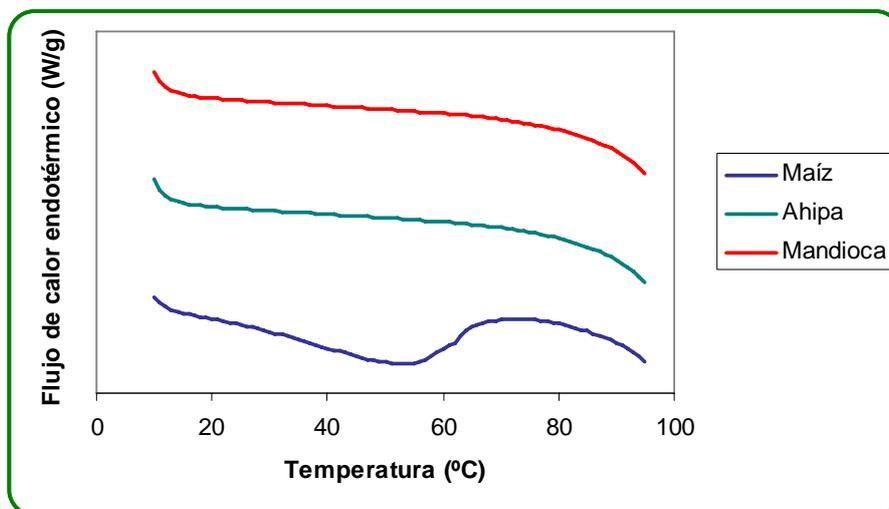


Figura 2.19. Termogramas de pastas de almidones nativos almacenadas 12 días a 4°C.

Al final del almacenamiento, las curvas de DSC de las pastas de los almidones extraídos de ahípa y mandioca no presentaron ningún pico endotérmico que indicara cambios estructurales causados por la retrogradación de la amilopectina (Figura 2.19). Estos resultados indicarían que las cadenas de amilopectina en estos almidones presentarían un mayor grado de ramificación, limitando así la asociación de las cadenas y la retrogradación de las pastas. En cambio, las curvas de DSC de las pastas de almidón de maíz mostraron un pico endotérmico alrededor de 55 °C, característico de la recristalización de amilopectina, y tanto su entalpía como el porcentaje de retrogradación calculado se vieron incrementados durante el tiempo de almacenamiento, confirmando que éste es un proceso dependiente del tiempo (Figura 2.20.A y B).

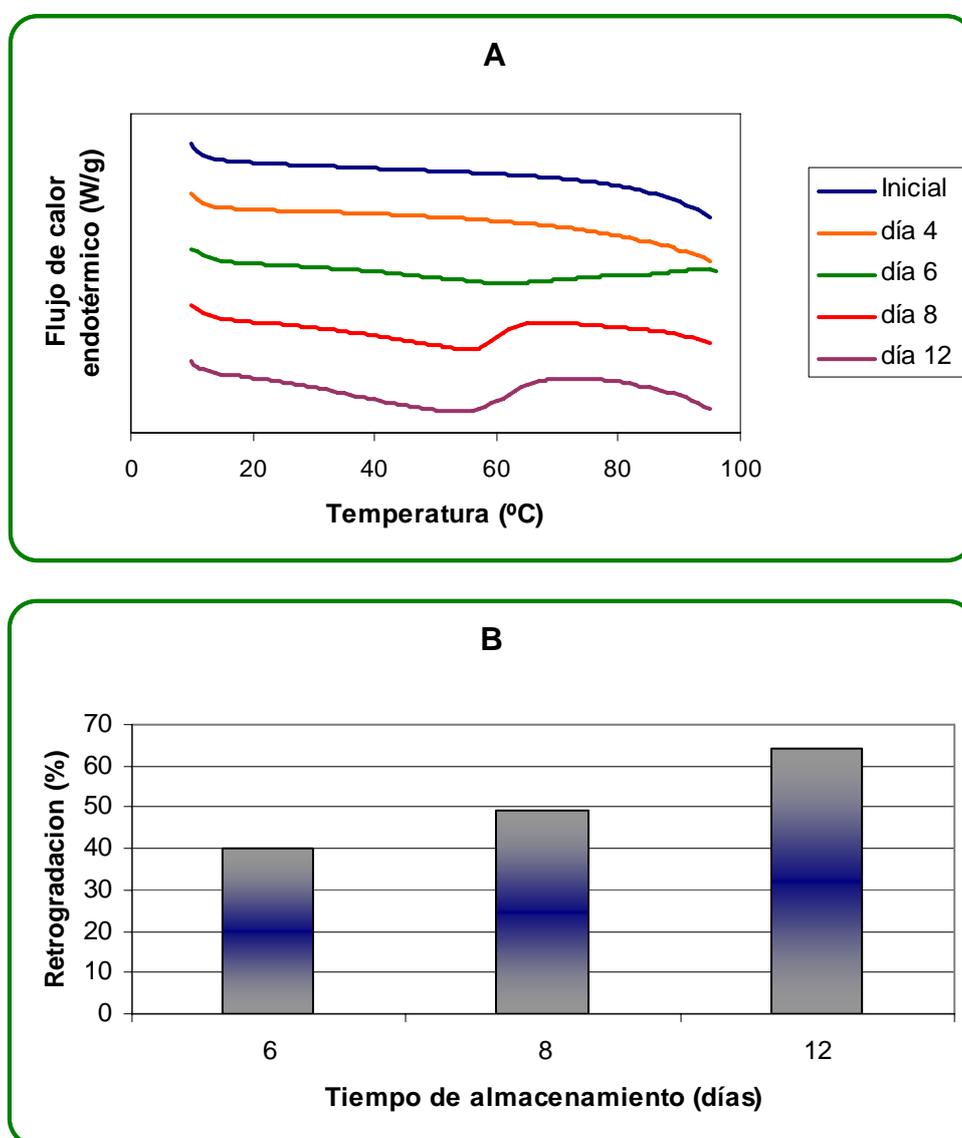


Figura 2.20. A) Termogramas y B) porcentaje de retrogradación de pastas de almidón de maíz nativo almacenadas durante 0, 4, 6, 8 y 12 días a 4 °C.

Debido a que el proceso de retrogradación causa un incremento en la rigidez de las pastas induciendo una separación de fases, la presencia de un exudado se utiliza habitualmente como indicador de este proceso no deseado. La sinéresis se produce porque se reemplazan uniones amilosa-H₂O por uniones amilosa-amilosa, con la consecuente pérdida de agua. Al final del almacenamiento las pastas de almidón nativo de maíz presentaron un grado de sinéresis de $40.09 \pm 1.04\%$, mientras que para las pastas de ahípa y mandioca resultaron significativamente más bajos ($p < 0.01$) siendo los mismos $0.21 \pm 0.01\%$ y $4.07 \pm 0.77\%$, respectivamente.

Tabla 2.6. Parámetros de TPA de pastas de almidón nativo almacenadas a 4 °C durante a 1 y 12 días.

<i>Parámetro del TPA</i>	<i>Almidón nativo</i>	<i>1 día de almacenamiento</i>	<i>12 días de almacenamiento</i>
<i>Fracturabilidad (N)</i>	<i>Maíz</i>	0.26 ± 0.01^a	0.67 ± 0.01^b
	<i>Ahípa</i>	nd	nd
	<i>Mandioca</i>	nd	nd
<i>Dureza (N)</i>	<i>Maíz</i>	0.27 ± 0.01^a_a	0.71 ± 0.02^b_a
	<i>Ahípa</i>	1.69 ± 0.10^a_b	1.22 ± 0.29^b_b
	<i>Mandioca</i>	0.66 ± 0.03^a_c	0.80 ± 0.05^b_c
<i>Adhesividad (Ns)</i>	<i>Maíz</i>	0.43 ± 0.04^a_a	0.27 ± 0.02^b_a
	<i>Ahípa</i>	0.24 ± 0.06^a_b	0.17 ± 0.05^a_b
	<i>Mandioca</i>	0.18 ± 0.03^a_b	0.18 ± 0.04^a_b
<i>Cohesividad</i>	<i>Maíz</i>	0.71 ± 0.11^a_a	0.65 ± 0.00^a_a
	<i>Ahípa</i>	$0.90 \pm 0.24^a_{a,b}$	0.88 ± 0.29^a_a
	<i>Mandioca</i>	1.04 ± 0.12^a_b	0.97 ± 0.04^a_a
<i>Gomosidad (N)</i>	<i>Maíz</i>	0.20 ± 0.03^a_a	0.46 ± 0.01^b_a
	<i>Ahípa</i>	1.53 ± 0.27^a_b	1.07 ± 0.40^a_b
	<i>Mandioca</i>	0.68 ± 0.12^a_c	0.78 ± 0.08^a_b
<i>Elasticidad</i>	<i>Maíz</i>	1.16 ± 0.11^a_a	0.99 ± 0.01^b_a
	<i>Ahípa</i>	1.15 ± 0.06^a_a	1.07 ± 0.04^a_b
	<i>Mandioca</i>	1.27 ± 0.07^a_a	1.20 ± 0.04^a_c
<i>Masticabilidad (N)</i>	<i>Maíz</i>	0.23 ± 0.04^a_a	0.45 ± 0.01^b_a
	<i>Ahípa</i>	1.76 ± 0.18^a_b	1.15 ± 0.3^b_b
	<i>Mandioca</i>	0.87 ± 0.19^a_c	0.93 ± 0.11^a_b

nd: no detectado.

Los valores informados corresponden al promedio \pm desviación estándar. Diferentes letras asignadas a valores dentro de una misma fila (superíndices en rojo)/columna (subíndices en azul) indican que los mismos son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Los cambios en la textura de las pastas de almidón durante su almacenamiento condicionan las aplicaciones de los almidones en la formulación de alimentos (Sandhu y Singh, 2007).

La Tabla 2.6 muestra los parámetros de TPA obtenidos para las pastas de almidón de maíz, ahípa y mandioca al inicio y al final del almacenamiento refrigerado. Los perfiles mecánicos correspondientes a las pastas de ahípa y mandioca no presentaron pico de fracturabilidad; en cambio, dicho pico fue observado para las pastas de almidón de maíz nativo cuya intensidad aumentó aproximadamente 158% durante los 12 días de almacenamiento en condiciones de refrigeración. La presencia del mismo se atribuye al aumento de la rigidez de la pasta ya que la retrogradación de la amilopectina remanente en los gránulos refuerza la red de amilosa. Así, los resultados de TPA se correlacionan con los obtenidos a partir de los ensayos de DSC.

El tiempo de almacenamiento y el origen botánico del almidón afectaron significativamente ($p < 0.05$) la dureza de las pastas almacenadas, obteniéndose los valores más altos para las pastas de almidón de ahípa.

La adhesividad de las pastas es una propiedad de superficie y depende de las fuerzas adhesivas y cohesivas, como así también de la viscosidad y de las propiedades viscoelásticas (Huang y col., 2007; Adhikari y Jindal, 2001). La adhesividad de las pastas de almidón de maíz fue mayor que las correspondientes a las pastas de ahípa y mandioca, y disminuyó significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento.

Luego de 1 día a 4 °C las pastas de almidón de mandioca resultaron más cohesivas ($p < 0.05$) que las de maíz. Además, el tiempo de almacenamiento no afectó significativamente ($p > 0.05$) la cohesividad de las pastas de ninguno de los almidones nativos.

La gomosidad de las pastas de almidón de maíz aumentó ($p < 0.05$) durante el almacenamiento; a los 12 días las pastas de almidón de ahípa y las de mandioca presentaron una gomosidad mayor ($p < 0.05$) que las de almidón de maíz.

El tiempo de almacenamiento disminuyó ($p < 0.05$) la elasticidad de las pastas de almidón; el último día de almacenamiento el origen botánico del almidón afectó significativamente ($p < 0.05$) esta característica.

Por último, el almacenamiento afectó significativamente ($p < 0.05$) la masticabilidad de las pastas de almidón obteniéndose los valores más bajos ($p < 0.05$) para las pastas de almidón de maíz.

La comparación de las propiedades mecánicas de las pastas de almidón obtenidas con datos reportados por otros autores es muy difícil ya que las mismas dependen de varios factores: concentración de la suspensión de almidón, tiempo y temperatura de almacenamiento como así también de otras condiciones experimentales.

Así, la alta tendencia de las pastas de almidón de maíz nativo para retrogradar se evidenció por el incremento de la entalpía de retrogradación, la producción de sinéresis, la dureza de los geles y la presencia del pico de fracturabilidad durante el almacenamiento.

Los termogramas de las pastas de los almidones modificados químicamente almacenados durante 12 días bajo condiciones de refrigeración no presentaron el pico endotérmico característico de la retrogradación de amilopectina (Figura 2.21) y el grado de sinéresis de los mismos resultó muy bajo (aproximadamente 0.22%).

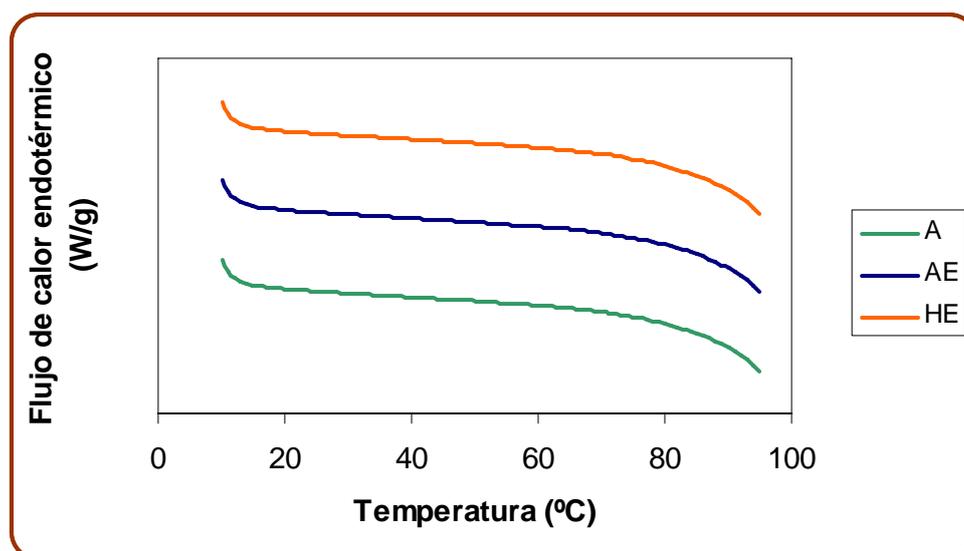


Figura 2.21. Termogramas de pastas de almidones de maíz químicamente modificados (A: acetilado, AE: acetilado entrecruzado e HE: hidroxipropilado entrecruzado) almacenadas durante 12 días a 4°C.

Como el grado de sinéresis y el análisis mediante DSC mostraron una tendencia similar para las pastas de los tres almidones de maíz modificados, los ensayos de TPA sólo se realizaron para las pastas de almidón acetilado y se compararon con los datos ya reportados para las pastas de almidón de maíz nativo, como se muestra en la Tabla 2.7.

Tabla 2.7. Parámetros de TPA de pastas de almidón de maíz nativo y acetilado almacenadas a 4 °C.

<i>Tiempo de almacenamiento (días)</i>	<i>Almidón de maíz</i>	<i>Dureza (N)</i>	<i>Cohesividad</i>	<i>Adhesividad (Ns)</i>	<i>Fracturabilidad (N)</i>
1	<i>N</i>	0.27±0.01 ^a	0.71±0.11 ^{a,b}	0.43±0.04 ^a	0.26±0.01 ^a
	<i>A</i>	0.34±0.05 ^a	0.68±0.15 ^{a,b}	0.50±0.01 ^a	nd
4	<i>N</i>	0.28±0.01 ^a	0.74±0.09 ^{a,b}	0.17±0.03 ^b	0.24±0.03 ^a
	<i>A</i>	0.53±0.06 ^b	0.80±0.07 ^b	0.28±0.08 ^b	nd
6	<i>N</i>	0.52±0.06 ^b	0.69±0.05 ^{a,b}	0.22±0.04 ^b	0.48±0.10 ^b
	<i>A</i>	0.62±0.01 ^b	0.73±0.04 ^{a,b}	0.28±0.18 ^b	nd
8	<i>N</i>	0.59±0.01 ^b	0.50±0.00 ^a	0.22±0.00 ^b	0.43±0.00 ^b
	<i>A</i>	0.66±0.08 ^b	0.78±0.11 ^b	0.21±0.04 ^b	nd
12	<i>N</i>	0.71±0.02 ^b	0.65±0.00 ^{a,b}	0.27±0.02 ^b	0.67±0.01 ^c
	<i>A</i>	0.68±0.06 ^b	0.79±0.06 ^b	0.28±0.03 ^b	nd

nd: no detectado

Los valores informados corresponden al promedio ± desviación estándar. Diferentes letras asignadas a valores dentro de una misma columna indican que los mismos son significativamente diferentes (p<0.05).

El tiempo de almacenamiento y el tratamiento químico afectaron (p<0.05) la dureza, cohesividad, masticabilidad y la gomosidad de las pastas, mientras que la elasticidad no varió significativamente (p>0.05). La dureza relativa se incrementó y resultó 1.25 veces mayor para las pastas de almidón de maíz nativo que para las de almidón acetilado. La adhesividad decreció y permaneció constante a partir del 4º día para las pastas de ambos almidones.

La introducción de los sustituyentes en las moléculas de almidón limita la interacción de las cadenas ya que previene la formación de enlaces puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilos afectando los procesos de reagregación y de recristalización de las cadenas de almidón, involucrados en la retrogradación, durante el almacenamiento.

4.7 Estabilidad de las pastas de almidón al proceso de congelación-descongelación

Luego del proceso de congelación-descongelación se observó que las pastas de los tres almidones nativos estudiados exhibieron textura tipo esponja y una gran cantidad de líquido exudado. La sinéresis observada se atribuye a la asociación molecular entre las cadenas permitiendo así la exclusión del agua de la estructura del gel.

En el caso de las pastas de los almidones modificados se observó que las mismas resultaron más suaves y elásticas, además de presentar una menor cantidad de agua exudada. Saartrat y colaboradores (2005) informaron una tendencia similar para el caso de pastas de almidón de achira acetilado y la atribuyeron a que la incorporación de los grupos acetilos impide la asociación intermolecular entre las cadenas de almidón. Por otra parte, Hung y Morita (2005) informaron que la hidroxipropilación aumentó la estabilidad de las pastas de almidón de trigo frente al proceso de congelación-descongelación debido a la naturaleza hidrofílica de los grupos sustituyentes que previene la separación de las moléculas de agua de la estructura.

La Figura 2.22 corresponde a los termogramas obtenidos a partir de los ensayos de DSC de las pastas de los almidones estudiados. Se observó que para el caso de los almidones nativos se registró un pico endotérmico correspondiente a la retrogradación de la amilopectina cuya temperatura varió con la fuente botánica del almidón (Figura 2.22.A). Para el caso de los almidones de maíz modificados, no se observó ninguna transición térmica (Figura 2.22.B). Estos resultados confirman que las modificaciones químicas estudiadas impiden la retrogradación de las cadenas de amilopectina.

En la Tabla 2.8 se muestran los parámetros obtenidos a partir de los ensayos de TPA de las pastas de los almidones en estudio. Con respecto a las pastas de los almidones nativos sometidos al proceso de congelación-descongelación, se observó que la fuente botánica afectó significativamente ($p < 0.05$) la dureza, la gomosidad y la masticabilidad. Con respecto a la adhesividad, se obtuvieron valores similares y significativamente mayores ($p < 0.01$) para las pastas de los almidones de ahípa y mandioca que los correspondientes a las pastas de almidón de maíz (Tabla 2.8). Los valores de cohesividad y elasticidad de las pastas no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tres almidones nativos estudiados.

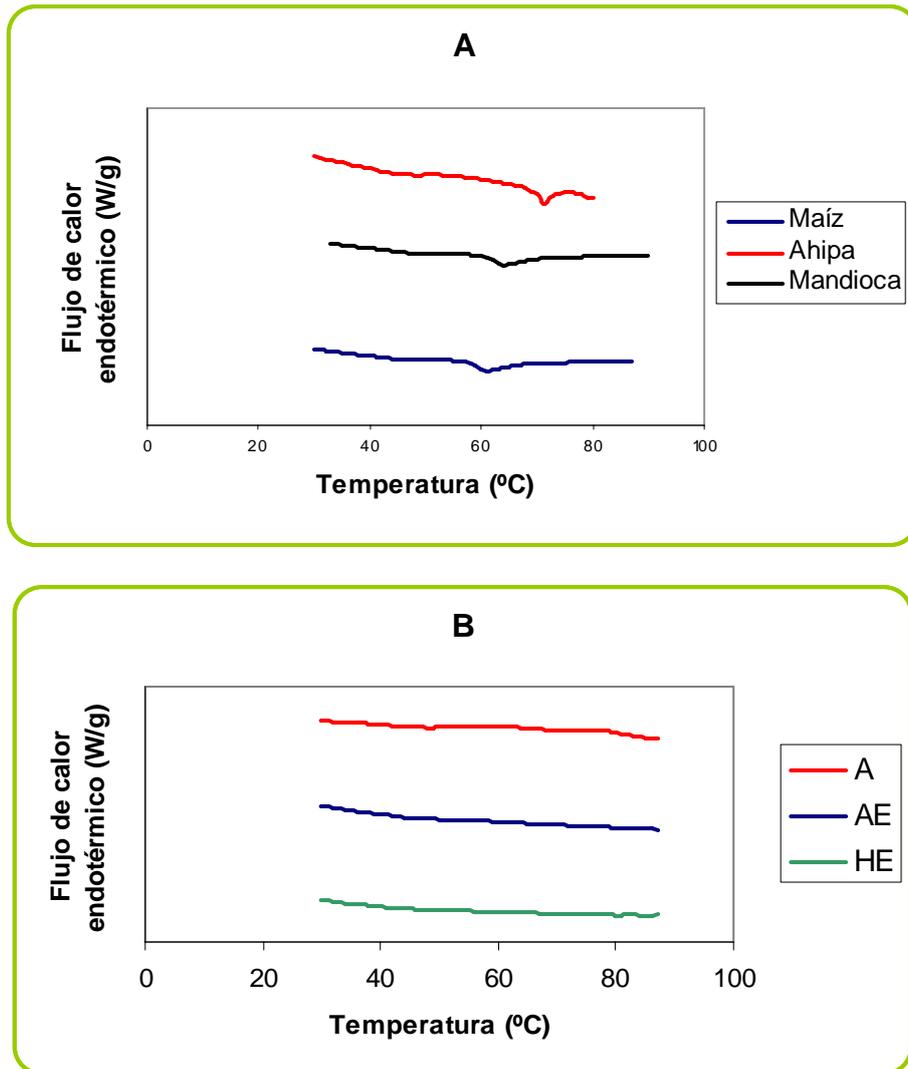


Figura 2.22. Termogramas de pastas de almidón: **A)** Nativos y **B)** Químicamente modificados de maíz (A: acetilado, AE: acetilado entrecruzado e HE: hidroxipropilado entrecruzado) sometidas al proceso de congelación-descongelación.

De las pastas de los almidones de maíz químicamente modificados, las correspondientes al almidón acetilado entrecruzado no pudieron someterse a los ensayos de TPA ya que al desmoldarlas sobre la base del texturómetro las mismas sufrían una deformación permanente importante, que impedía la realización del ensayo. Se observó que las modificaciones químicas del almidón nativo disminuyeron significativamente ($p < 0.05$) la dureza, gomosidad y masticabilidad de las pastas sometidas al proceso de congelación-descongelación (Tabla 2.8). El resto de los parámetros evaluados no sufrieron cambios significativos ($p > 0.05$) con las modificaciones del almidón nativo. Los resultados obtenidos indican que los almidones nativos, especialmente el de maíz, no son adecuados para la formulación de alimentos congelados, ya que las modificaciones estructurales ocasionadas por el proceso de conservación limitarían la

aceptación del producto. El uso de almidones de maíz acetilado e hidroxipropilado entrecruzado es una alternativa viable con este fin ya que sus pastas presentaron estabilidad al proceso de congelación-descongelación.

Tabla 2.8. Parámetros de TPA de pastas de almidón nativos y de maíz químicamente modificados sometidos al proceso de congelación-descongelación.

<i>Parámetros del TPA</i>	<i>Almidón</i>				
	<i>Nativo</i>			<i>Modificado de maíz</i>	
	<i>Maíz</i>	<i>Ahipa</i>	<i>Mandioca</i>	<i>A</i>	<i>HE</i>
<i>Dureza (N)</i>	3.05±0.44	1.61±0.07	0.83±0.13	0.60±0.12	0.59±0.06
<i>Adhesividad (N s)</i>	0.04±0.00	2.47±0.06	2.41±0.11	0.06±0.01	0.06±0.00
<i>Cohesividad</i>	1.18±0.10	1.22±0.07	1.13±0.17	1.11±0.05	1.14±0.04
<i>Gomosidad (N)</i>	3.54±0.13	1.99±0.16	1.35±0.04	0.81±0.02	0.73±0.02
<i>Elasticidad</i>	6.97±0.72	6.99±0.67	6.51±0.01	7.67±0.63	7.29±0.37
<i>Masticabilidad (N)</i>	25.57±3.80	1.89±0.16	2.59±1.89	5.71±0.44	4.80±0.56

Capítulo 3:
PELÍCULAS DE ALMIDÓN:
OPTIMIZACIÓN DE LAS
FORMULACIONES

INTRODUCCION

La producción de películas biodegradables a partir de fuentes renovables le confieren un valor agregado a las materias primas, ampliando así su campo de aplicación (Müller y col., 2009). De todos los polímeros naturales, el almidón presenta ventajas debido a su bajo costo, alta disponibilidad, fácil manipulación y funcionalidad (Lafargue y col., 2007; Zhang y Han, 2006). El almidón está compuesto fundamentalmente por amilopectina y amilosa, siendo esta última la principal responsable de la capacidad formadora de películas que posee este polisacárido.

Existen numerosos estudios sobre la potencialidad de almidones de diferentes fuentes botánicas para el desarrollo de películas y recubrimientos con propiedades diferenciales (Müller y col., 2009). Así, se han obtenido y caracterizado películas a base de almidones nativos tales como maíz (García y col., 2009; Zhou y col., 2009; Bertuzzi y col., 2007), mandioca (Flores y col., 2010; Mali y col., 2005), cará (Mali y col., 2005), papa (Zhou y col., 2009), arvejas (Zhang y Han, 2006), entre otros. Por otra parte, también se encuentran en la literatura trabajos sobre la obtención de películas a base de diversos almidones modificados (López y col., 2011, 2010 y 2008; Lafargue y col., 2007; Bonacucina y col., 2006; Fringant y col., 1998).

Una de las posibles aplicaciones de estos materiales puede ser el desarrollo de envases para alimentos; por consiguiente, es necesario que las mismas sean resistentes para proteger al producto envasado y facilitar su manejo, además de ser flexibles para adaptarse a posibles deformaciones. Las películas de biopolímeros tienen flexibilidad limitada comparada con los materiales sintéticos y se ha demostrado que en el caso de películas a base de almidón, la relación amilosa/amilopectina condiciona el comportamiento mecánico del material (Alves y col., 2007; Tharanthan, 2003; Mali y col., 2002). Así, la incorporación de plastificantes a la matriz polimérica resulta imprescindible para mantener la integridad del envase y mejorar sus propiedades mecánicas. El plastificante debe ser compatible con el polímero base para poder generar una matriz homogénea, sin separación de fases (Lazaridou y Biliaderis, 2002; Mali y col., 2002). Los más empleados son polioles (glicerol, sorbitol, polietilenglicol, etc.), siendo los grupos hidroxilos de dichos compuestos los responsables del efecto plastificante (Sothornvit y Krotcha, 2005).

Por otra parte, la determinación de las propiedades de barrera al vapor de agua de las películas resulta relevante ya que la calidad organoléptica y microbiológica de los

alimentos depende de la efectividad del envase para controlar el intercambio de vapor de agua. La difusión y solubilidad del permeante son afectadas por la temperatura, el tamaño, forma y polaridad de la molécula que difunde y las características de la película tales como espesor, cristalinidad, presencia de plastificante, etc. (Sothornvit y Krotcha, 2005; Mali y col., 2002).

Así, el manejo de la formulación permite controlar las propiedades de barrera al vapor de agua de las películas y su comportamiento mecánico con la finalidad de obtener materiales con diferentes posibilidades de aplicación.

OBJETIVOS

Los **objetivos** planteados para este capítulo son los siguientes:

- Evaluar la capacidad formadora de películas por el método de moldeo de suspensiones de almidones nativos y almidones de maíz químicamente modificados.
- Optimizar la formulación de las suspensiones filmogénicas (tipo y concentración de almidón e incorporación de plastificante) a partir de las características de las películas obtenidas (apariencia, propiedades mecánicas y permeabilidad al vapor de agua).

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Muestras de almidones

Se utilizaron tres almidones nativos de diferente origen botánico: almidón de maíz y almidones extraídos a partir de raíces tuberosas de ahípa y de mandioca, según el procedimiento descrito en el Capítulo 2.

Los almidones de maíz químicamente modificados fueron los siguientes: acetilado (A), acetilado entrecruzado (AE), hidroxipropilado entrecruzado (HE) y modificado vía ácida (MA).

2. Suspensiones filmogénicas

En primera instancia se prepararon suspensiones acuosas de todos los almidones cuyas concentraciones fueron 4, 5 y 6 g de almidón/100g de suspensión (4-6% p/p) que se gelatinizaron a 90 °C durante 20 minutos. Las concentraciones ensayadas fueron superiores al 4% p/p ya que ésta es la mínima concentración que permite obtener películas de almidón continuas de espesores considerables (Liu, 2005).

Luego se trabajó con suspensiones al 5% p/p de los tres almidones nativos y de almidón de maíz acetilado, gelatinizadas en las condiciones anteriormente descritas, a las que se les agregó glicerol (J.T. Baker, México) como plastificante cuya concentración varió de 0.5 a 5 g de plastificante/100 g de suspensión (0.5-5% p/p).

Por último, se prepararon suspensiones acuosas al 5% p/p de mezclas de almidón de maíz nativo (N) y acetilado (A) cuyas proporciones, expresadas en % en peso en la suspensión, fueron las siguientes: a) 1.25% N + 3.75% A; b) 2.5% N + 2.5% A y c) 3.75% N + 1.25% A. Estas suspensiones también se gelatinizaron en las condiciones descritas y se les agregó glicerol en concentraciones de 0.5 a 5%.

2.1 Comportamiento reológico de las suspensiones filmogénicas

El comportamiento de flujo de las suspensiones filmogénicas se evaluó a través de ensayos reológicos rotacionales en un reómetro Rheo Stress 600 ThermoHaake (Haake, Alemania) usando un sistema sensor plato-plato PP35 a temperatura controlada de 25 °C. Las condiciones de medida como así también el análisis de los datos obtenidos se realizó de acuerdo a lo descrito en el Capítulo 2.

3. Obtención de las películas

Se obtuvieron por el método de moldeo pesando aproximadamente 20g de la suspensión filmogénica sobre placas de Petri de 9 cm de diámetro con el fin de mantener una relación masa:área constante. Las suspensiones se secaron en estufa a 50 °C durante 2 hs y luego a 20 °C durante 7 días. Las películas se mantuvieron a 20 °C con una humedad relativa (HR) de 65%.

4. Espesor de las películas

El espesor se determinó utilizando un medidor digital de espesores Check Line DCN-900 (Nueva York, USA) para sustancias no conductoras sobre sustratos no ferrosos. Se tomaron aleatoriamente diez medidas para cada película.

5. Caracterización de las películas

5.1 Propiedades mecánicas

Se realizaron ensayos de tracción en un texturómetro TA.XT2i – Stable Micro Systems (Reino Unido) empleando mordazas de tensión A/TG. Se utilizaron probetas de películas de 7×0.7 cm y se ensayaron al menos diez probetas por cada muestra.

Mediante el software Texture Expert Exceed se registraron automáticamente las curvas de fuerza (N) en función de la deformación (mm) y a partir de las mismas se calcularon los siguientes parámetros de acuerdo a la norma ASTM D882-91 (1996): fuerza de ruptura (N), deformación a la ruptura (extensión al momento de la ruptura, mm) y porcentaje de elongación a la ruptura (deformación a la ruptura dividido la longitud inicial de la probeta, %). El esfuerzo de tensión (MPa) se calculó dividiendo la fuerza a la ruptura por la sección transversal del film (espesor por el ancho de la probeta).

5.2 Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas se midió usando el método ASTM E96 (1995) con algunas modificaciones. Las muestras se colocaron en celdas de permeación de acrílico con una abertura circular de área conocida, las cuales contenían en su interior sílica gel (0% HR), (Figura 3.1.A). Luego, las celdas se pesaron en una balanza analítica y se ubicaron en una cámara a 20 °C equilibrada a 75% HR con una solución saturada de cloruro de sodio (Figura 3.1.B).

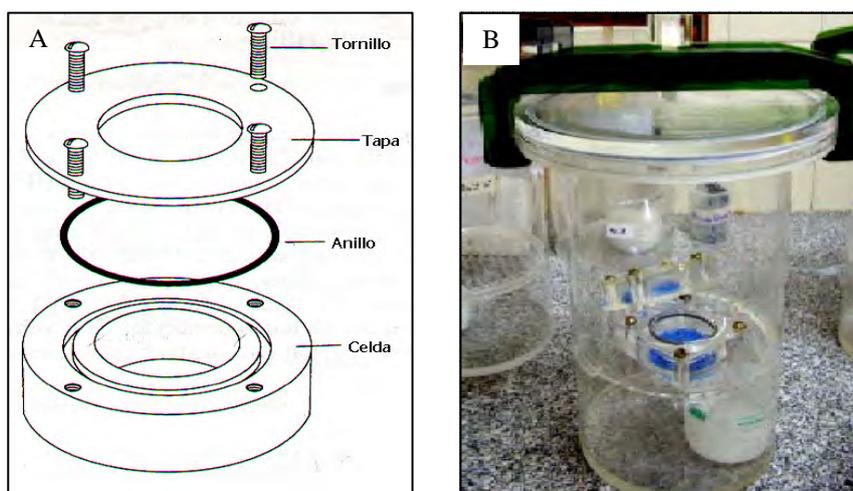


Figura 3.1. A) Celdas para medir permeabilidad al vapor de agua de películas. B) Celdas de permeación en una cámara a 20 °C equilibrada a 75% HR.

La diferencia de presión parcial de vapor de agua existente a ambos lados de la película proporciona la fuerza impulsora para el flujo de vapor. A intervalos regulares las celdas se pesaron y se calcularon los cambios de peso de las mismas en función del tiempo, obteniéndose así una recta luego de alcanzado el estado estacionario. La permeabilidad al vapor de agua se calculó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{WVP} = \frac{\left(\frac{\Delta w}{\Delta t}\right) \times \delta}{A \times \Delta p} \quad [3.1]$$

donde $(\Delta w/\Delta t)$ es la pendiente de la recta calculada mediante regresión lineal, expresada en g/s; δ es el espesor de la película, expresado en m; A es el área expuesta ($1.81 \times 10^{-3} \text{ m}^2$) y Δp es la diferencia de presión parcial de vapor de agua a través de la película (1753.55 Pa a 20 °C).

6. Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado, a partir de películas preparadas desde soluciones filmogénicas individuales. Se realizaron análisis multifactoriales de varianza mediante el uso del software Systat (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, USA) versión 10.0. Las diferencias en las propiedades de las películas se determinaron mediante el test de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) usando un nivel de significación $\alpha=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Películas de almidones nativos y químicamente modificados de maíz

1.1 Caracterización reológica de las suspensiones filmogénicas

El estudio del comportamiento reológico de las suspensiones filmogénicas determina las condiciones de procesamiento para la obtención de películas a escala industrial. Además, las propiedades reológicas están relacionadas con la presencia de defectos (burbujas y poros) en las matrices poliméricas (Han y Gennadios, 2005). La Figura 3.2 muestra las curvas de flujo de las suspensiones filmogénicas de los almidones nativos a las tres concentraciones ensayadas.

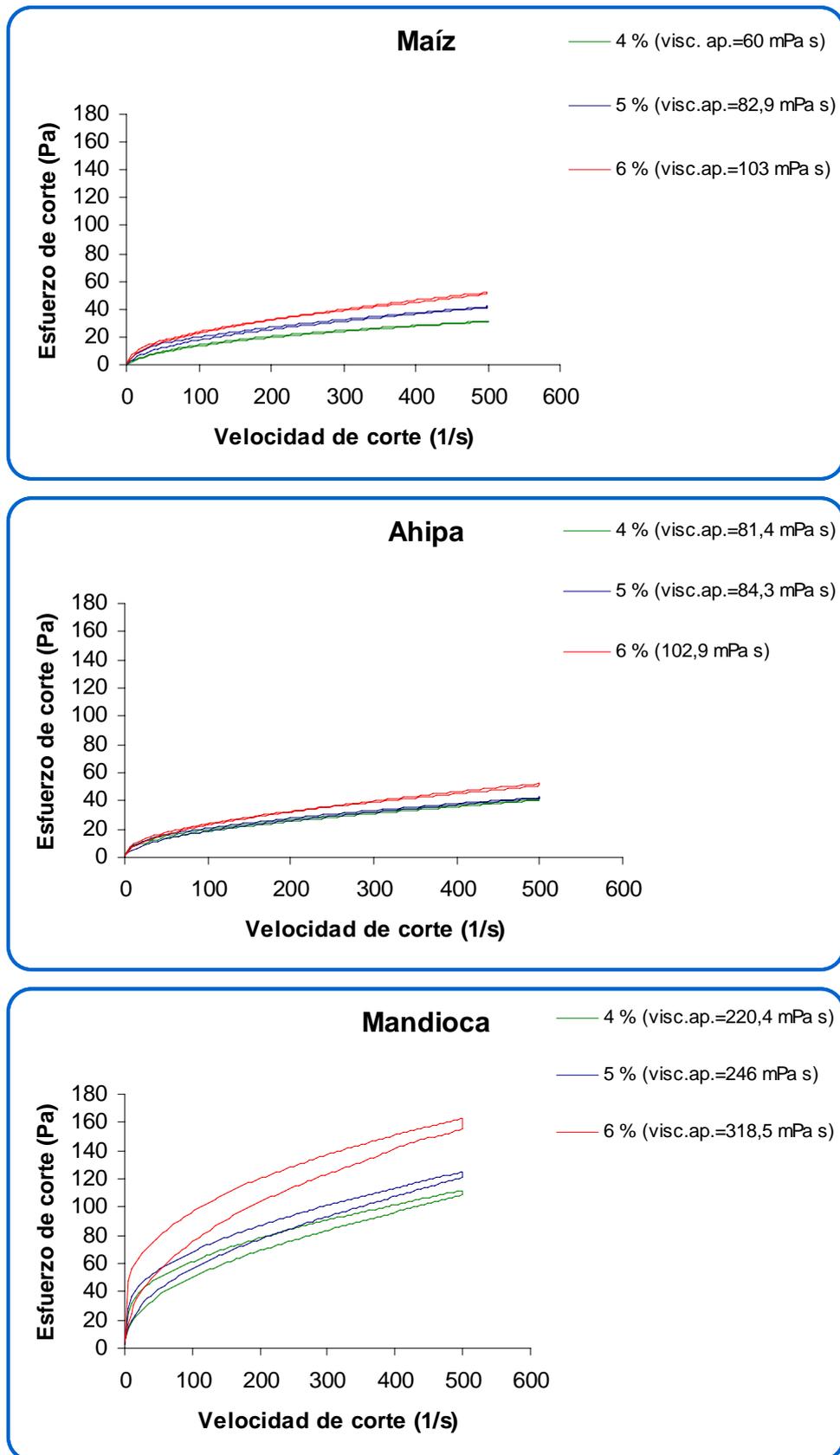
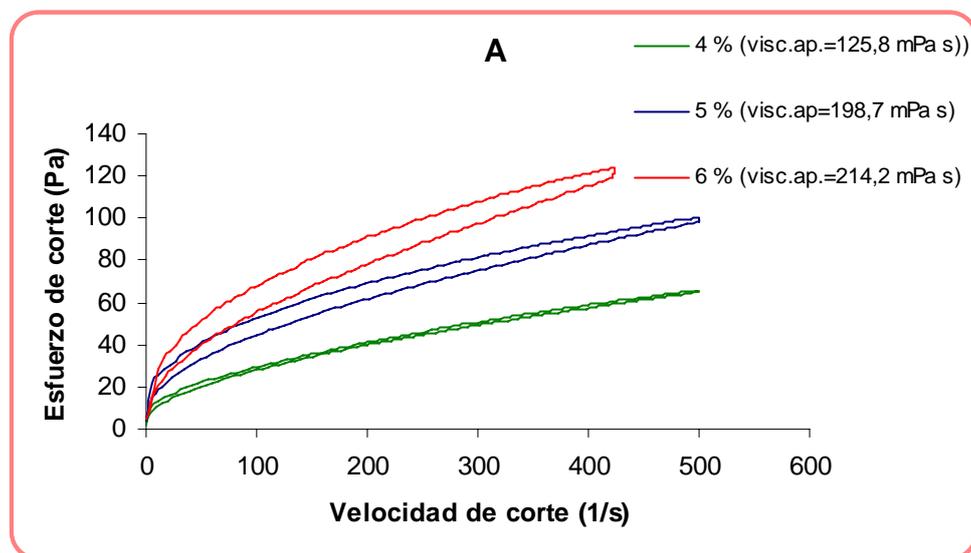


Figura 3.2. Curvas de flujo y viscosidades aparentes a 500 s^{-1} de suspensiones gelatinizadas al 4, 5 y 6% p/p de almidones nativos (maíz, ahípa y mandioca).

Todas las suspensiones filmogénicas presentaron comportamiento pseudoplástico y las viscosidades aparentes medidas a 500 s^{-1} aumentaron con la concentración, independientemente del tipo de almidón utilizado (Figura 3.2). Las viscosidades aparentes de las suspensiones de almidón de maíz y ahípa resultaron, en general, similares; mientras que las de almidón de mandioca presentaron valores significativamente ($p < 0.01$) más altos. Esto podría atribuirse a las diferencias estructurales de las cadenas de amilosa y amilopectina de los distintos almidones nativos estudiados, como se mencionó en el Capítulo 2.

El comportamiento reológico de las suspensiones filmogénicas de almidón de maíz hidrolizado (MA) resultó Newtoniano, siendo la viscosidad de las mismas independiente de la concentración. Para las suspensiones de los almidones sustituidos (A) y dualmente modificados (sustituidos+entrecruzados, AE y HE) se observó un comportamiento pseudoplástico para todas las concentraciones y la misma dependencia de la viscosidad aparente con la concentración que para el caso de los almidones nativos (Figura 3.3).

Las consideraciones realizadas en el Capítulo 2 respecto al análisis de los ensayos rotacionales de las suspensiones gelatinizadas de los almidones modificados explican el comportamiento reológico descrito.



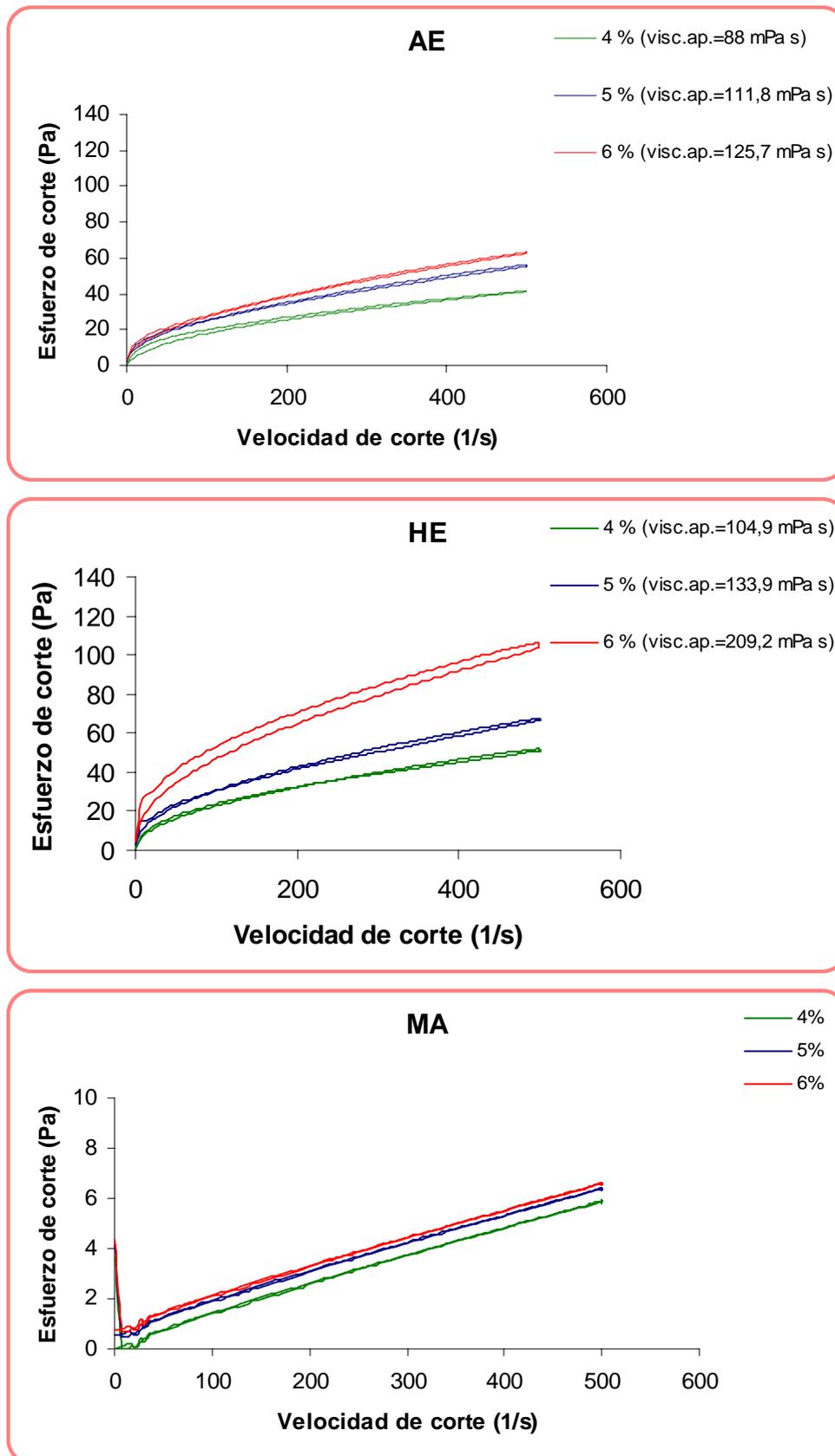


Figura 3.3. Curvas de flujo y viscosidades aparentes a 500 s^{-1} de suspensiones gelatinizadas al 4, 5 y 6% p/p de almidones de maíz químicamente modificados (acetilado: A, acetilado entrecruzado: AE, hidroxipropilado entrecruzado: HE y modificado vía ácida: MA)

1.2 Capacidad formadora de películas de las suspensiones filmogénicas

La capacidad formadora de películas está relacionada con la concentración de amilosa del almidón así como también con la arquitectura de los componentes, principalmente la distribución de tamaños de las cadenas (Mali y col., 2004).

Las suspensiones filmogénicas de los almidones nativos (maíz, ahípa y mandioca) fueron capaces de formar películas que se pudieron remover fácilmente de los moldes, independientemente de la concentración ensayada. En la Figura 3.4 se muestran fotos de las películas obtenidas.

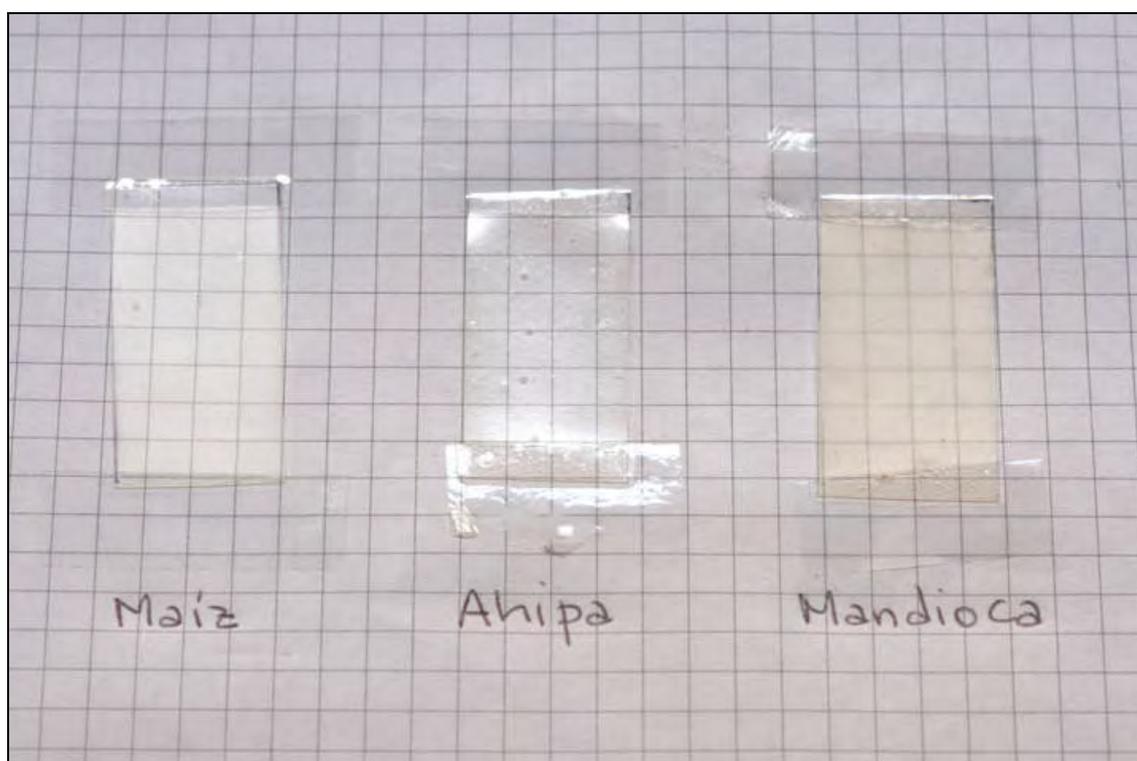


Figura 3.4. Películas obtenidas a partir de almidón de maíz, de ahípa y mandioca.

Las películas de almidón de mandioca resultaron levemente coloreadas, además de requerir de una etapa adicional para la eliminación de las burbujas de la suspensión filmogénica, debido a su alta viscosidad.

De los almidones de maíz químicamente modificados, el único que no presentó capacidad formadora de películas fue el almidón hidrolizado (MA) a pesar de que su contenido de amilosa era similar al del almidón de maíz nativo. El tratamiento ácido podría promover la hidrólisis de las cadenas poliméricas reduciendo el peso molecular promedio de las cadenas y eso podría explicar el comportamiento Newtoniano de las

suspensiones descrito anteriormente y su dificultad para formar una matriz cohesiva y continua.

Si bien las suspensiones filmogénicas del almidón acetilado (A) y de los almidones dualmente modificados (AE y HE) formaron películas, las que presentaron mejor apariencia, integridad y se removieron de los moldes más fácilmente fueron las películas de almidón de maíz acetilado (Figura 3.5).



Figura 3.5. Películas obtenidas a partir de almidón de maíz químicamente modificado: **A:** acetilado, **B:** acetilado entrecruzado y **C:** hidroxipropilado entrecruzado.

A partir de los resultados obtenidos, se decidió continuar el estudio de la obtención y caracterización de películas a partir de los tres almidones nativos y del almidón de maíz acetilado.

1.3 Optimización de la formulación

La concentración óptima de la suspensión gelatinizada para la obtención de películas se determinó a partir del análisis de la WVP. Como ya se mencionó, esta propiedad es crítica ya que los envases deben disminuir la transferencia de humedad entre el alimento y la atmósfera que lo rodea.

La Figura 3.6 muestra las WVP de las películas obtenidas a partir de las suspensiones de los almidones nativos y de almidón de maíz acetilado a las tres concentraciones ensayadas. La concentración óptima resultó ser 5% ya que las películas obtenidas a partir de las mismas presentaron valores significativamente menores ($p < 0.05$) de WVP, independientemente del tipo de almidón empleado.

Para evaluar el requerimiento de plastificante en la formulación se estudiaron las propiedades mecánicas de las películas ya que determinan las posibles aplicaciones de estos materiales que deben soportar la manipulación y evitar el deterioro de los productos envasados. Las películas de almidón sin la adición de plastificante exhibieron una estructura rígida y frágil ya que sus perfiles mecánicos presentaron altos valores de

fuerzas de ruptura y baja deformación por lo que no tendrían un potencial uso tecnológico (Figura 3.7). Este comportamiento mecánico se describe como típico de los materiales quebradizos.

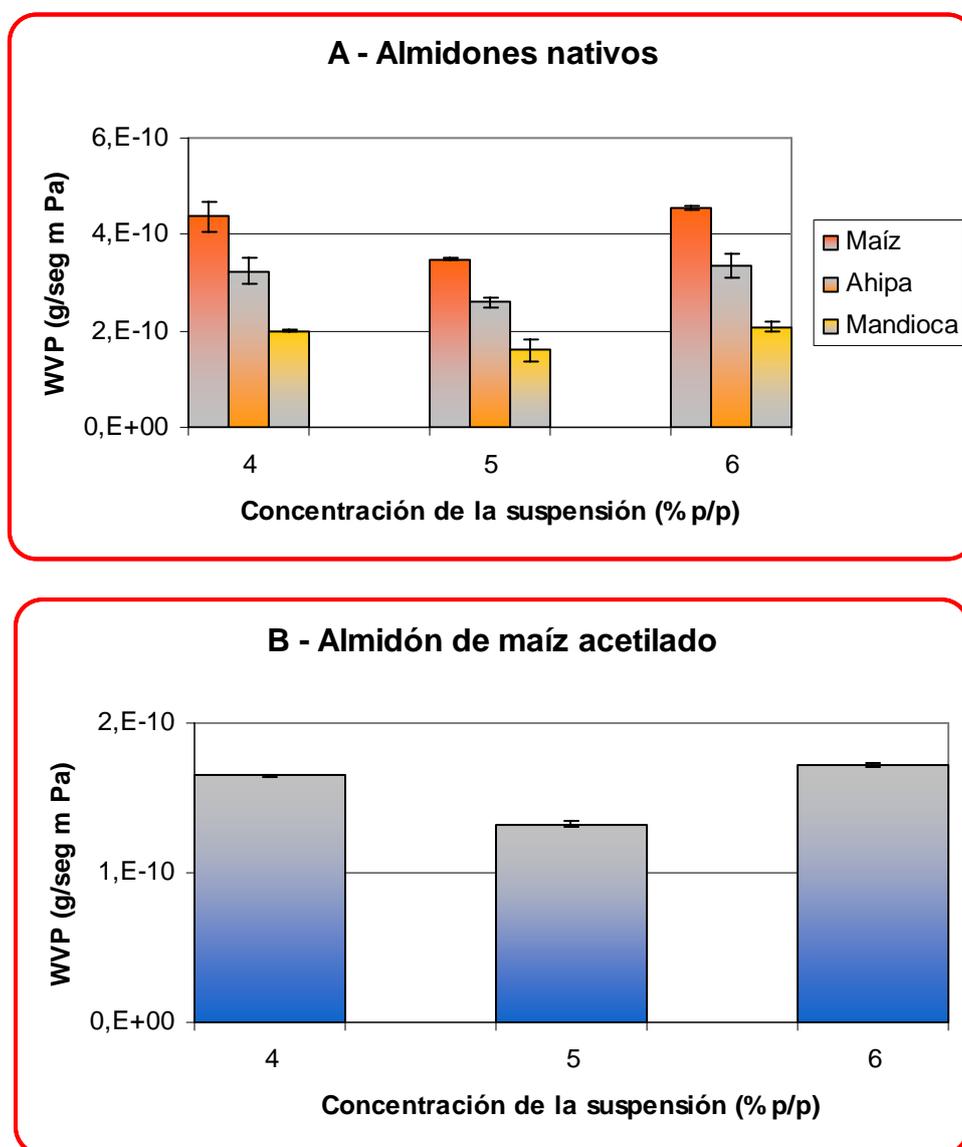


Figura 3.6. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas obtenidas a partir de suspensiones gelatinizadas al 4, 5 y 6% p/p de: **A:** almidones nativos (maíz, ahipa y mandioca) y **B:** almidón de maíz acetilado

Analizando el gráfico de la Figura 3.7 se puede observar que las películas de almidón de maíz acetilado sin plastificar resultaron ser las más fuertes (mayor fuerza a la ruptura); mientras que las de almidón de ahipa fueron las más rígidas (menor deformación a la ruptura). Para mejorar la flexibilidad de las películas se decidió incorporar glicerol como plastificante a las suspensiones gelatinizadas.

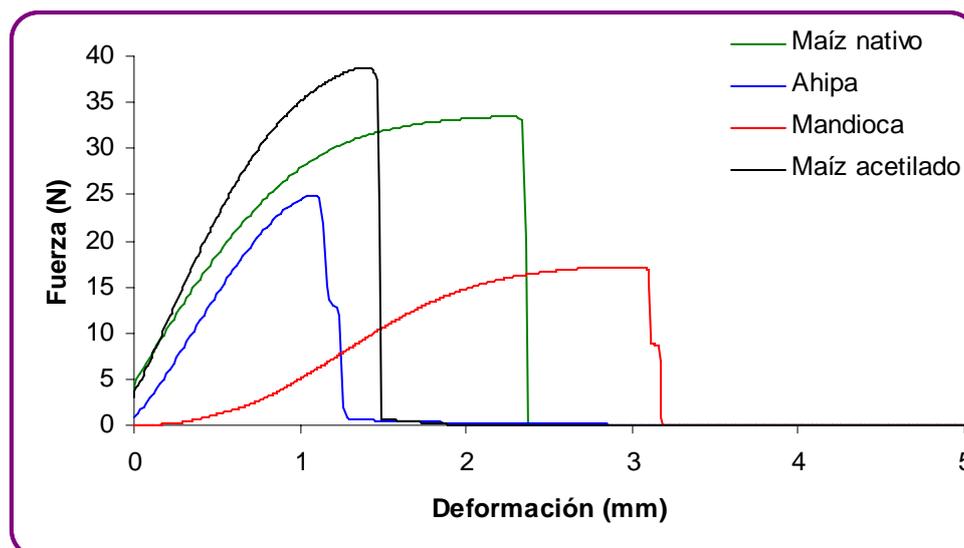


Figura 3.7. Perfiles mecánicos de películas de almidones nativos (maíz, ahípa y mandioca) y de almidón de maíz acetilado.

Para seleccionar la concentración óptima de glicerol se evaluó el efecto del mismo sobre la WVP y las propiedades mecánicas de las películas. Se observó que la influencia de la concentración de glicerol sobre la WVP de las películas mostró una tendencia similar para todas las formulaciones ensayadas.

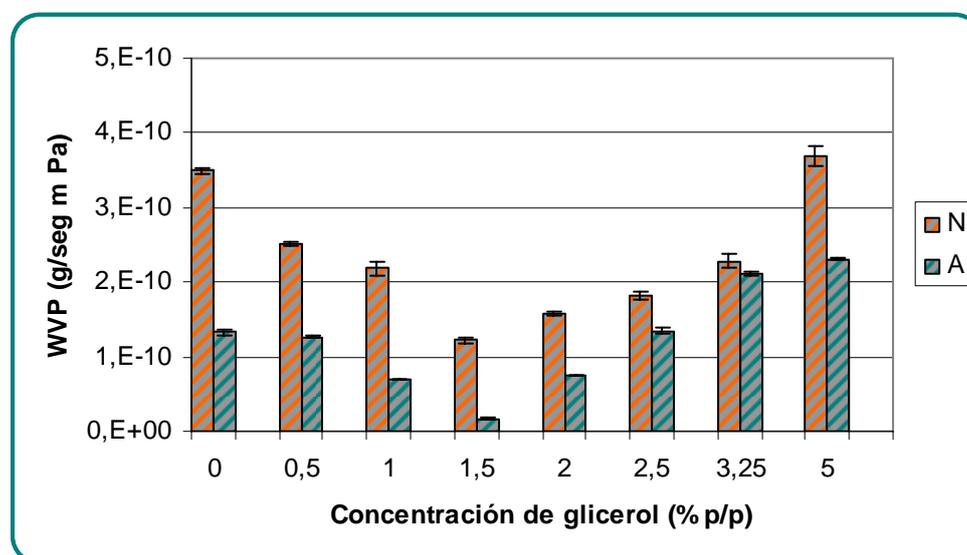


Figura 3.8. Efecto de la concentración de glicerol sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas obtenidas a partir de suspensiones gelatinizadas al 5% p/p de almidón de maíz nativo (N) y acetilado (A).

En la Figura 3.8 se presentan los resultados de las películas obtenidas a partir de almidón de maíz nativo y acetilado. Cuando se agregó glicerol hasta 1.5% disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el valor de WVP; sin embargo concentraciones mayores produjeron un incremento significativo ($p < 0.05$) de dichos valores, debido al carácter hidrofílico del glicerol. Además, las películas de almidón con más de 2% de glicerol presentaron apariencia grasosa, mayor adhesividad y dificultad para su manipulación debido a la migración del plastificante.

Para todas las formulaciones los valores más bajos de WVP se obtuvieron para las películas con 1.5% de glicerol. La Tabla 3.1 muestra los valores de WVP para las películas sin plastificar y con 1.5% de glicerol como así también el porcentaje de reducción de dichos valores, calculados respecto de las formulaciones sin plastificante. La menor reducción porcentual de WVP se observó para las películas de almidón de mandioca, este efecto podría atribuirse a que la elevada viscosidad de las suspensiones filmogénicas conduciría al desarrollo de matrices más cohesivas con buenas propiedades de barrera aún sin agregado de plastificante.

Tabla 3.1. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas de almidones nativos (maíz, ahípa y mandioca) y acetilado de maíz sin y con 1.5% p/p de glicerol. Reducción porcentual de la WVP.

<i>Almidón</i>	<i>WVP x 10¹⁰</i> <i>(g/seg m Pa)</i>		<i>Reducción de WVP</i> <i>(%)</i>
	<i>Sin plastificante</i>	<i>1.5% Glicerol</i>	
<i>Maíz nativo</i>	3.50±0.04	1.23±0.03	65
<i>Ahípa</i>	2.60±0.11	1.60±0.17	38
<i>Mandioca</i>	1.60±0.14	1.45±0.08	9
<i>Maíz acetilado</i>	1.33±0.02	0.16±0.01	88

Como se observó en la Figura 3.7 los perfiles mecánicos de las películas sin plastificar correspondieron a materiales frágiles (Mali y col., 2005 y 2002; Sarantópoulos y col., 2002). Cuando se agregó plastificante, el comportamiento mecánico de las películas dependió de la concentración de glicerol en la formulación, este efecto se ejemplifica en la Figura 3.9 para películas de almidón de maíz nativo y acetilado.

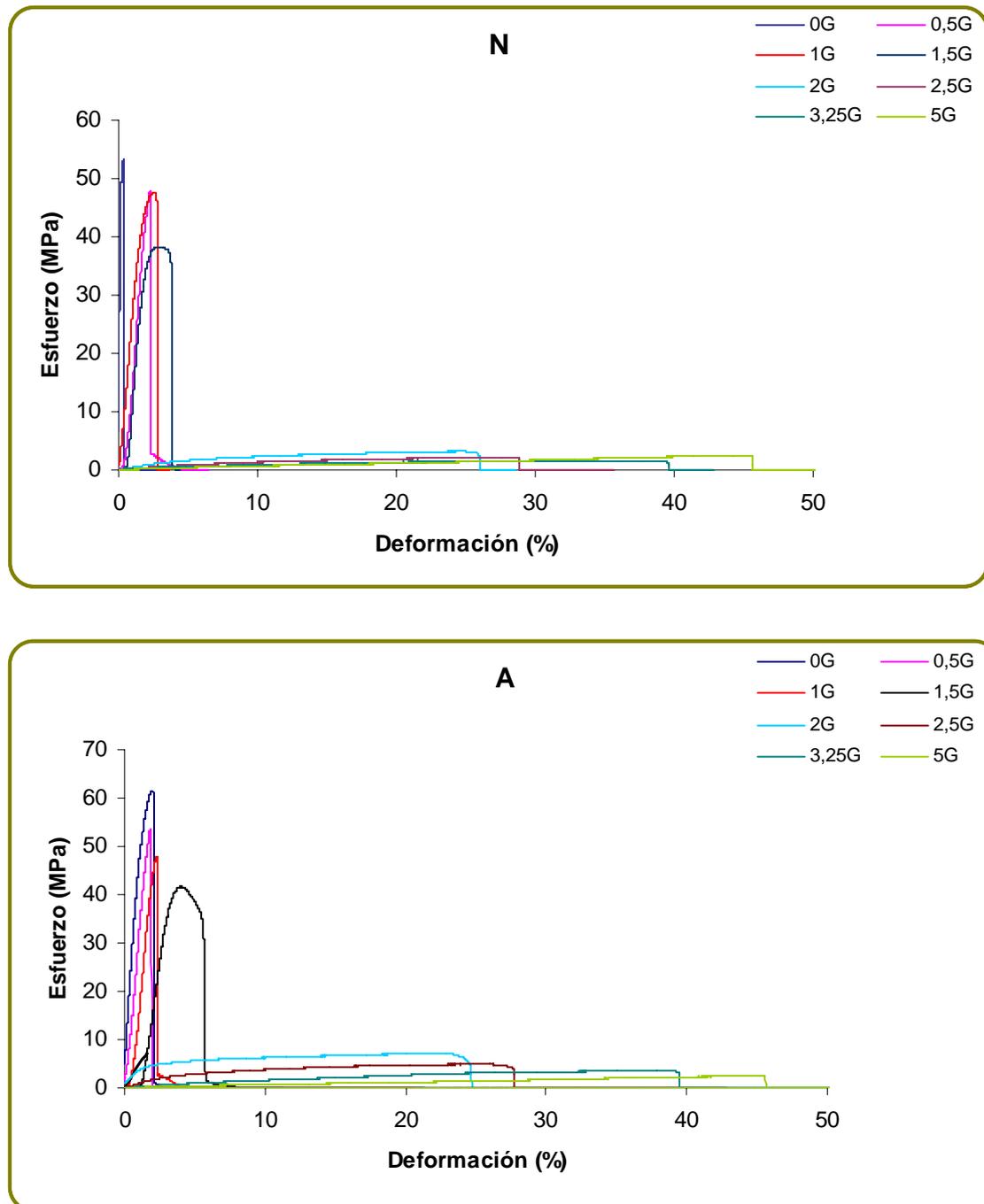


Figura 3.9. Perfiles mecánicos de películas de almidón de maíz nativo (N) y acetilado (A) plastificadas con diferentes concentraciones de glicerol (0-5% p/p).

Las películas que contienen 0.5 y 1% de glicerol exhibieron valores más bajos de esfuerzo de tensión que las películas sin plastificar, pero su deformación no se incrementó significativamente ($p > 0.05$), (Figura 3.9 y 3.10). El comportamiento mecánico de las películas plastificadas con 1.5% de glicerol podría asociarse al de los materiales dúctiles ya que el esfuerzo disminuyó y la elongación a la ruptura aumentó significativamente ($p < 0.05$) comparada con las películas sin plastificar. Resultados

similares fueron obtenidos por Bonacucina y colaboradores (2006) trabajando con almidón acetilado pregelatinizado. El plastificante interfiere en la asociación de las cadenas poliméricas facilitando su deslizamiento y mejorando la flexibilidad de las películas. Además, el glicerol disminuye la rigidez de la red produciendo una estructura menos ordenada e incrementa la capacidad de movimiento de las cadenas (Sothornvit y Krochta, 2005). Asimismo, Arvanitoyannis y colaboradores (1998) reportaron que el sorbitol y la sacarosa, en bajas concentraciones, mostraron un efecto plastificante similar al del glicerol en películas de gelatina y almidón soluble.

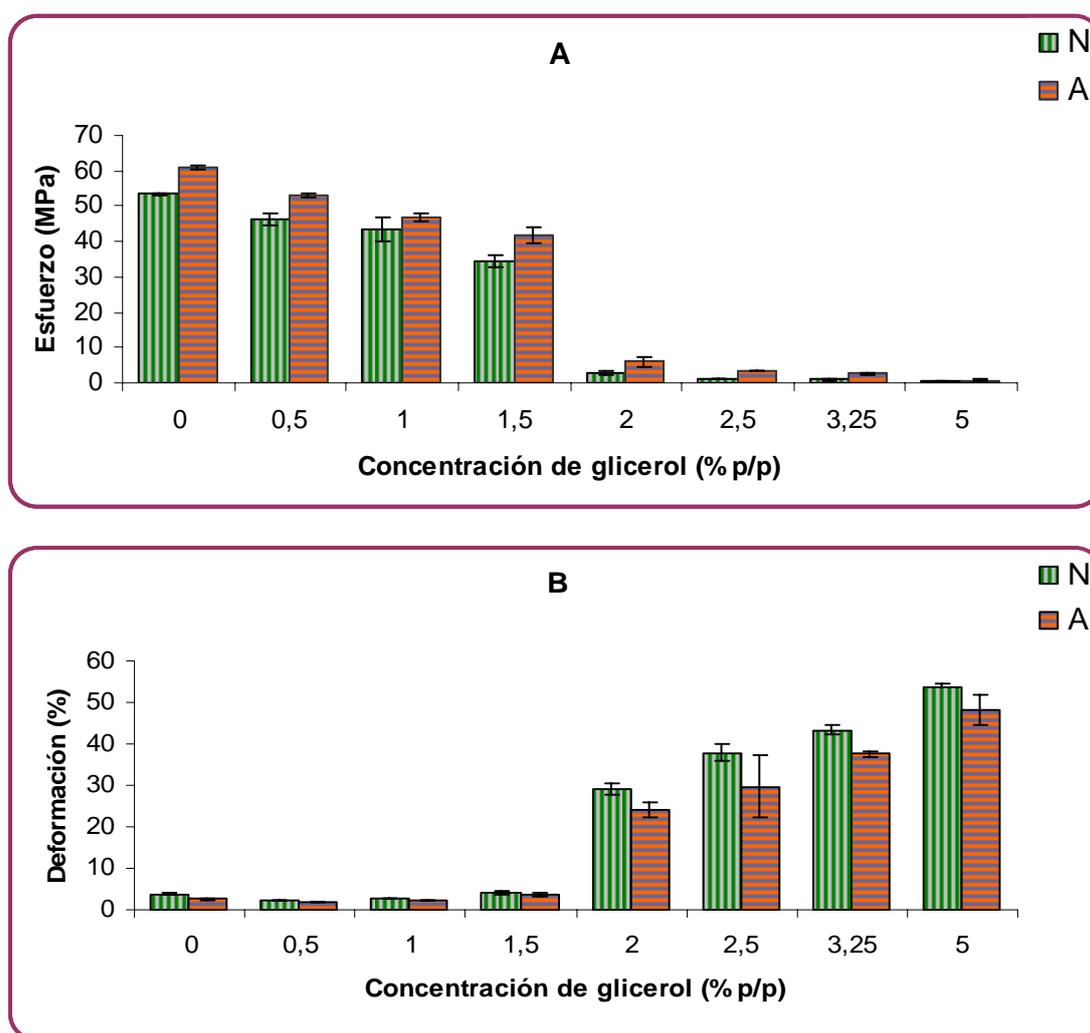


Figura 3.10. Influencia de la concentración de glicerol (0-5% p/p) sobre las propiedades mecánicas de películas de almidón de maíz nativo (N) y acetilado (A): **A)** esfuerzo máximo de tensión y **B)** deformación a la ruptura.

Concentraciones mayores al 1.5% de glicerol modificaron drásticamente el comportamiento de las películas mostrando patrones mecánicos típicos de materiales

muy flexibles (Figura 3.9 y 3.10). Para estas matrices los valores de esfuerzo de tensión decrecieron mientras que las elongaciones a la ruptura aumentaron significativamente ($p < 0.01$). Por otra parte, las formulaciones con alto contenido de glicerol presentaron migración del plastificante durante su almacenamiento.

El incremento del esfuerzo de tensión y la disminución de la elongación no resultaron lineales con respecto a la concentración de glicerol, tendencias similares fueron informadas por varios autores para películas a base de diferentes almidones (Myllarinen y col., 2002; Chang y col., 2000; Gaudin y col., 1999; Lourdin y col., 1997).

Quedó demostrado que los tres almidones nativos y el de maíz acetilado son capaces de formar películas con buenas propiedades de barrera al vapor de agua y buena flexibilidad si se plastifican con 1.5g de glicerol/100 g de suspensión filmogénica.

Con respecto a los almidones nativos, la opción más viable para la formulación de películas resulta ser el empleo de almidón de maíz, en relación al costo y disponibilidad. Por otra parte, si bien las películas a base de almidón acetilado con 1.5% de glicerol presentaron una WVP 87% menor y una flexibilidad comparable a las de las películas de almidón de maíz nativo, el elevado costo de este almidón modificado podría limitar su aplicación. Así, en este Trabajo de Tesis se propuso como alternativa la formulación de películas a partir de mezclas de almidón de maíz nativo y acetilado.

2. Películas a base de mezclas de almidón de maíz nativo y acetilado

Como se describió previamente se prepararon suspensiones acuosas al 5% de mezclas de almidón de maíz nativo (N) y acetilado (A) cuyas proporciones fueron las siguientes: a) 1.25% N + 3.75% A; b) 2.5% N + 2.5% A y c) 3.75% N + 1.25% A.

2.1 Caracterización reológica de las suspensiones filmogénicas

La Figura 3.11 corresponde a las curvas de flujo, obtenidas a través de ensayos reológicos rotacionales, de las suspensiones gelatinizadas de las mezclas de almidón de maíz nativo y acetilado. Todas las formulaciones presentaron comportamiento pseudoplástico ($n < 1$) que fue ajustado satisfactoriamente según el modelo de Ostwald de Waele. Como era de esperar, la viscosidad aparente medida a 500 s^{-1} de las suspensiones aumentó significativamente ($p < 0.05$) con la proporción de almidón acetilado en la mezcla (Tabla 3.2).

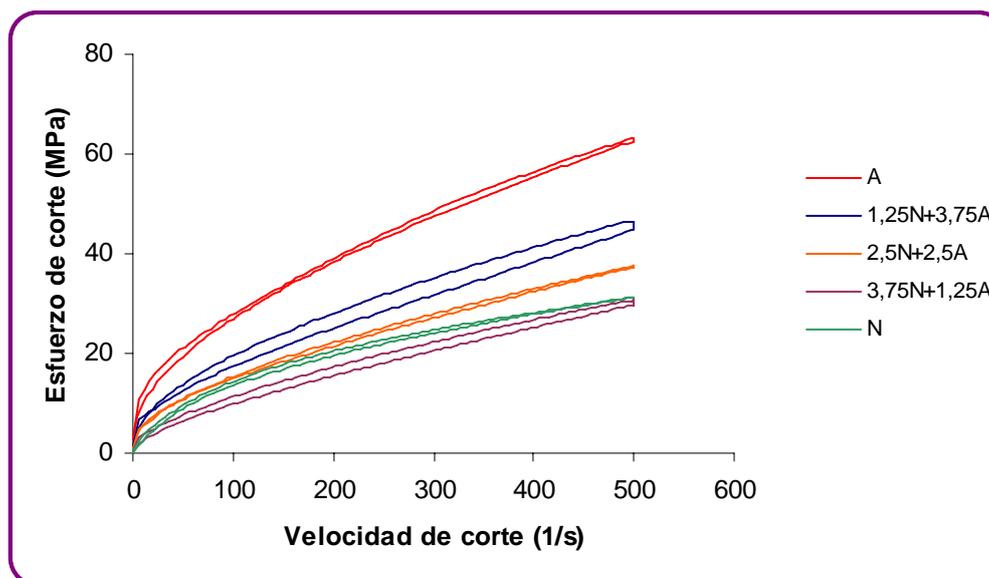


Figura 3.11. Curvas de comportamiento de flujo de suspensiones gelatinizadas al 5% p/p de almidones de maíz nativo (N), acetilado (A) y mezclas de ambos.

Tabla 3.2. Viscosidad aparente medidas a 500 s^{-1} de suspensiones gelatinizadas al 5% p/p de almidones de maíz nativo (N), acetilado (A) y mezclas de ambos.

<i>Suspensiones</i>	<i>A</i>	<i>1.25N+3.75A</i>	<i>2.5N+2.5A</i>	<i>3.75N+1.25A</i>	<i>N</i>
<i>Viscosidad aparente a 500 s^{-1} (mPa s)</i>	125.78±0.04	83.53±8.17	66.89±2.59	43.97±4.48	59.96±2.44

2.2 Capacidad formadora de películas de las suspensiones filmogénicas

Todas las mezclas ensayadas fueron capaces de formar películas, las mismas se pudieron remover fácilmente de los moldes y presentaron buena apariencia e integridad.

2.3 Optimización de la formulación

Como era de esperar, las películas sin plastificar resultaron también rígidas y frágiles, por lo que se decidió incorporar glicerol para mejorar la flexibilidad de las mismas. Se realizó el mismo barrido de concentración de plastificante y para seleccionar la concentración óptima del mismo se analizaron los valores de WVP y las propiedades mecánicas de las películas obtenidas.

La Figura 3.12 muestra que la tendencia observada para la WVP resultó similar a la obtenida para las películas formuladas únicamente con almidón nativo o acetilado. Una concentración de glicerol menor o igual a 1.5% disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el valor de WVP, mientras que concentraciones mayores produjeron un incremento significativo ($p < 0.05$) debido al carácter hidrofílico del plastificante. También se

observó la apariencia grasosa y la dificultad para manipular las películas plastificadas con más de 2% de glicerol.

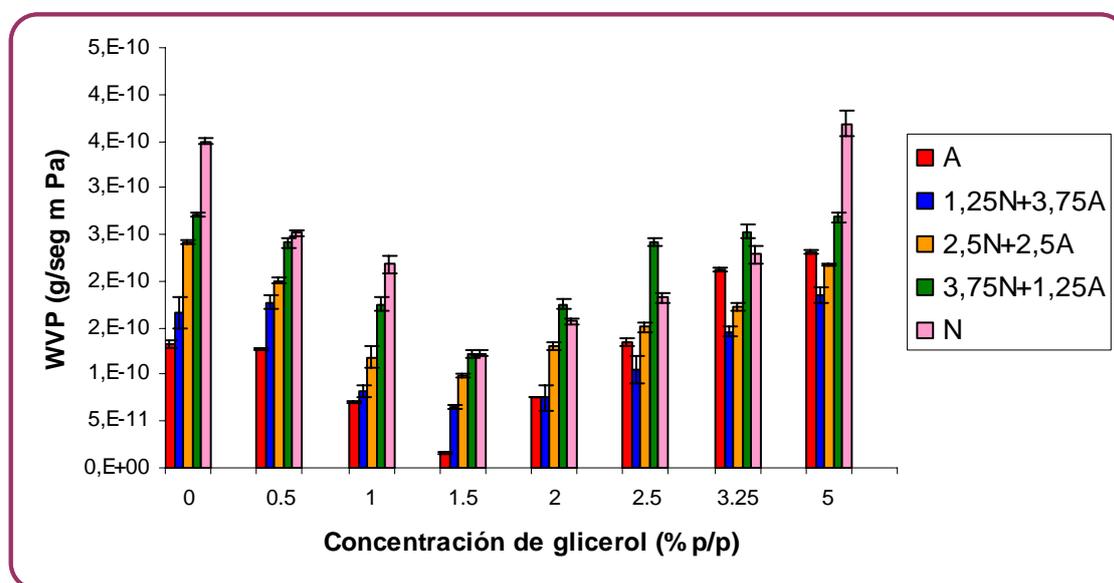


Figura 3.12. Efecto de la concentración de glicerol sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas almidón de maíz nativo(N), acetilado (A) y mezclas de ambos.

En general, debido al carácter hidrofóbico del grupo sustituyente en el almidón químicamente modificado, la WVP de las películas disminuyó a medida que aumentó el porcentaje del almidón acetilado en la mezcla. La Figura 3.12 muestra que los valores más bajos de WVP se obtuvieron con el agregado de 1.5% de glicerol, para todas las mezclas ensayadas.

En la Tabla 3.3 se presentan los valores de WVP de las películas sin plastificar y con 1.5% de glicerol así como también la reducción porcentual de las mismas.

Tabla 3.3. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas de almidones de maíz nativo, acetilado y mezclas de ambos, sin y con 1.5% p/p de glicerol. Reducción porcentual de la WVP.

<i>Almidón de maíz:</i> <i>Nativo+acetilado</i> (% p/p)	<i>WVP x 10¹⁰</i> (g/seg m Pa)		<i>Reducción de WVP</i> (%)
	<i>Sin plastificante</i>	<i>1.5% Glicerol</i>	
<i>Acetilado</i>	1.33±0.02	0.16±0.01	88
<i>1.25+3.75</i>	1.67±0.16	0.65±0.02	61
<i>2.5+2.5</i>	2.42±0.03	0.99±0.03	59
<i>3.75+1.25</i>	2.71±0.01	1.22±0.04	55
<i>Nativo</i>	3.50±0.04	1.23±0.03	65

Puede observarse que en las formulaciones correspondientes a las mezclas, al aumentar el contenido de almidón acetilado aumentó la reducción en la WVP.

La influencia de la concentración de plastificante sobre el comportamiento mecánico de las películas mezcla resultó similar a la observada para las películas de almidón nativo o acetilado. A modo de ejemplo, la Figura 3.13 muestra los perfiles mecánicos de las películas obtenidas a partir de una mezcla en iguales proporciones de almidón de maíz nativo y acetilado plastificadas con diferentes concentraciones de glicerol. Así, las películas con 0 y 1% de glicerol resultaron rígidas y frágiles, con 1.5% dúctiles, mientras que con concentraciones mayores fueron muy flexibles (Figura 3.13). Esta misma tendencia se evidencia en la Figura 3.14 correspondiente a la influencia del plastificante sobre el esfuerzo máximo (Figura 3.14.A) y la elongación a la ruptura (Figura 3.14.B).

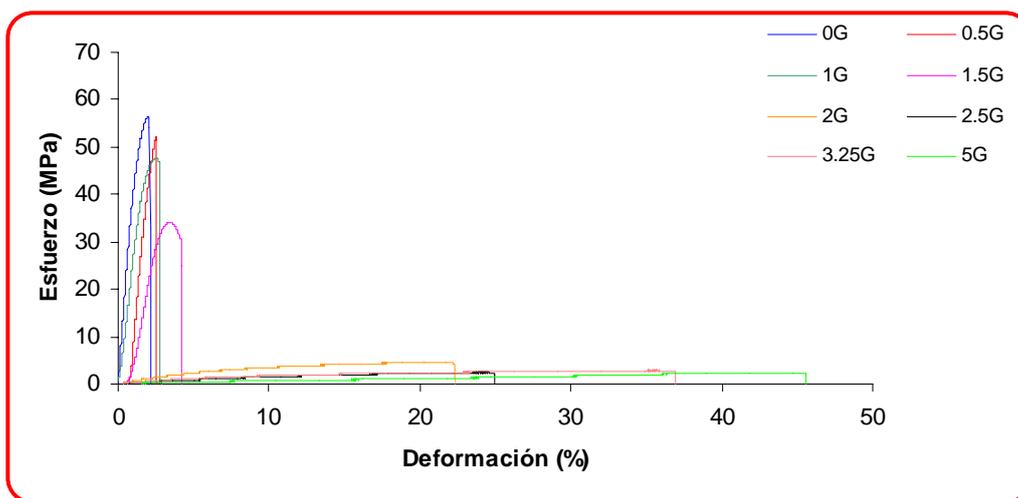


Figura 3.13. Perfiles mecánicos de películas de una mezcla en iguales proporciones de almidón de maíz nativo (N) y acetilado (A) plastificadas con diferentes concentraciones de glicerol (0-5% p/p).

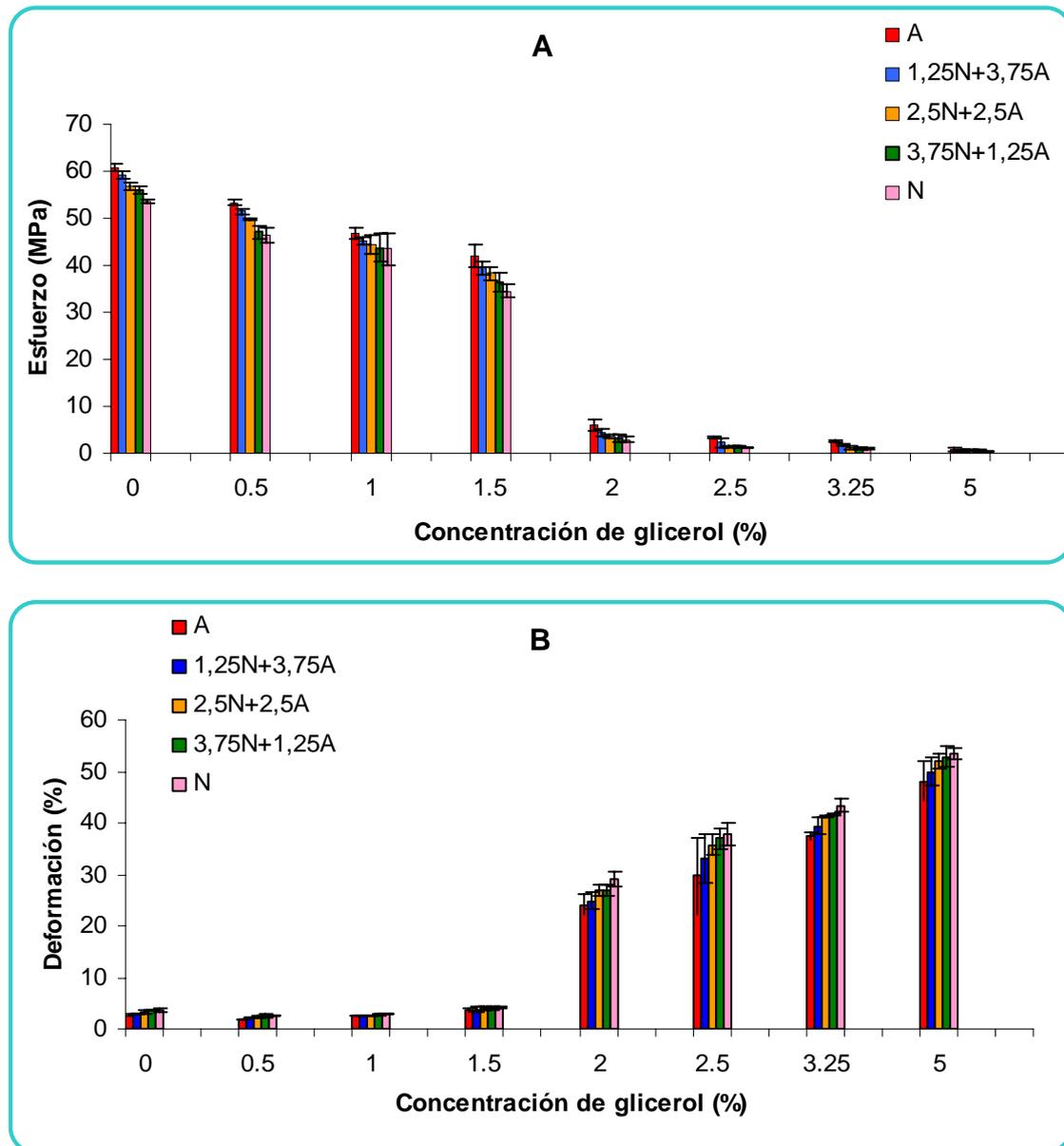


Figura 3.14. Influencia de la concentración de glicerol (0-5% p/p) sobre las propiedades mecánicas de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y mezclas de ambos: **A)** esfuerzo máximo de tensión y **B)** deformación a la ruptura.

La concentración óptima de plastificante para las formulaciones a base de las mezclas también resultó ser 1.5%, ya que aseguró bajos valores de WVP y buen desempeño mecánico. Para seleccionar la mezcla más adecuada se consideraron las propiedades de barrera al vapor de agua y el costo de las materias primas. Así, la mezcla en iguales proporciones de almidón de maíz nativo y acetilado, presentó mejor relación costo-beneficio.

Capítulo 4:
CARACTERIZACIÓN DE
PELÍCULAS DE ALMIDÓN
DE MAÍZ NATIVO Y
ACETILADO

INTRODUCCIÓN

La evaluación del comportamiento mecánico y de la permeabilidad al vapor de agua se considera una caracterización parcial de las películas ya que un estudio más profundo de la estructura, de las características fisicoquímicas y propiedades funcionales permitiría seleccionar los usos potenciales más adecuados de las mismas.

Generalmente, la caracterización fisicoquímica de un material polimérico incluye la determinación de su espesor ya que condiciona sus propiedades mecánicas y de barrera. Además, el estudio de las curvas de sorción de las películas, que describen la relación entre la actividad acuosa y su contenido de humedad de equilibrio, permite predecir los cambios en la estabilidad de estos materiales y seleccionar adecuadamente las condiciones de almacenamiento. Por otra parte, las propiedades ópticas del material y su solubilidad en diversas condiciones delimitan las aplicaciones de las películas desarrolladas.

La microestructura de la matriz determina las propiedades funcionales del material. Entre los aspectos a estudiar se incluyen el comportamiento amorfo-cristalino de un material, su grado de cristalinidad y la asignación, en caso de ser posible, de un patrón típico de difracción de rayos X, asociado a la estructura de la matriz. La espectroscopia infrarroja (IR) permite identificar los componentes de la matriz y en el caso de películas formuladas con más de un componente polimérico, estudiar la compatibilidad de éstos. Asimismo, resulta necesario evaluar la microestructura de los materiales desarrollados mediante microscopía electrónica de barrido con el fin de relacionar las características estructurales superficiales y de las secciones transversales fundamentalmente con las propiedades mecánicas y de barrera. Además, recientemente se ha incorporado la utilización de la microscopía de fuerza atómica para evaluar la topografía de las superficies de las películas desarrolladas.

Entre las propiedades funcionales podemos incluir el estudio de su comportamiento mediante análisis mecánico dinámico, sus propiedades de barrera al vapor de agua y mecánicas (descritas previamente en el Capítulo 3) y sus propiedades de barrera a gases. Además, la determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g) es de suma utilidad para predecir el comportamiento de los materiales ya que gobierna las propiedades mecánicas de los polímeros amorfos, controla la cinética de cristalización de estos materiales y los procesos difusivos que en ellos ocurren (Oxford y col., 1989; Biliaderis y col., 1986). Generalmente se determina por Calorimetría Diferencial de

Barrido (DSC), pudiéndose emplear la técnica de Análisis Mecánico Dinámico (DMA) para determinar las temperaturas de relajación asociadas a la transición vítrea. Además esta técnica permite estudiar los cambios producidos en la microestructura de las películas y sus propiedades viscoelásticas (Chen y col., 2007; Thomazine, 2005; Lourdin y col., 1997).

Con respecto a la permeabilidad a los gases, las películas desarrolladas a partir de materiales hidrofílicos, como proteínas y polisacáridos, generalmente tienen buenas propiedades de barrera al O₂, particularmente en condiciones de baja humedad relativa (Tabla 4.1). En tales condiciones su permeabilidad es tan baja como la del polietileno o policloruro de vinilo (PVC) sin plastificar (Tabla 4.1).

Tabla 4.1. Permeabilidad a CO₂ y O₂ de películas biodegradables y sintéticas

Tipo de film	Permeabilidad al O ₂ × 10 ¹⁸ (mol /m seg Pa)	Permeabilidad al CO ₂ × 10 ¹⁸ (mol /m seg Pa)
LDPE	1003	4220
HDPE	285	972
PET	11.9	37.6
Poliamida 6	11.6	19.5
PVDC	1.86	7.65
PVC flexible	682	–
Polivinilalcohol	50.8	–
PET	24.3	–
Nylon 6	10.2	–
Celofán	8.27	–
EVOH	6.2	–
MC y PEG	522	29900
HPC y PEG	470	28900
HPC y PEG	–	28900
Zeína de maíz	34.8	95.0
Proteínas del gluten de trigo	8.92	119
Pectina	1340	21300
Gluten de trigo	1290	36700
Gluten de trigo	982	24500

LDPE = polietileno de baja densidad; HDPE = polietileno de alta densidad; PVC = policloruro de vinilo; PET = polietilentereftalato; PVDC = policloruro de vinileno; EVOH = etilvinilalcohol; MC = metilcelulosa; PEG = polietilenglicol; HPC = hidroxipropilcelulosa.

Las películas de gluten tienen permeabilidad al CO₂ 800 veces más baja que las películas de polietileno de baja densidad (LDPE) y 2 veces menor que Poliamida 6, un polímero conocido de alta barrera. En general, para las películas sintéticas y biodegradables la permeabilidad al CO₂ es mayor que al O₂ ya que si bien los coeficientes de difusión son similares para ambos, el coeficiente de solubilidad es mayor para el CO₂ (Tabla 4.1). Esta propiedad es muy útil en el desarrollo de envases para alimentos ya que la permeabilidad selectiva permite controlar el desarrollo microbiano y el intercambio gaseoso por respiración en el caso de productos vegetales.

De particular interés resulta el estudio de la biodegradabilidad de las películas desarrolladas, ya que si bien se asumen como materiales biodegradables, las investigaciones al respecto son aún incipientes. Los materiales biodegradables son aquellos capaces de ser degradados en ambientes naturales. Representan una nueva generación de materiales capaces de reducir significativamente el impacto ambiental en términos de consumo de energía y generación de residuos después de su utilización. Los materiales biodegradables se clasifican en función de su mecanismo de degradación:

- **Biodegradables:** son aquellos materiales capaces de descomponerse en dióxido de carbono, metano, agua, componentes inorgánicos o biomasa, mediante la acción enzimática de microorganismos, que puede ser medida por tests estandarizados en un período específico de tiempo, en condiciones normalizadas de depósito. Las velocidades de biodegradabilidad dependen enormemente del espesor y geometría de los artículos fabricados. Las velocidades altas de degradación se obtienen para films de bajo espesor, mientras que los artículos más gruesos: platos, bandejas, etc. pueden necesitar tiempos elevados para degradarse biológicamente.

- **Compostables:** son aquellos que pueden ser biodegradados y desintegrados en un sistema de compostaje, el que debe cumplir determinados criterios de calidad tales como bajo contenido de metales pesados, ecotoxicidad y la no-generación de residuos visibles.

- **Hidrobiodegradables/Fotobiodegradables:** son aquellos polímeros degradados por un proceso de dos etapas, que supone una etapa inicial de hidrólisis o fotodegradación, respectivamente, seguida por una segunda etapa que involucra una biodegradación.

- **Bioaerodegradables:** son aquellos polímeros capaces de ser degradados sin necesidad de la acción de microorganismos, por lo menos inicialmente. Este proceso se conoce también como desintegración abiótica e incluye procesos parciales tales como disolución en agua y envejecimiento por luz o calor.

Los polímeros biodegradables se clasifican además en cuatro categorías principales basándose en su origen y producción:

- ***Polímeros directamente extraídos de fuentes naturales:*** son polímeros naturales, fácilmente disponibles, extraídos de animales o vegetales. Algunos ejemplos son los polisacáridos (almidón, celulosa, quitosano, etc.) y las proteínas (caseína, gluten, etc.).
- ***Polímeros producidos por síntesis química a partir de monómeros biológicos renovables:*** el mejor ejemplo es el ácido poliláctico (PLA), un biopoliéster obtenido a partir de monómeros de ácido láctico.
- ***Polímeros producidos por microorganismos o bacterias modificadas genéticamente:*** los principales polímeros de este grupo son los polihidroxicanoatos (PHAs).
- ***Polímeros sintéticos a partir de derivados del petróleo:*** el ejemplo más claro es la policaprolactona.
- ***Otros polímeros degradables:*** plásticos fotobiodegradables, PVOH (polivinil alcohol), EVOH.

Finalmente, la capacidad de termosellado del material es limitante si la aplicación de los mismos estará destinada al desarrollo de envases, determinando la integridad del mismo. El termosellado es un proceso donde dos estructuras que contienen al menos una capa termoplástica en la interfase son unidas por la acción combinada de calor y presión (Sarantópoulos y col., 2002). La calidad del termosellado depende de las condiciones de procesamiento tales como temperatura, tiempo y presión como así también los tratamientos previos que haya recibido la película. Se conocen numerosas técnicas de sellado tales como barra, banda, impulso, de alambre o cuchillo, ultrasónico, de fricción, gas, contacto, termo-fusión, neumático, dieléctrico, magnético, inducción, radiante o solvente (Brody y Marsh, 1997). La selección del tipo de termosellado depende principalmente de la estructura polimérica de la película, del envase y del producto. Independientemente del tipo de termosellado utilizado el mismo debe asegurar la resistencia mecánica, mantener las propiedades de barrera y prevenir la entrada de microorganismos. La fuerza del sellado es una medida cuantitativa utilizada en el proceso de validación y control y depende del espesor de la película. Además, el conocimiento del modo de falla del material termosellado condiciona el desempeño del envase e indica cómo dos superficies selladas son separadas durante los ensayos de resistencia a la tracción. La norma ASTM F 88-00 (2001) describe diferentes modos de falla: adhesiva, cohesiva, ruptura cerca o lejos del cierre, estiramiento y adhesiva + estiramiento.

OBJETIVOS

Los **objetivos** planteados para este capítulo son los siguientes:

- Caracterizar las películas formuladas a partir de almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones sin plastificar y con agregado de 1.5% p/p de glicerol como plastificante.
- Estudiar la influencia de la composición de las películas sobre las propiedades fisicoquímicas, microestructurales y de barrera de las mismas.
- Evaluar la biodegradabilidad de los materiales obtenidos.
- Analizar la capacidad de termosellado de las películas y la resistencia de los cierres.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Formulación de las películas

Se prepararon suspensiones acuosas al 5% p/p de almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones. Estas suspensiones se gelatinizaron a 90 °C durante 20 minutos. Se prepararon suspensiones sin glicerol y con el agregado de 1.5% p/p de glicerol una vez finalizada la gelatinización de las mismas.

2. Obtención de las películas

Se obtuvieron por el método de moldeo; la cantidad de suspensión filmogénica moldeada y las condiciones de secado de las películas corresponden a lo descrito en el Capítulo 3.

3. Caracterización de las películas

3.1 Espesor

Determinado según el método descrito en el Capítulo 3.

3.2 Solubilidad

Se determinaron las solubilidades de las películas bajo tres condiciones diferentes: en agua deionizada a 25 y 100 °C y en solución de HCl 0.1 M a 37 °C. Esta última condición simula las condiciones de digestión gástrica, ya que las películas de almidón además de ser biodegradables son comestibles.

Muestras de películas de 2 x 3 cm fueron almacenadas en un desecador con sílica gel durante 7 días. Las muestras se pesaron (peso seco inicial) y se colocaron en vasos de precipitados que contenían 80 mL de agua deionizada o de solución de HCl 0.1 M. Las muestras fueron mantenidas con agitación constante a 200 rpm durante 1 hora a la temperatura correspondiente (25 y 100 °C). Luego, fueron recuperadas por filtración y secadas en una estufa a 60 °C hasta peso constante (peso seco final). El porcentaje total de materia soluble (% de solubilidad) fue calculado de la siguiente manera:

$$\text{Solubilidad (\%)} = \left[\frac{(\text{Peso seco inicial} - \text{Peso seco final})}{\text{Peso seco inicial}} \right] \times 100 \quad [4.1]$$

Para cada condición, todas las muestras se analizaron al menos por duplicado.

3.3 Humedad

Se determinó midiendo la pérdida de peso de las películas luego de ser secadas en una estufa a 105 °C hasta peso constante. Las muestras se analizaron al menos por duplicado y los resultados fueron expresados en porcentaje (%).

3.4 Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción describen gráficamente la cantidad de agua absorbida en función de la humedad relativa de la atmósfera circundante al material o actividad acuosa, luego de que el equilibrio ha sido alcanzado a temperatura constante. La actividad acuosa y la humedad relativa son definidas por la ecuación:

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \frac{\text{HR (\%)}}{100} \quad [4.2]$$

donde: P y P₀ son las presiones de vapor de agua del material y del agua pura a la temperatura del sistema (T₀), respectivamente.

La isoterma puede ser obtenida en dos direcciones:

- Isoterma de sorción: se obtiene al colocar el material previamente seco en varias atmósferas de humedad relativa creciente y midiendo el peso ganado debido al agua incorporada.

- Isoterma de desorción: se obtiene al colocar el material húmedo bajo las mismas humedades relativas, pero en este caso midiendo la pérdida en peso.

Debido al fenómeno de histéresis ambas isotermas no coinciden, encontrándose la de desorción por encima de la de sorción (Spiess y Wolf, 1983).

Las isotermas de sorción se determinan principalmente a través de dos métodos de medición: el gravimétrico y el basado en la determinación de la actividad acuosa o presión de vapor de agua. El método gravimétrico estático es el más utilizado y ha sido estandarizado por “European Cooperative Project Cost 90” (Spiess y Wolf, 1983), siendo éste el utilizado en el presente trabajo de Tesis.

Tabla 4.2. Actividades de agua (a_w) de soluciones saturadas de diferentes sales.

<i>Solución saturada de:</i>	<i>Actividad acuosa (20 °C)</i>
<i>Cloruro de Litio</i>	0.113
<i>Cloruro de Magnesio</i>	0.330
<i>Carbonato de Potasio</i>	0.432
<i>Nitrato de Magnesio</i>	0.529
<i>Cloruro de Cobalto</i>	0.645
<i>Cloruro de Sodio</i>	0.753
<i>Cloruro de Potasio</i>	0.843
<i>Cloruro de Bario</i>	0.902
<i>Sulfato de Potasio</i>	0.970

Muestras de películas de 20 x 20 mm fueron acondicionadas en un desecador con CaCl_2 anhidro durante 3 semanas. Luego las muestras se colocaron en recipientes que contenían soluciones saturadas de diferentes sales cuyas actividades acuosas variaron entre 0.11 y 0.97 (Tabla 4.2) y se almacenaron a 20 °C hasta que alcanzaron el equilibrio. La humedad final de las muestras se determinó por el método gravimétrico

secando en estufa a 105 °C hasta peso constante. Las isotermas de sorción de las películas de almidón en estudio se determinaron por duplicado.

Los datos experimentales obtenidos se modelaron matemáticamente con los modelos de isotermas de sorción presentados en la Tabla 4.3, utilizando el módulo de regresión no lineal del programa Systat 10.0 (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, USA). En el caso del modelo de BET sólo se regresionaron los valores para $a_w < 0.5$. Se estimaron los valores de los parámetros correspondientes a cada modelo y la bondad de ajuste de los mismos a través del coeficiente de correlación (r^2).

Tabla 4.3. Modelos matemáticos de isotermas de sorción utilizados en este trabajo

Nombre del modelo	Ecuación matemática
BET	$X = \frac{X_m C_B a_w}{(1 - a_w)(1 - a_w + C_B a_w)}$
GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer)	$X = \frac{X_m K C_G a_w}{(1 - K a_w)(1 - K a_w + C_G K a_w)}$
Halsey	$a_w = \exp\left(-\frac{A}{X^B}\right)$
Peleg	$X = k_1 a_w^{n_1} + k_2 a_w^{n_2}$
Oswin	$X = A \times \left(\frac{a_w}{1 - a_w}\right)^B$
Henderson	$(1 - a_w) = \exp(A \times X^B)$
Chirife	$X = \exp(A + B \times \ln(C - \ln a_w))$
Smith	$X = A + (B \times \log(1 - a_w))$

X, contenido de humedad de equilibrio (g agua/g sólido seco); a_w , actividad acuosa, X_m , contenido de humedad de equilibrio de la monocapa (g agua/g sólido seco); A, B, C, K, k_1 , k_2 , n_1 y n_2 son parámetros de ajuste de las ecuaciones.

De los modelos matemáticos propuestos, el de BET y el de GAB son los más utilizados en ciencia de los alimentos ya que incluyen parámetros con significado físico cuya dependencia con la temperatura puede establecerse fácilmente; permiten estimar el contenido de humedad de monocapa (X_m), valor relacionado con el período de vida útil de almacenamiento de alimentos deshidratados. La teoría BET asume un número fijo e idéntico de sitios activos de sorción en el material en los cuales se absorben las moléculas de agua, sin considerar interacciones laterales entre moléculas vecinas.

También se asume que las moléculas de agua que conforman la segunda y posteriores capas se comportan como un líquido puro. La ecuación de BET (Brunauer y col., 1938) sólo describe adecuadamente los datos experimentales por debajo de $a_w = 0.5$ (Van der Berg, 1985). En este sentido, el modelo de GAB es más amplio ya que es aplicable a la mayoría de los alimentos en el intervalo de a_w de interés práctico, esto es de 0.10 a 0.90 (Wolf y col., 1985).

3.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La homogeneidad y apariencia de las películas se evaluó a partir del análisis visual de las mismas y por SEM con un microscopio electrónico JEOL JSM 6360 (Japón), utilizando un voltaje de aceleración de 10 kV. Para las observaciones de secciones transversales las películas fueron criofracturadas por inmersión en nitrógeno líquido. Las muestras se montaron en tacos de bronce con una cinta bifaz y se recubrieron con una capa de oro (40-50 nm), permitiendo así la visualización de las superficies y de las secciones transversales. Además, las observaciones SEM también permitieron evaluar el espesor de las películas.

3.6 Microscopía de fuerza atómica (AFM)

Esta técnica se basa en el escaneo de la superficie de una muestra con una punta muy aguda (púa), de un par de micrones de largo y menos de 100 Å de diámetro. La púa se localiza al final del brazo del cantilever de 100 a 200 μm de largo. La fuerza entre la púa y la superficie de la muestra hace que el cantilever se doble o flexione. Un detector mide esta flexión, que ocurre conforme la púa barre la superficie, y con ello se obtiene un mapa topográfico de la misma. Varias son las fuerzas que contribuyen a la flexión del cantilever siendo las más comunes las del tipo de van der Waals. La Figura 4.1 corresponde a una representación esquemática del proceso de obtención de imágenes en el AFM. Un rayo láser es enfocado hacia el extremo final del cantilever (preferentemente sobre la púa), y es dirigido hacia el detector fotodiodo luego de ser reflejado por un espejo. Como la púa se mueve en respuesta a la topografía de la muestra durante el barrido, el ángulo del rayo láser reflejado cambia de acuerdo a la ley de Hooke, causando cambios en la intensidad del rayo reflejado en los diferentes cuadrantes del detector (Figura 4.1). La diferencia en la intensidad del láser produce una señal eléctrica que cuantifica el movimiento real de la púa. Cuando la muestra es escaneada, la topografía de su superficie causa deflexión en el cantilever como resultado

de los cambios en la fuerza entre la púa y la muestra y el mapa de la superficie topográfica se construye a partir de esta deflexión (Kirby y col., 1998).

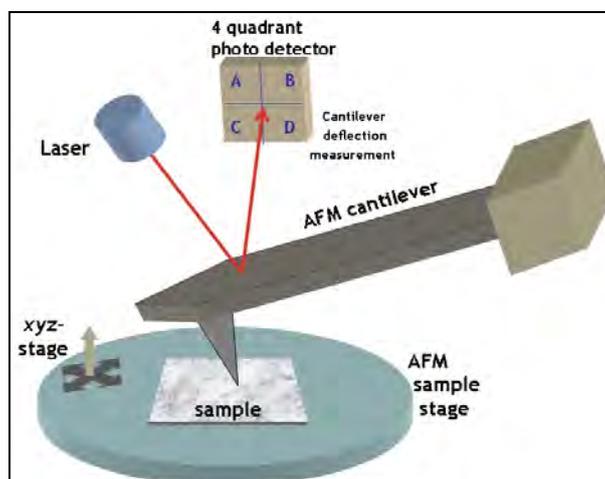


Figura 4.1. Esquema de obtención de imágenes en un microscopio de fuerza atómica (AFM)

Existen 3 modos de operación del AFM:

- Modo contacto: la punta se encuentra siempre apoyada sobre la superficie y la fuerza y la deflexión se mantienen constantes. El principal problema de este modo es que las muestras blandas y/o delicadas pueden dañarse.
- Modo de no contacto: la punta se encuentra siempre a la misma distancia de la superficie y se mantiene constante la frecuencia de resonancia.
- Modo de repiqueteo (tapping mode): la punta golpea intermitentemente la superficie y se mantiene constante la amplitud.

En el presente trabajo se utilizó un microscopio de fuerza atómica multimodo Nanoscope V (Veeco Instruments) perteneciente al Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA). Las muestras se montaron sobre tacos de acero inoxidable con una cinta adhesiva bifaz. Se obtuvieron imágenes en el modo contacto utilizando una púa de nitruro de silicio modelo NP20 (Veeco Instrument Inc., NY, USA). Se tomaron imágenes de la superficie superior de cada muestra en diferentes puntos para obtener datos confiables y reproducibles. Las imágenes topográficas en 2D y en 3D se procesaron y analizaron mediante el software NanoScope (Veeco Instrument Inc., NY, USA). Cuando se realiza el análisis de la rugosidad de una imagen, los parámetros estadísticos se calculan de acuerdo a la altura relativa de cada píxel en la imagen, previa corrección de la inclinación de las imágenes.

Los parámetros estadísticos que se analizaron para evaluar la rugosidad de las muestras fueron los siguientes:

Área de la superficie (μm^2): corresponde al área tridimensional de la imagen y se calcula como la suma de las áreas de todos los triángulos formados por tres puntos adyacentes.

Rugosidad promedio (nm): corresponde a la media aritmética de los valores absolutos de las alturas medidas a partir de un plano de referencia.

RMS (nm): corresponde a la desviación estándar de las alturas, teniendo en cuenta toda la imagen.

3.7 Espectroscopía de difracción de rayos X

Se utilizó un difractómetro X'Pert Pro Analytical Model PW 3040/60 (Almelo, Holanda). Las condiciones de medida fueron las mismas que las descritas en la sección en el Capítulo 2 para los almidones en polvo. En este caso, los ensayos de difracción de rayos X se realizaron para evaluar la cristalinidad de las películas y su evolución en función del tiempo de almacenamiento de las mismas a 20 °C y 65% HR.

3.8 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica se fundamenta en la absorción de la radiación IR por las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para que se produzca una transición vibracional de la molécula, es decir, la molécula comienza a vibrar de una determinada manera debido a la energía que se le suministra. Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de tensión y de flexión (Figura 4.2). Las vibraciones de tensión involucran cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos, mientras que las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces.

Cada molécula presenta un espectro IR característico (huella dactilar), debido a que todas las moléculas tienen algunas vibraciones que, al activarse, provocan la absorción de una determinada longitud de onda en la zona del espectro electromagnético correspondiente al infrarrojo. De esta forma, analizando cuales son las longitudes de onda que absorbe una sustancia en esta zona del espectro, podemos obtener información acerca de las moléculas que componen dicha sustancia.

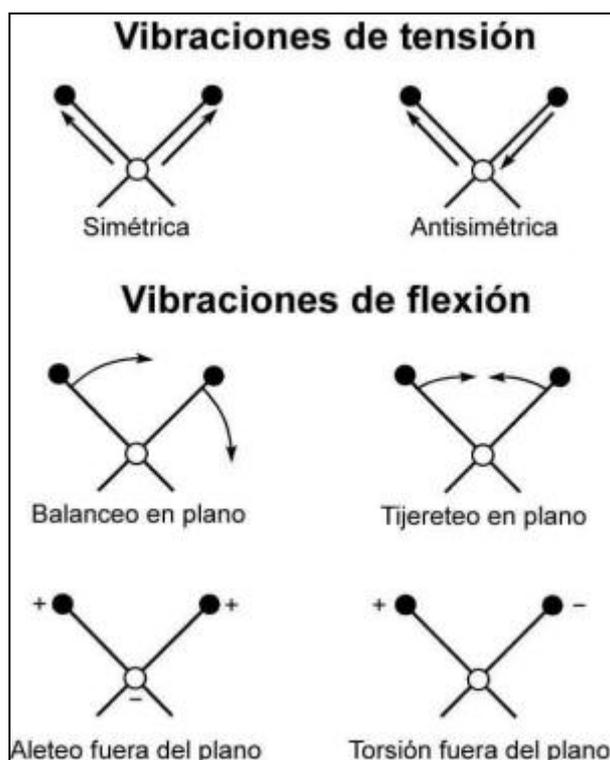


Figura 4.2. Clasificación de las vibraciones moleculares

Para obtener el espectro IR, un rayo de luz infrarroja atraviesa la muestra, y se registra la cantidad de energía absorbida en cada número de onda (que corresponde a la inversa de la longitud de onda y se expresa en cm^{-1}). Esto puede lograrse escaneando el espectro con un rayo monocromático, el cual cambia de longitud de onda a través del tiempo, o usando una transformada de Fourier para medir todas las longitudes de onda a la vez. A partir de esto, se puede trazar un espectro de transmitancia o absorbancia que indica a cuáles longitudes de onda la muestra absorbe, lo que permite una interpretación de qué enlaces están presentes. Esta técnica funciona exclusivamente con enlaces covalentes, y como tal es de gran utilidad en química orgánica. Espectros nítidos se obtienen en muestras con pocos enlaces activos al IR y altos niveles de pureza. Estructuras moleculares más complejas llevan a más bandas de absorción y a un espectro más complejo, sin embargo esta técnica se ha podido utilizar para la caracterización de sustancias estructuralmente muy complejas y en el estudio de la compatibilidad de mezclas poliméricas.

En la zona del espectro electromagnético correspondiente al infrarrojo medio (con números de onda entre 4000 y 1300 cm^{-1}) se suelen observar una serie de bandas de absorción provocadas por las vibraciones entre dos átomos de la molécula únicamente. Estas vibraciones derivan de grupos que contienen hidrógeno o de grupos con dobles o

triples enlaces aislados. En la zona del infrarrojo lejano (entre 1300 y 400 cm^{-1}), la asignación de las bandas de absorción a vibraciones moleculares es más difícil de realizar, debido a que cada una de ellas está generada por absorciones individuales sumadas (multiplicidad de las bandas). Esta última zona es la denominada huella dactilar (flexión de enlaces CH, CO, CN, CC, etc), en esta región espectral, pequeñas diferencias en la estructura y constitución de las moléculas dan lugar a variaciones importantes en los máximos de absorción. La Figura 4.3 muestra a modo de ejemplo las zonas características mencionadas y la asignación de bandas asociada.

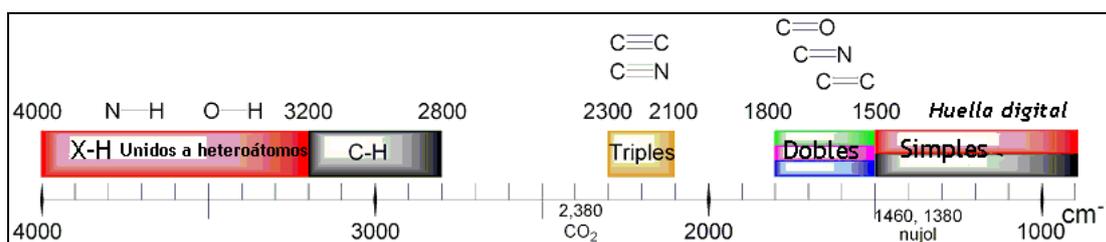


Figura 4.3. Asignación de las bandas observadas de un espectro IR a las vibraciones moleculares

Los espectros IR con transformada de Fourier de las películas desarrolladas en el presente trabajo fueron obtenidos con un espectrofotómetro IR (Vertex 50, Bruker, Alemania) perteneciente al Centro de Investigación y Desarrollo de Ciencias Aplicadas (CINDECA), trabajando dentro de un rango de números de onda desde 4000 hasta 400 cm^{-1} . Para cada muestra se colectaron 60 barridos con una resolución de 4 cm^{-1} que fueron acumulados. Para generar el espectro promedio correspondiente a cada muestra los datos obtenidos se procesaron utilizando el software OPUS (OPUS, Bruker Optics, USA).

Para la preparación de las muestras, las películas se trituraron con bromuro de potasio purificado, esta mezcla en polvo se comprimió formando una pastilla translúcida a través de la cual se hizo incidir la radiación IR. Además, se registraron los espectros de las películas sin procesar.

3.9 Análisis termo-mecánico

En el presente trabajo de Tesis, las temperaturas y las intensidades del fenómeno de relajación de las películas se determinaron por DMA, mientras que las temperaturas de transición vítreas por DSC.

La técnica de DMA permite estudiar las propiedades viscoelásticas de los materiales y presenta dos diferencias fundamentales con los ensayos mecánicos convencionales. Los

ensayos de tensión se focalizan en la componente elástica, siendo la componente viscosa, crítica en muchas aplicaciones del material, ya que por ejemplo determina su resistencia al impacto. En segundo lugar, los ensayos mecánicos convencionales trabajan fuera del rango de viscoelasticidad lineal, donde la muestra sufre modificaciones estructurales permanentes. En la técnica de DMA se miden las propiedades viscoelásticas, en la zona de viscoelasticidad lineal, utilizando ensayos transientes o dinámicos oscilatorios. Entre los ensayos transientes se incluyen los ensayos de creep y de relajación de esfuerzo. La modalidad más común son los ensayos dinámicos oscilatorios, donde un esfuerzo (o una deformación) sinusoidal se aplica al material y se mide la deformación (o el esfuerzo) sinusoidal resultante. También se mide el ángulo de desfasaje, δ , entre ambas ondas, siendo $\delta=0^\circ$ para materiales puramente elásticos y $\delta=90^\circ$ para materiales puramente viscosos. Los materiales viscoelásticos, como los polímeros, exhibirán valores intermedios para el ángulo de desfasaje.

Los ensayos de DMA se realizaron en un equipo dinámico-termomecánico Q800 (TA Instruments, New Castle, USA), usando una celda de tensión (Figura 4.4), con un accesorio de enfriamiento externo de N_2 líquido.



Figura 4.4. Celda de tensión utilizada en los ensayos de DMA.

Se utilizaron probetas rectangulares de películas de 30 x 6 mm, cuyo espesor se determinó como se describió previamente. Para seleccionar el rango de viscoelasticidad lineal se realizaron barridos de amplitud desde 1 a 20 μm a una frecuencia fija de 5 Hz. Luego se realizaron barridos multifrecuencia (1, 3, 5, 10 y 15 Hz), a una amplitud fija dentro del rango viscoelástico lineal, desde -100 hasta 100 $^\circ\text{C}$, a una velocidad de calentamiento de 2 $^\circ\text{C}/\text{min}$. Se registraron las curvas correspondientes a los módulos de almacenamiento (E') y de pérdida (E'') y a la tangente del ángulo de desfasaje, en

función de la temperatura y luego se analizaron usando el software Universal Analysis 2000.

E' está relacionado con la energía mecánica almacenada por ciclo y corresponde a la respuesta elástica del material cuando la muestra es sometida a deformación. E'' es la respuesta viscosa y está relacionado con la energía disipada como calor por ciclo cuando la muestra es deformada. El factor de pérdida está definido por la $\tan \delta = E''/E'$, siendo δ el ángulo entre los componentes en fase y fuera de fase de los módulos en los movimientos cíclicos (Chartoff, 1981). Las temperaturas de los procesos de relajación fueron determinadas a través del punto de inflexión de las curvas del módulo de almacenamiento E' como así también a través del pico máximo en las curvas del módulo de pérdida E'' y de $\tan \delta$.

Los análisis por DSC se llevaron a cabo en un calorímetro diferencial de barrido modelo Q100 controlado por el módulo TA 5000 (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA), con un accesorio de calentamiento-enfriamiento, bajo una atmósfera de N_2 , operando con un caudal de 20 ml/min. Aproximadamente 8 mg de muestra se pesaron en cápsulas de aluminio que fueron cerradas herméticamente; como referencia se utilizó una cápsula vacía. Los rangos de calentamiento fueron seleccionados de acuerdo a los resultados obtenidos de los ensayos en el DMA; para las películas sin plastificar varió desde 50 a 120 °C y para las películas con glicerol el rango fue desde -70 hasta 100 °C. En ambos casos la velocidad de los ensayos fue de 2 °C/min y se realizó un templado o “annealing” de la muestra a la temperatura inicial durante 30 min. Se realizaron dos corridas consecutivas: finalizada la primer corrida la muestra se enfrió nuevamente y se realizó una segunda corrida que fue registrada. Esta es una estrategia experimental ampliamente utilizada para la determinación de temperaturas de transición vítrea de películas a base de hidrocoloides (Rivero y col., 2010; Sobral y col., 2004). La temperatura de transición vítrea se definió como el punto de inflexión de la transición observada en los termogramas usando el software Universal Analysis V1.7F (TA Instruments, New Castle, USA).

Los ensayos de DSC con temperatura modulada (MTDSC) se llevaron a cabo en el mismo equipo que los ensayos convencionales de DSC descripto previamente, equipado con software que realiza la modulación de la temperatura. Las cápsulas, preparadas según el procedimiento descripto, fueron calentadas y enfriadas a una velocidad de 10 °C/min. Para la modulación de la señal, el período utilizado fue de 40s y la amplitud de 0.5 °C. Se obtuvieron las curvas correspondientes al flujo calórico y la capacidad

calorífica. La señal de energía de flujo se puede dividir en una componente reversible (relacionada con la capacidad calorífica) y una componente no reversible (asociada al ruido y la línea de base). Por lo tanto, el límite de detección de la temperatura de transición vítrea, medida a través de la capacidad calorífica (señal reversible), se incrementa sustancialmente (De Meuter y col., 1999).

Todas las medidas se realizaron al menos por triplicado.

3.10 Permeabilidad a los gases (O₂ y CO₂)

La permeabilidad al O₂ y al CO₂ se determinó sobre películas de 6 cm de diámetro, utilizando el método del incremento de la concentración en una celda especialmente diseñada. La celda, de acero inoxidable y forma cilíndrica, está dividida por la película a ensayar en dos compartimentos (Figura 4.5). El volumen de cada cámara es de 29.45 cm³ y el área de transferencia de 4.91 cm². Uno de los compartimentos tiene dos conexiones que permiten la entrada y salida de gases (a través del cual circula el gas a ensayar). Ambos compartimentos tienen un dispositivo que permite la toma de muestras gaseosas por medio de una jeringa. La celda tiene un sistema de cierre que evita la fuga de gases.

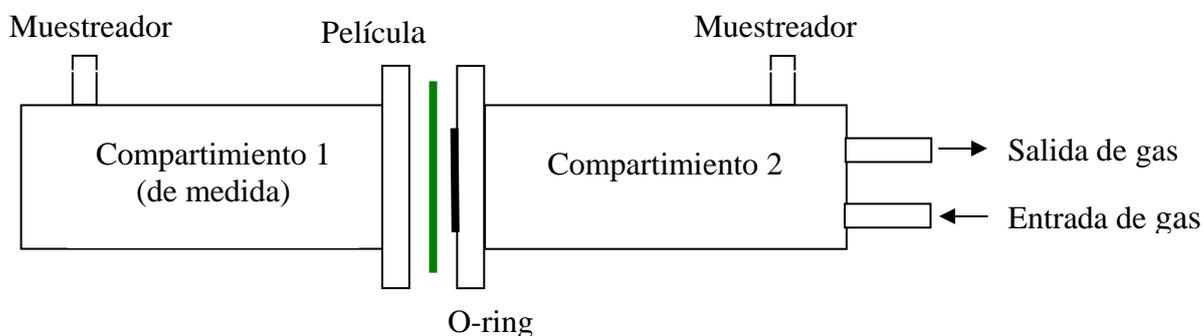


Figura 4.5. Esquema de la celda para la determinación de la permeabilidad a gases.

Durante los ensayos la película se colocó en la celda y ésta se cerró de forma estanca para evitar fugas. Una corriente del gas a ensayar se hizo circular a través del compartimiento 2 de la celda, manteniendo la presión a 1 atm durante toda la experiencia. La concentración del gas a ensayar en este compartimiento se monitoreaba regularmente para verificar que la misma fuera de 100% durante todo el ensayo. A intervalos regulares se extrajeron 1000µL de muestra del compartimiento de medida 1 con una jeringa para gases para determinar su composición mediante cromatografía gaseosa. La concentración de los gases se midió en un cromatógrafo Varian Star 3400

cx (USA) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna concéntrica empacada CTR I (Part N° 8700, Alltech, Alltech Associates, IL., USA) que permite la cuantificación simultánea de O₂, N₂ y CO₂, además de CO y CH₄ en condiciones ambientales. El cromatógrafo operó bajo las siguientes condiciones: temperatura de la columna 30 °C, temperatura del inyector y del detector 120 °C, flujo del gas portador (He) 60 ml/min. Los tiempos de retención fueron 5.5 min para CO₂ y 8 min para O₂. La concentración de gas se calculó a partir de las áreas correspondientes a los picos utilizando una curva de calibración previamente construida inyectando volúmenes crecientes del gas analizado. Las determinaciones se realizaron a una temperatura controlada de 20 °C.

El método del incremento de la concentración (isostático) está basado en la medición de la cantidad de gas que difunde a través de una muestra del material a ensayar bajo condiciones en las cuales la diferencia de presión total a través del material en estudio es cero y la diferencia de presión parcial es aproximadamente 1 atm.

La ecuación gobernante del proceso de permeabilidad de gases a través de una lámina plana es:

$$J^* = \frac{P(p_1 - p_2(t))}{\delta} \quad [4.3]$$

donde J^* es el flujo molar gaseoso (moles/cm² seg); P' es la permeabilidad del gas (moles/cm seg Pa); δ es el espesor de la película (cm), p_1 es la presión parcial del gas en el compartimento donde circula el gas a ensayar que se mantiene constante a lo largo del ensayo (Pa); $p_2(t)$ es la presión parcial del gas en el compartimento de medida que varía con el tiempo (Pa).

Si se considera el balance macroscópico de materia en el compartimento 2 resulta:

$$W = V \frac{dC}{dt} = J^* A = \frac{P'A(p_1 - p_2(t))}{\delta} \quad [4.4]$$

donde W es el caudal másico del gas (moles/seg); V es el volumen del compartimento de la celda (cm³); C es la concentración molar del gas (moles/cm³); t es el tiempo (seg) y A es el área de transferencia de la película (cm²). Reordenando la ecuación 4.4 resulta:

$$V\left(\frac{dC}{dt}\right) = P\left(\frac{A}{\delta}\right)(p_1 - p_2(t)) \quad [4.5]$$

Considerando que los gases se comportan idealmente, la concentración de gas puede expresarse de la siguiente manera:

$$C = \frac{n}{V} = \frac{P}{RT} \quad [4.6]$$

de donde resulta:

$$dC = \frac{1}{RT} dP \quad [4.7]$$

Así la ecuación 4.5 puede expresarse de la siguiente manera:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{RT}{V} P' \frac{A}{\delta} (p_1 - p_2(t)) \quad [4.8]$$

Si $\mathcal{P} = P'(RT)/\delta$ es la permeancia ($\text{cm}^3/\text{m}^2 \text{ seg Pa}$), la permeabilidad para un espesor determinado resulta:

$$\frac{dP}{dt} = \mathcal{P}\left(\frac{A}{V}\right)(p_1 - p_2(t)) \quad [4.9]$$

Integrando la ecuación 4.9 y considerando que a $t=0$, $p_2(t)$ es la presión inicial ($p_{2,0}$) y a $t=t$ es p_2 , se obtiene:

$$\ln\left[\frac{(p_1 - p_{2,0})}{(p_1 - p_2)}\right] = \mathcal{P}\left[\frac{A}{V}\right]t \quad [4.10]$$

Como las presiones de la ecuación 4.10 corresponden a presiones parciales, utilizando la Ley de Dalton éstas pueden expresarse en función de las fracciones molares del gas (y), resultando:

$$\ln \left[\frac{(y_1 - y_{2,0})}{(y_1 - y_2)} \right] = \mathcal{P} \left(\frac{A}{V} \right) t \quad [4.11]$$

donde y_1 es la fracción molar del gas en el compartimiento 1; $y_{2,0}$ es la fracción molar del compartimiento 2 al tiempo 0 e y_2 es la fracción molar del gas en el compartimiento 2 a cada tiempo, calculadas a partir de las concentraciones del gas, asociadas a las áreas de los picos.

Graficando $\ln[(y_1 - y_{2,0})/(y_1 - y_2)]$ vs t , se obtiene una recta de ordenada al origen 0 y pendiente igual a $\mathcal{P}(A/V)$, conociendo el volumen del compartimento de la cámara, el área de transferencia y el espesor de la película, se puede calcular la permeabilidad en $\text{cm}^3/\text{m seg Pa}$.

3.11 Propiedades ópticas

La opacidad de las películas se determinó mediante el procedimiento descrito por Gontard y colaboradores (1992). Se cortaron rectángulos de películas de 1 x 3 cm, se colocaron dentro de celdas espectrofotométricas y se registró el espectro de absorbancia en la región del visible (400-700 nm) con un espectrofotómetro Beckman DU650 (Palo Alto, CA, USA). La opacidad de las películas se definió como el área de integración bajo la curva registrada y se expresó en unidades de absorbancia por nanómetros ($\text{AU} \times \text{nm}$). Además se calculó la transparencia como la absorbancia medida a 600nm dividido el espesor de la película, según Zhang y Hang (2006).

Las medidas de color superficial de las películas se realizaron en un colorímetro Minolta (CR 400, Osaka, Japón), calibrado con un standard ($Y=93.80$, $x= 0.3133$, $y= 0.3193$). Se registraron las coordenadas L^* , a^* , b^* de la escala CIE; en este sistema el parámetro a^* , representa la variación rojo-verde, tomando valores positivos para el primero y negativos para el segundo; el parámetro b^* , representa la variación amarillo-azul, siendo positivo para el primero y negativo para el segundo y el parámetro L^* de luminosidad varía entre 0, para el negro mate y 100 para el blanco (Figura 4.6).

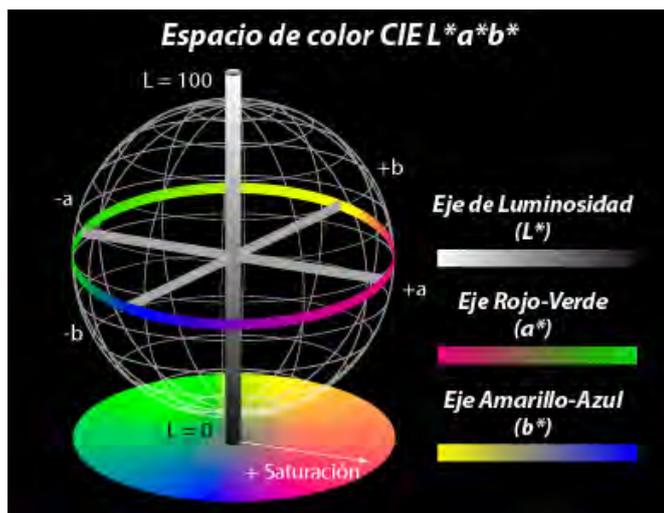


Figura 4.6. Parámetros de color superficial: luminosidad y de cromaticidad a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul).

Además, en la medición del color superficial, se determinaron los parámetros C^* , H° que se obtienen a partir de los parámetros de cromaticidad:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad [4.12]$$

$$H^\circ = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad [4.13]$$

Los resultados informados corresponden al promedio de al menos diez determinaciones.

3.12 Evaluación de la biodegradabilidad de las películas

Estos ensayos se realizaron solamente para las películas plastificadas con 1.5% p/p de glicerol. Se colocaron rectángulos de películas de 1.5 x 6.0 cm en contacto con compost orgánico, enterrando las muestras a 1.5 cm de profundidad. Las características fisicoquímicas y la composición del compost orgánico comercial utilizado se indican a continuación: humedad: 40-43%, cenizas: 25-30%, materia orgánica: 25-30%, C/N: 20-25, pH: 6-6.5 y conductividad eléctrica: 0.5-1 mS/cm.

La incubación de todas las muestras se efectuó a una temperatura promedio de 20 °C durante 48 días. Se realizaron ensayos bajo 4 condiciones diferentes:

- Con luz natural y riego
- Con luz natural y sin riego
- En la oscuridad y riego

- En la oscuridad y sin riego

El riego se realizó mediante un spray rociando los recipientes en la superficie 3 veces por semana.

Se empleó la gravimetría para evaluar la biodegradación de las muestras. La pérdida de peso de cada muestra se calculó como la diferencia entre su peso inicial (antes de enterrarla en el recipiente) y después del período de incubación y se expresó como porcentaje (%). Para remover los restos de compost adheridos, las muestras se sometieron a un cepillado suave.

3.13 Capacidad de termosellado

Los sellados térmicos se realizaron utilizando una termoselladora de alambre mediante impulsos (HermePlas, Argentina) sobre piezas de películas de 9 cm de diámetro. Esta termoselladora trabaja a 220 V permitiendo fijar la temperatura a $154.3 \pm 8.5^\circ\text{C}$, medida mediante una termocupla tipo K conectada a un termómetro registrador de datos (TES-1307, Taiwan). Se determinó el tiempo óptimo que permitió obtener el cierre de mejor calidad, los tiempos ensayados variaron entre 0.83 ± 0.05 y 2.03 ± 0.05 seg.

La resistencia del termosellado, indicador de la calidad del cierre, se evaluó en el texturómetro previamente descrito equipado con un sistema de mordazas de tensión A/TG sobre probetas de 76×25 mm. Los ensayos fueron realizados luego de que el termosellado se enfriara. Se ensayaron 10 probetas para cada formulación.

Los patrones mecánicos fueron registrados y se determinaron los modos de falla de los cierres de acuerdo a la norma ASTM F 88-00 (2001). Para las fallas donde la ruptura se produjo cerca del cierre, se calculó la resistencia máxima a la tracción, mientras que para las fallas adhesivas, cohesivas o de delaminación se determinó la resistencia media de la termosoldadura. Ambas resistencias fueron expresadas en MPa. En el caso de la falla adhesiva, se calculó la energía necesaria para causar la falla siendo la misma el área bajo la curva y se expresó en J/m.

4. Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado, a partir de películas preparadas desde soluciones filmogénicas individuales. Se realizaron análisis multifactoriales de varianza mediante el uso del software Systat (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, USA) versión 10.0. Las diferencias en las propiedades de las películas se

determinaron mediante el test de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) usando un nivel de significación $\alpha=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Espesor

El espesor de las películas resultó significativamente ($p<0.05$) afectado por la composición de la formulación. La incorporación de almidón acetilado a la matriz polimérica permitió obtener películas con espesores mayores que las desarrolladas a partir de almidón nativo, a pesar de que en todos los casos se mantuvo constante la relación de moldeo, expresada como peso de suspensión filmogénica por área de la placa de moldeo ($2\text{g}/\text{cm}^2$), (Figura 4.7). Estos resultados podrían atribuirse a que los grupos acetilo incorporados interfieren en el alineamiento de las cadenas debido al impedimento estérico, aumentando así el espesor de las películas. También se observó que para las tres formulaciones ensayadas, el espesor de las películas aumentó en promedio 21% cuando se adicionaron 1.5 g de glicerol como plastificante cada 100 g de suspensión filmogénica (Figura 4.7). Según Zhang y Han (2006) la magnitud de la variación del espesor por la incorporación de plastificantes depende principalmente del peso molecular del plastificante incorporado.

En la bibliografía existen registros muy variados en cuanto al espesor de películas obtenidas por el método de moldeo a base de almidón o de otros hidrocoloides, dependiendo de la relación peso de suspensión filmogénica/área de la placa de moldeo utilizada, aunque este dato rara vez se consigna. García y colaboradores (2000) desarrollaron películas de almidón de maíz sin plastificar con un espesor promedio de $120\ \mu\text{m}$ y plastificadas con glicerol o con sorbitol con espesores de 104 y $111\ \mu\text{m}$, respectivamente, trabajando con suspensiones filmogénicas de concentraciones similares a la utilizada en el presente trabajo de Tesis y la misma relación de moldeo. Para películas a base de almidón acetilado pregelatinizado, plastificadas con diferentes compuestos, Bonacuccina y colaboradores (2006) informaron un espesor promedio de $50.0\ \mu\text{m}$, aunque los autores no detallan las condiciones de moldeo. Arvannitoyannis y colaboradores (1998) obtuvieron películas de almidón hidroxipropilado de papa (2% p/p) y gelatina (5% p/p), plastificadas con diferentes polioles, con un espesor de $80\ \mu\text{m}$. Salleh y colaboradores. (2009) informaron que las películas a partir de suspensiones

acuosas de almidón de trigo (5% p/p) y glicerol (2.5% p/p) con el agregado de ácido láurico y quitosano presentaron un espesor de 35 μm , con una relación de moldeo de 0.13g/cm². Con respecto a los datos reportados de películas a base de otros hidrocoloides, podemos mencionar a las películas de quitosano al 1%, desarrolladas por Srinivasa y colaboradores (2007), con espesores que variaron entre 30 y 40 μm para relaciones de moldeo de 0.4g/cm². También se puede hacer referencia a películas a base de proteínas de girasol y de soja (5% p/p), plastificadas con 1.5% p/p de glicerol cuyos espesores resultaron 71-80 y 75 μm , respectivamente, utilizando una relación de moldeo de 0.16 g/cm² (Salgado y col., 2010).

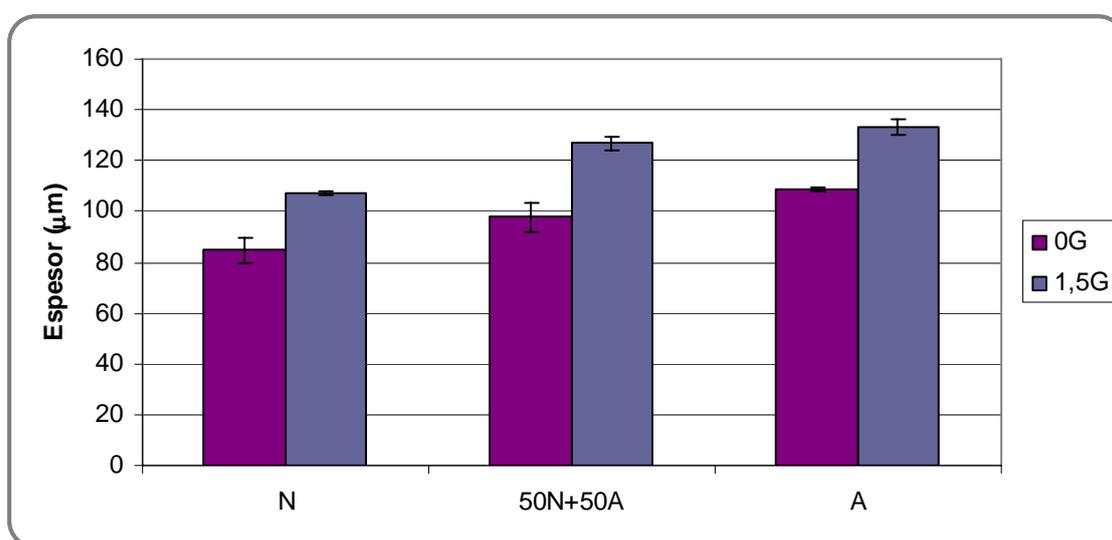


Figura 4.7. Espesores de películas obtenidas a base de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin glicerol (0G) y con 1.5% p/p de glicerol (1.5G).

2. Humedad

El contenido de humedad de las películas sin plastificar resultó afectado por la composición de las mismas; como era de esperar, la adición de glicerol incrementó la humedad de las películas debido al carácter hidrofílico del mismo (Tabla 4.4). El plastificante hidrofílico provee más sitios activos en la matriz de la película por exposición de sus grupos hidroxilos en los cuales las moléculas de agua podrían absorberse y mantenerse mediante uniones del tipo puente de hidrógeno. El tipo de almidón empleado no modificó significativamente ($p > 0.05$) los contenidos de humedad de las películas.

Tabla 4.4. Humedad de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin plastificar y plastificadas con 1.5 % p/p de glicerol (1.5G).

<i>Composición de la película</i>	<i>Humedad (g de agua/100 g de película)</i>
N	9.04±0.01
N-1.5G	15.28±0.91
50N+50A	9.06±0.10
50N+50A-1.5G	15.75±0.51
A	9.08±0.12
A-1.5G	15.68±0.38

3. Isotermas de sorción

Las isotermas de sorción proveen información sobre la hidrofiliidad de las películas bajo diferentes humedades relativas; representan la relación entre el agua absorbida o desorbida por las películas y la actividad acuosa, a temperatura constante y bajo condiciones de equilibrio (Al-Muhtaseb y col. 2002). La Figura 4.8 muestra los valores experimentales de contenido de humedad de equilibrio en función de la actividad acuosa de las películas de almidón en estudio. A temperatura constante el contenido de humedad de equilibrio aumentó lentamente con la actividad acuosa hasta $a_w \approx 0.8$ y luego el incremento resultó exponencial haciéndose asintótico cuando a_w tendió a 1. Esta forma sigmoidea es típica de productos ricos en proteínas o almidón y corresponden a isotermas del Tipo II, según la clasificación de BET. Mali y colaboradores (2002) describieron el mismo comportamiento para películas de almidón de cará plastificadas con glicerol en concentraciones similares a las ensayadas en el presente trabajo de Tesis. Salgado y colaboradores (2010) también reportaron un comportamiento similar para películas a base de proteínas aisladas de girasol.

Las películas plastificadas con glicerol presentaron mayor absorción de agua en todo el rango de a_w debido al carácter altamente hidrofílico del plastificante. Coupland y colaboradores (2000) informaron el mismo comportamiento frente al agregado de plastificante para películas a base de proteínas de suero con diferentes concentraciones de glicerol.

Los datos obtenidos fueron ajustados empleando diferentes modelos matemáticos aplicados comúnmente a productos de almidón (Perdomo y col., 2009). Para que un modelo matemático sea satisfactorio debe ajustar lo mejor posible los datos

experimentales en todo el rango de a_w , utilizando un mínimo de parámetros de ajuste (Coupland y col., 2000). En la Tabla 4.5 se presentan los parámetros de ajuste y los correspondientes coeficientes de correlación de los modelos matemáticos utilizados. Si bien todos los modelos empleados describieron adecuadamente el comportamiento de sorción de todas las películas ensayadas, el mejor ajuste de los datos experimentales varió con la formulación de cada película. El modelo de Henderson es el que mejor describió el comportamiento de las películas de almidón nativo y de la mezcla con glicerol; el de Chirife fue el que mejor ajustó los datos experimentales de las películas de almidón nativo y de la mezcla sin glicerol; mientras que los resultados experimentales de las películas de almidón acetilado sin y con plastificante se ajustaron mejor al modelo de BET.

En la ciencia de los alimentos los modelos de BET y GAB son los más utilizados ya que sus parámetros tienen significado físico, como el contenido de humedad de monocapa (X_m) y el calor de sorción. La ecuación de BET sólo describe adecuadamente los datos experimentales por debajo de $a_w = 0.5$ mientras que el modelo de GAB, considerado el más apropiado para describir las isothermas de sorción de películas (Coupland y col., 2000), resulta aplicable en todo el intervalo de a_w .

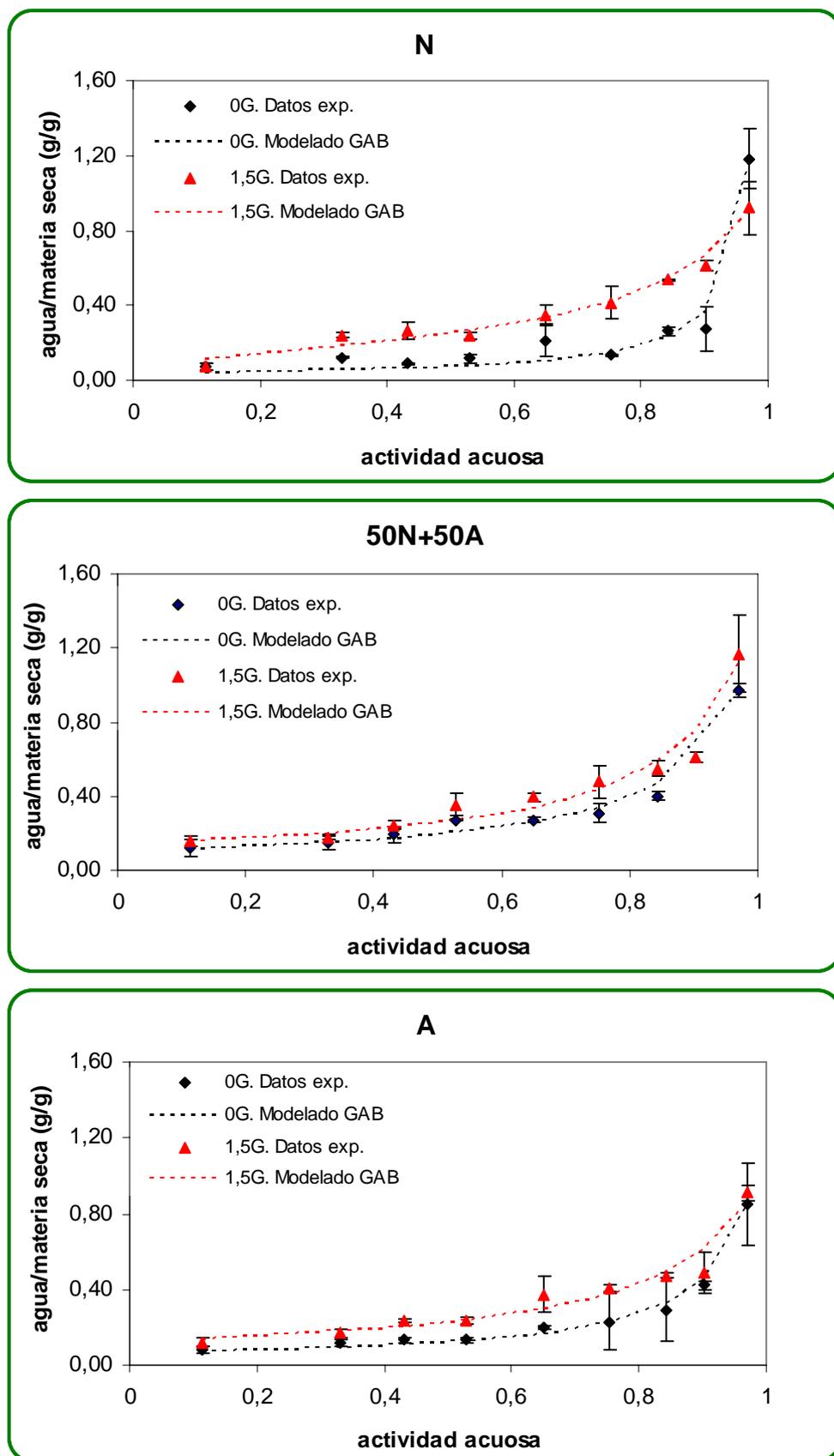


Figura 4.8. Isothermas de sorción de películas obtenidas a base de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin glicerol (0G) y con 1.5% p/p de glicerol (1.5G)

Por lo tanto, se decidió graficar el modelado de los datos experimentales solamente por GAB (Figura 4.8). Los valores de contenido de agua de la monocapa (X_m), estimados a través de ambos modelos (Tabla 4.5), resultaron significativamente mayores que los correspondientes para productos alimenticios hidrofílicos reportados por Iglesias y Chirife (1992) (5 - 8 g de agua/100 g de materia seca). Los mismos variaron en función de la composición de las películas, se observó que dicho parámetro aumentó con el agregado de glicerol para las tres formulaciones ensayadas. Coupland y colaboradores (2000) informaron la misma tendencia para películas de proteínas de suero plastificadas con diferentes concentraciones de glicerol. Con respecto al tipo de almidón empleado en la formulación, si bien se encontraron diferencias entre los valores obtenidos, no se pudo establecer una tendencia. Müller y colaboradores (2009) reportaron un valor de contenido de agua de la monocapa de 0.094 g de agua/g de materia seca, según el modelo de GAB, para películas de almidón de mandioca plastificadas con glicerol (0.30g/g de almidón). Con respecto a los parámetros K y C del modelo de GAB, se pudo observar que el parámetro K resultó independiente de la composición de las películas, mientras que el parámetro C, relacionado con el calor de sorción, disminuyó con el agregado de plastificante. Coupland y colaboradores (2000) señalaron una tendencia similar para ambos parámetros trabajando con películas de proteínas de suero plastificadas con glicerol. En el caso de películas de almidón de mandioca, Müller y colaboradores (2009) informaron que los valores de K fueron independientes de la composición de las películas.

Tabla 4.5. Valores de los coeficientes estimados del modelado matemático de las isotermas de sorción a 20 °C de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin plastificar (0G) y con 1.5% p/p de glicerol (1.5G).

<i>Valores estimados de los coeficientes</i>							
<i>Modelo</i>	<i>Coefficientes</i>	<i>N</i>		<i>50N+50A</i>		<i>A</i>	
		<i>0G</i>	<i>1.5G</i>	<i>0G</i>	<i>1.5G</i>	<i>0G</i>	<i>1.5G</i>
BET	<i>X_m</i>	0.059	0.202	0.105	0.132	0.077	0.131
	<i>C_B</i>	1.4 x10 ¹⁵	4.901	3.3 x10 ¹⁴	6.2 x10 ¹⁴	375.441	28.963
	<i>r²</i>	0.951	0.980	0.963	0.989	0.988	0.992
GAB	<i>X_m</i>	0.036	0.153	0.102	0.139	0.063	0.127
	<i>C</i>	3.8 x10 ¹⁴	18.331	2.7 x10 ¹⁴	1.3 x10 ¹⁴	2.9 x10 ¹⁴	165.743
	<i>K</i>	0.999	0.857	0.922	0.903	0.954	0.879
	<i>r²</i>	0.967	0.986	0.990	0.975	0.955	0.978
Halsey	<i>A</i>	0.020	0.055	0.055	0.082	0.024	0.055
	<i>B</i>	1.632	1.915	1.640	1.648	1.685	1.738
	<i>r²</i>	0.965	0.986	0.980	0.989	0.971	0.991
Peleg	<i>k₁</i>	0.234	0.638	0.969	1.486	-1.144	69.086
	<i>n₁</i>	0.750	10.644	13.921	31.272	4.930	170.541
	<i>k₂</i>	2.938	0.463	0.344	0.613	2.022	0.543
	<i>n₂</i>	36.895	0.741	0.583	0.943	4.930	0.995
	<i>r²</i>	0.978	0.988	0.994	0.985	0.891	0.989
Oswin	<i>A</i>	0.060	0.275	0.208	0.287	0.134	0.251
	<i>B</i>	0.849	0.353	0.439	0.396	0.528	0.364
	<i>r²</i>	0.958	0.987	0.992	0.983	0.955	0.986
Henderson	<i>A</i>	-12.189	-4.523	-8.804	-4.522	-7.610	-5.938
	<i>B</i>	1.350	1.435	1.711	1.566	1.232	1.562
	<i>r²</i>	0.959	0.990	0.984	0.991	0.963	0.991
Chirife	<i>A</i>	-2.228	-1.526	-1.709	-1.385	-2.140	-1.538
	<i>B</i>	-0.875	-1.382	-1.022	-0.970	-1.234	-0.970
	<i>C</i>	-0.029	0.061	-0.008	-0.004	-0.005	0.003
	<i>r²</i>	0.980	0.987	0.994	0.984	0.958	0.985
Smith	<i>A</i>	-0.098	0.095	0.039	0.086	-0.010	0.091
	<i>B</i>	-0.279	-0.233	-0.246	-0.281	-0.213	-0.217
	<i>r²</i>	0.836	0.987	0.979	0.976	0.928	0.982

r²: coeficiente de correlación para evaluar la bondad de ajuste de los modelos a los datos experimentales
X_m: contenido de humedad de equilibrio de la monocapa (g agua/g sólido seco)
 A, B, C, K, *k₁*, *k₂*, *n₁* y *n₂*: parámetros de ajuste de las ecuaciones.

4. Solubilidad

La solubilidad de las películas en agua es una propiedad muy importante ya que condiciona la aplicación de las mismas. En algunos casos, se requiere que las mismas sean insolubles en agua para mejorar la integridad del producto y la resistencia a la humedad; en otros, la disolución de las películas antes del consumo del producto puede resultar útil, como en el caso de la encapsulación de alimentos o aditivos (Bertuzzi y col., 2007).

Los resultados obtenidos de solubilidad de las películas se presentan en la Tabla 4.6; aumentando significativamente ($p < 0.05$) con la temperatura y con la adición de plastificante debido al carácter hidrofílico del glicerol. Resultados similares fueron reportados para películas plastificadas con glicerol de almidón de batata (Shen y col, 2010) y de kefirán (Piermaría y col. 2009). Las películas de almidón acetilado presentaron la menor solubilidad en agua tanto a 25 como a 100 °C, siendo esta diferencia significativa ($p < 0.05$). Estos resultados se atribuyen a la naturaleza hidrofóbica del grupo acetilo sustituyente. Además, esta tendencia concuerda con el aumento del espesor de las películas que contenían almidón acetilado previamente informado.

Tabla 4.6. Solubilidad en agua a 25 y 100 °C y en HCl 0.1M a 37 °C de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin plastificar y con 1.5 % p/p de glicerol (1.5G).

<i>Composición de la película</i>	<i>Solubilidad en agua</i>		<i>Solubilidad en HCl</i>
	<i>(%)</i>		<i>0.1M – 37 °C</i>
	<i>25 °C</i>	<i>100 °C</i>	<i>(%)</i>
<i>N</i>	3.98±0.28	16.38±2.93	26.44±0.45
<i>N-1.5G</i>	13.63±0.02	26.31±0.55	34.70±2.47
<i>50N+50A</i>	3.94±1.31	14.61±3.31	25.46±3.47
<i>50N+50A-1.5G</i>	12.64±0.01	24.36±0.11	36.57±2.19
<i>A</i>	2.31±0.09	14.76±3.89	27.05±3.01
<i>A-1.5G</i>	11.34±0.21	22.27±0.43	30.44±1.56

La solubilidad de las películas también se analizó en HCl 0.1M a 37 °C (Tabla 4.6). Evaluar la digestibilidad de las películas a base de almidón puede proporcionar información útil, en el caso de películas comestibles, ya que los componentes de estos materiales son considerados GRAS. Los ensayos de digestibilidad simulan las distintas etapas de la digestión in vivo: la fase oral, gástrica e intestinal. La fase gástrica está caracterizada por dos procesos de hidrólisis, uno en condiciones ácidas, ya que el pH del estómago es 1 y otro enzimático (Woolnough y col. 2008). En el presente trabajo de Tesis se determinó la solubilidad de las películas en condiciones que reproducen el proceso de hidrólisis ácida. En los ensayos de simulación gástrica se observó que la solubilidad en este medio fue significativamente ($p < 0.05$) mayor que en medio acuoso aún a la mayor temperatura ensayada (Tabla 4.6). Como se observó para los ensayos de

solubilidad en agua, el agregado de plastificante permitió una mayor disolución de las películas en condiciones de hidrólisis ácida, indicando una mayor digestibilidad.

5. Apariencia y homogeneidad

Las micrografías SEM mostraron que las películas sin plastificar exhibieron estructuras multicapas (Figura 4.9).

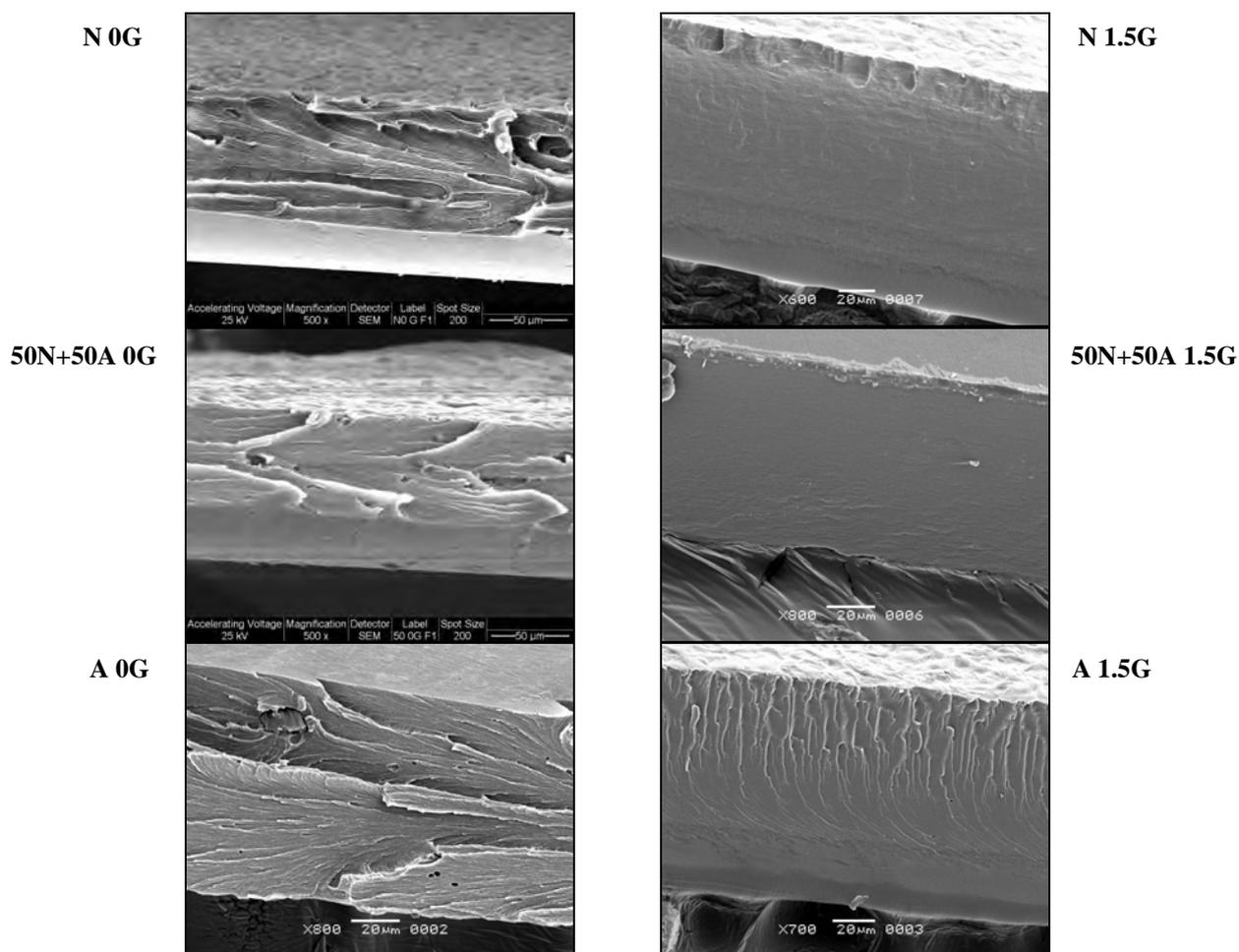


Figura 4.9. SEM de corte transversal de películas a base de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin glicerol (0G) y con 1.5% p/p de glicerol (1.5G).

Además se observó el efecto de la incorporación de almidón acetilado sobre el espesor de las películas antes mencionado. La adición de glicerol incrementó en promedio un 20% el espesor de las películas, independientemente del tipo de almidón y esto podría relacionarse con la modificación de la estructura que provoca la adición del plastificante. Los cortes transversales de las películas plastificadas mostraron una estructura más homogénea debido a que el glicerol interfiere en las interacciones de las

cadena (Sothornvit y Krochta, 2005) y por lo tanto no se observó la estructura multilaminar de las películas sin plastificar.

6. Topografía y rugosidad

La microscopía de fuerza atómica (AFM) es una técnica que provee información sobre la topografía y la homogeneidad de superficies con resolución nanométrica sin necesidad de acondicionar las muestras (García y Pérez, 2002; Raghavan y col., 2000).

La Figura 4.10 corresponde a las imágenes topográficas en 2D de las superficies de las películas sin plastificar estudiadas en este trabajo de Tesis.

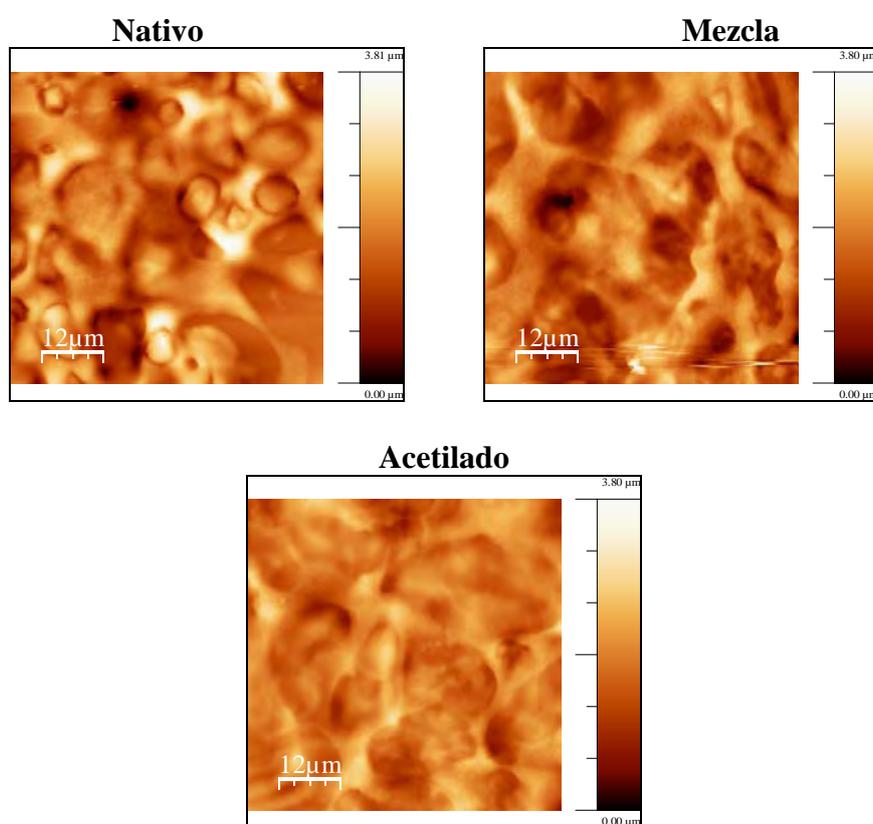


Figura 4.10. Imágenes topográficas AFM en 2D de superficies de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones, sin glicerol.

Se puede observar que las superficies de las películas presentaron ciertas zonas elevadas rodeadas por una zona deprimida de color más oscuro, las que se atribuyeron a las estructuras granulares remanentes del almidón, comúnmente denominadas “fantasmas”. Estas estructuras, mayormente compuestas por amilopectina, se encuentran rodeadas por una matriz homogénea, formada principalmente por amilosa. La presencia de los “fantasmas”, irregularmente espaciados y de diversas formas y tamaños, le confirieron a

las superficies de las películas cierto grado de rugosidad. Thiré y colaboradores (2003) informaron resultados similares cuando observaron la superficie de películas de almidón de maíz sin plastificar. Los “fantasmas” de las películas de almidón acetilado, estaban más hinchados, indicando que durante la preparación de las suspensiones filmogénicas correspondientes se logró una mayor ruptura de los gránulos. Esta observación es consistente con las propiedades térmicas, medidas por DSC e informadas en el Capítulo 2, ya que el almidón acetilado presentó una menor temperatura de gelatinización que el nativo. La topografía de las películas mezcla presentó una apariencia intermedia.

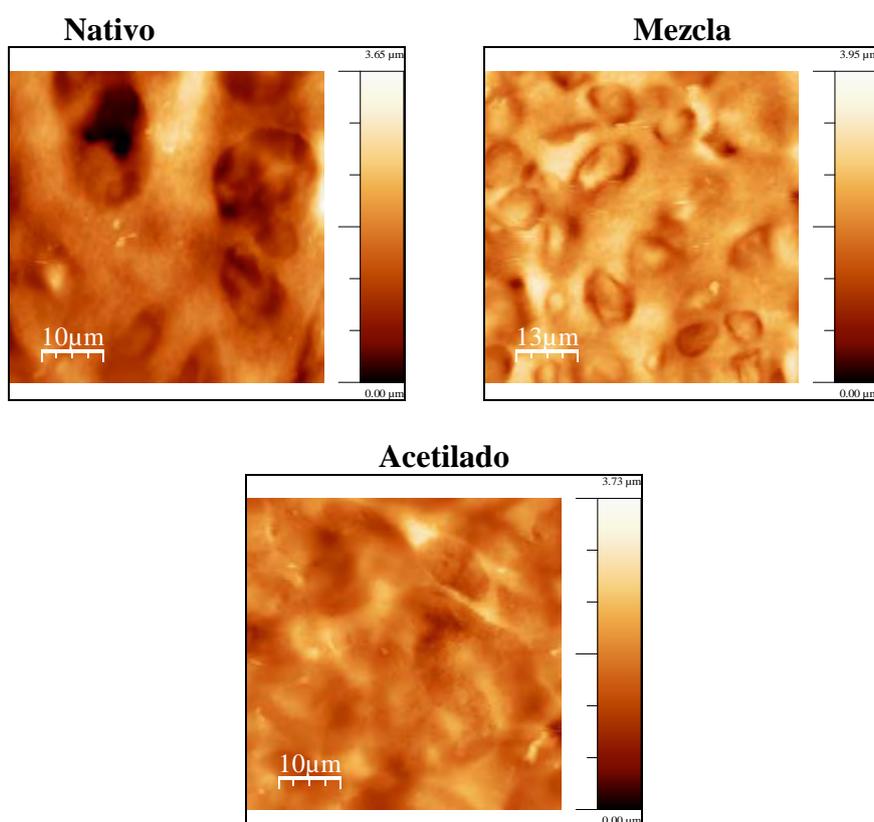


Figura 4.11. Imágenes topográficas AFM en 2D de superficies de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones, plastificadas con 1.5% p/p de glicerol

La Figura 4.11 corresponde a las imágenes en 2D de las superficies de las películas plastificadas con 1.5% p/p de glicerol. Las superficies de las películas plastificadas de almidón nativo y mezcla presentaron menor cantidad de “fantasmas” que las correspondientes a las películas sin glicerol. Para el caso de las películas de almidón acetilado plastificadas no se evidenció la presencia de las estructuras granulares remanentes, resultando así más homogéneas.

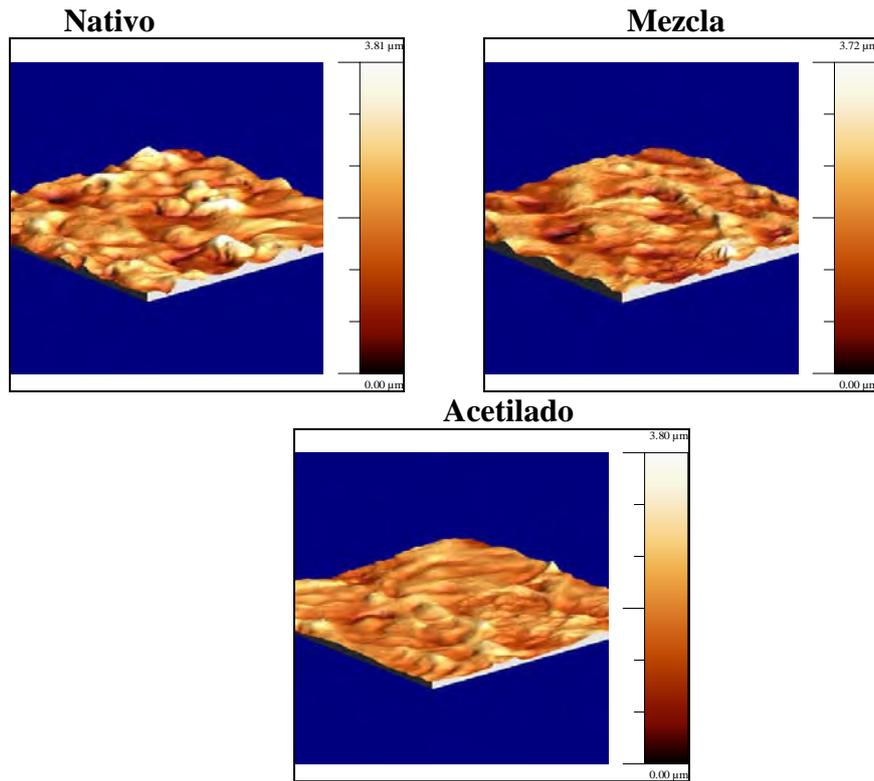
Se analizó la rugosidad de las superficies y se calcularon los parámetros correspondientes que se informan en la Tabla 4.7. Se observó que la rugosidad de las superficies de las películas varió en función de la composición de las mismas. El uso de almidón acetilado en las formulaciones permitió desarrollar películas cuyas superficies resultaron más suaves ya que presentaron menor rugosidad, evaluada a través de la desviación estándar de las alturas (RMS) y de la rugosidad promedio. También se determinó que la adición de plastificante disminuyó los parámetros de rugosidad de las superficies de las tres formulaciones estudiadas.

Tabla 4.7. Parámetros de rugosidad de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y un mezcla de ambos en iguales proporciones, sin glicerol y con 1.5% p/p de glicerol.

<i>Composición de la película</i>		<i>Tamaño de la imagen</i>	<i>Parámetros de rugosidad</i>		
<i>Almidón</i>	<i>Glicerol (% p/p)</i>	<i>analizada ($\mu\text{m} \times \mu\text{m}$)</i>	<i>RMS (μm)</i>	<i>Rugosidad promedio (μm)</i>	<i>Superficie (μm^2)</i>
<i>Nativo</i>	<i>0</i>	60x60	0.5407	0.4247	3954.93
	<i>1.5</i>	50x50	0.506	0.3939	2627.71
<i>Mezcla</i>	<i>0</i>	60x60	0.518	0.4255	4090.69
	<i>1.5</i>	64x64	0.3917	0.3085	4416.33
<i>Acetilado</i>	<i>0</i>	60x60	0.3625	0.2883	3744.49
	<i>1.5</i>	50x50	0.3113	0.2431	2634.89

La observación de las imágenes en 3D (Figura 4.12) permitió reforzar los resultados que se obtuvieron a partir de las imágenes en 2D y del análisis de la rugosidad. Las superficies de las películas cuyas formulaciones contenían almidón acetilado resultaron más suaves y la adición de plastificante también disminuyó la rugosidad de las mismas.

A)



B)

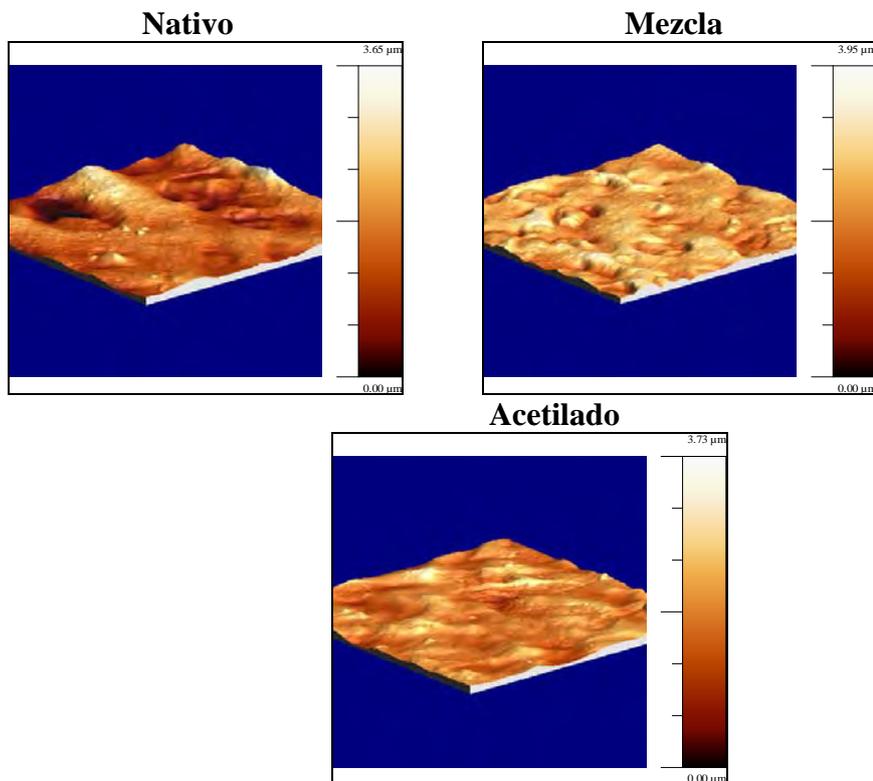


Figura 4.12. Imágenes topográficas AFM en 3D de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones: A) sin plastificar y B) con 1.5% p/p de glicerol.

Cuando se estudia la topografía y la homogeneidad de superficies por AFM de películas obtenidas por moldeo, hay que tener en cuenta que la superficie en contacto con la placa de acrílico es diferente de la superficie expuesta al aire durante la etapa de secado. La Figura 4.13 muestra las imágenes topográficas en 2 y 3D de ambas superficies para una película a base de almidón mezcla sin glicerol. Al comparar dichas imágenes (Figura 4.10, 4.12 A y 4.13), se puede observar que la superficie que estuvo en contacto con la placa de acrílico resultó más homogénea y suave. Al analizar la rugosidad de la misma, se determinaron parámetros significativamente menores (RMS: $0.074 \mu\text{m}$ y rugosidad promedio: $0.0384 \mu\text{m}$) indicando que la rugosidad de ésta superficie es menor que la de la cara expuesta al aire (Tabla 4.8).

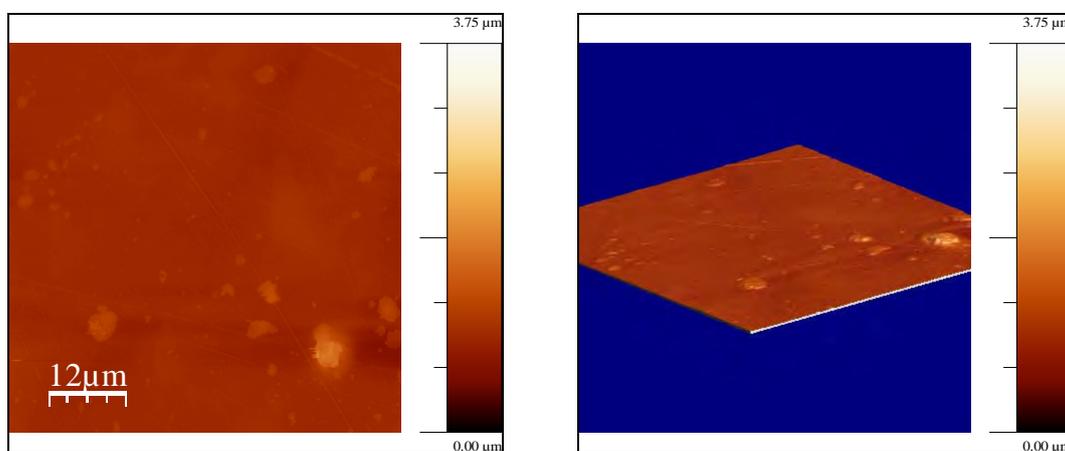


Figura 4.13. Imágenes topográficas AFM en 2 y 3D de películas (superficie apoyada sobre el molde) a base de una mezcla de almidón de maíz nativo y acetilado en iguales proporciones, sin plastificar.

La observación por SEM de ambas superficies concuerda con los resultados obtenidos por AFM. La superficie expuesta al aire durante el secado de las películas (Figura 4.14.A) resultaron más rugosas que la superficie de la cara que se encontraba contra el molde (Figura 4.14.B). Por lo tanto, cuando se informan parámetros de rugosidad de películas obtenidas por moldeo, es importante indicar qué superficie se analiza. Los resultados informados en la Tabla 4.7 corresponden a los parámetros de rugosidad de la superficie expuesta al aire.

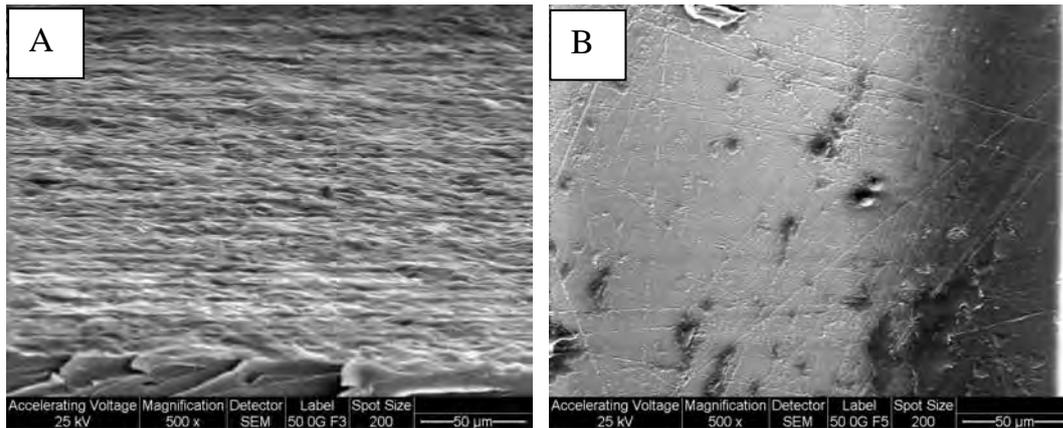


Figura 4.14. SEM de la superficie de películas a base de una mezcla de almidón nativo y acetilado en iguales proporciones, sin glicerol. A) cara expuesta al aire; B) cara apoyada sobre el molde

7. Difracción de rayos X

En este trabajo de Tesis la estructura cristalina de las películas de almidón de maíz desarrolladas se estudió mediante difracción de rayos X. La Figura 4.15 muestra los difractogramas correspondientes al almidón nativo de maíz y a la película desarrollada a partir del mismo.

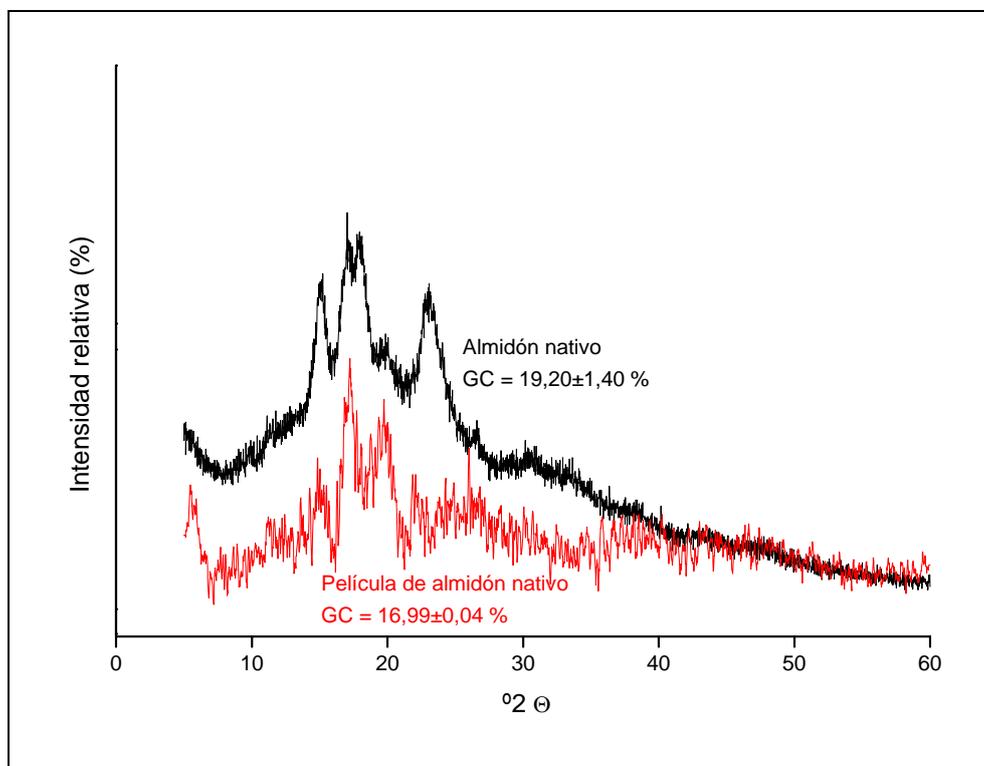
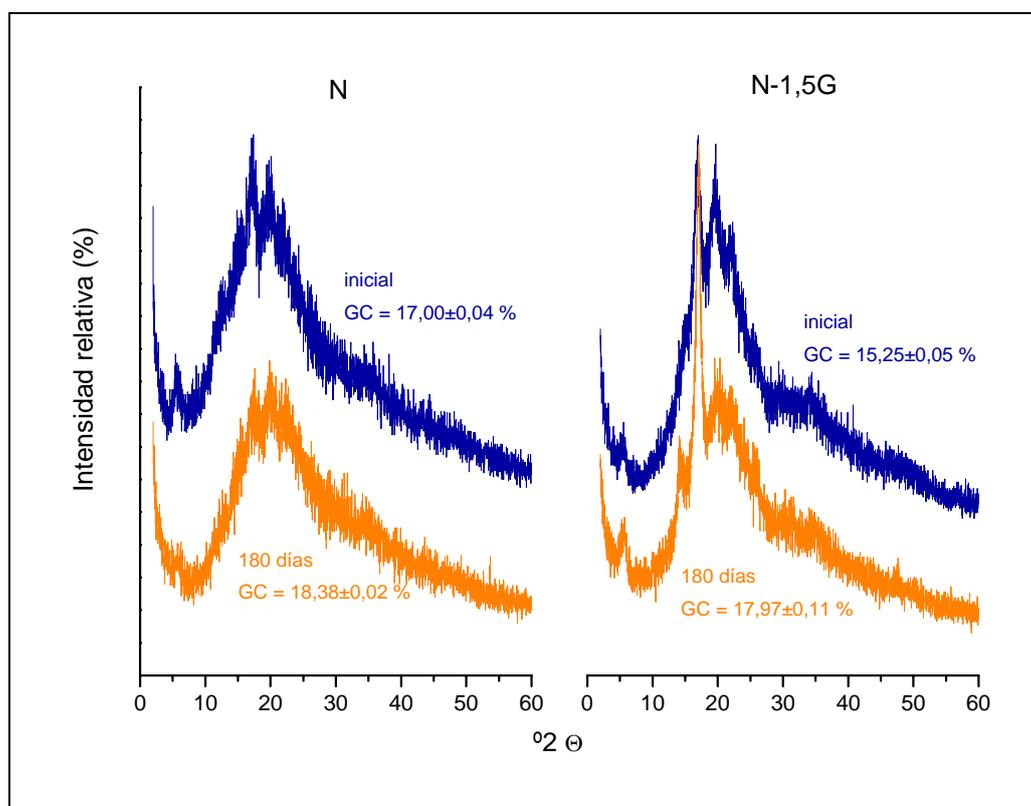


Figura 4.15. Difractogramas de almidón de maíz nativo y de la película desarrollada a partir del mismo. Se indican además los grados de cristalinidad (GC).

La conversión del almidón en polvo en película provocó una disminución de la intensidad de los picos del difractograma, disminuyendo así el grado de cristalinidad. Este descenso indica que la estructura cristalina se desorganiza durante el calentamiento, debido a la gelatinización y retrogradación del almidón. Se obtuvieron resultados similares para el caso del almidón de maíz acetilado y la película obtenida a partir del mismo. Singh y colaboradores (2009) informaron una tendencia similar para el almidón de porotos rojos y su correspondiente película.

La Figura 4.16 corresponde a los difractogramas de las películas sin plastificante y con 1.5% p/p de glicerol, además de los correspondientes a las películas almacenadas durante 180 días en condiciones de temperatura y humedad controladas. Todas las películas resultaron ser materiales semicristalinos ya que los difractogramas presentaron una importante contribución de la fase amorfa, conteniendo una pequeña fracción cristalina. Resultados similares fueron reportados por otros autores estudiando películas de almidón provenientes de otros cereales y tubérculos (García y col., 2009; Famá y col., 2007, 2006 y 2005; Flores y col., 2007; Angellier y col., 2006).



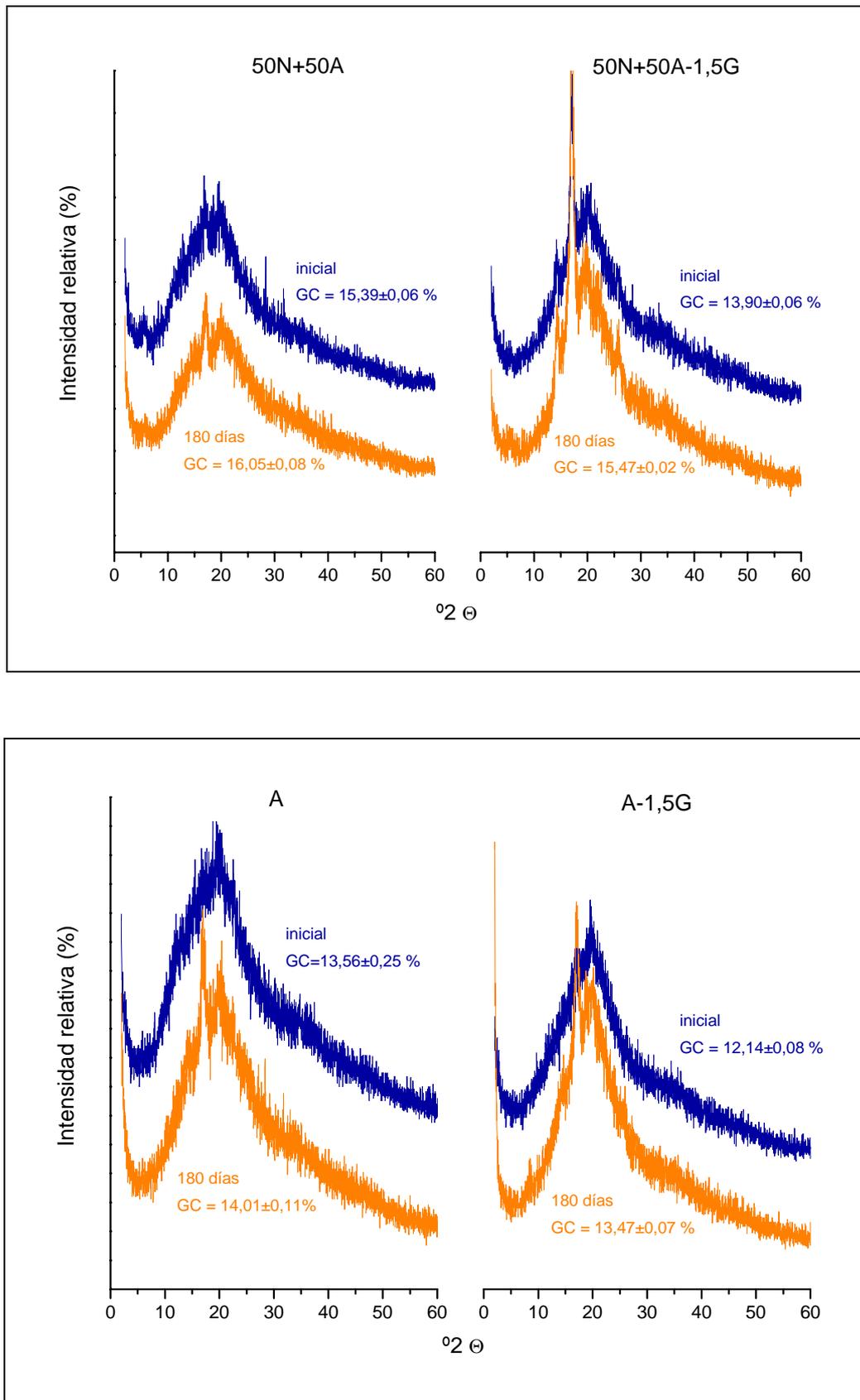


Figura 4.16. Difractogramas de películas a base de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin glicerol y con 1.5% p/p de glicerol (1.5G): inicial y almacenadas 180 días a 20 °C y 63.8% HR.

Se analizaron los difractogramas entre $2\theta = 0$ y 30° , identificando los picos de mayor intensidad y calculando las distancias interplanares de los cristales a partir de los ángulos de difracción de acuerdo a la Ley de Bragg. Los resultados obtenidos se informan en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8. Análisis de los difractogramas de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin glicerol y con 1.5% p/p de glicerol (1.5G): inicial y almacenadas 180 días a 20°C y 63.8% HR.

Almacenamiento	Formulación de las películas		Posición de los picos de mayor intensidad (2θ)	Distancias interplanares de los cristales (\AA)
	Almidón	Glicerol (% p/p)		
Tiempo inicial	N	0	5.44	18.03
			17.72	5.55
			22.08	4.46
		1.5	5.72	17.15
			17.58	5.59
			22.30	4.96
	50N+50A	0	5.52	17.78
			16.80	5.85
			19.58	5.03
		1.5	5.66	17.34
			17.02	5.78
			20.66	4.77
A	0	16.72	5.88	
		22.52	4.38	
		17.00	5.78	
	1.5	22.42	4.40	
		5.58	17.58	
		16.98	5.79	
180 días	N	0	22.30	4.42
			5.46	17.95
			17.06	5.76
		1.5	21.88	4.50
			5.66	17.34
			17.02	5.78
	50N+50A	0	20.66	4.77
			5.36	18.30
			17.08	5.76
		1.5	21.14	4.66
			16.54	5.94
			20.88	4.72
A	0	16.98	5.79	
		20.68	4.76	
		5.36	18.30	
	1.5	17.08	5.76	
		21.14	4.66	
		16.54	5.94	

En primera instancia se analizaron los difractogramas de las películas sin plastificar a tiempo inicial correspondientes a las tres formulaciones ensayadas. Las películas a base de almidón de maíz nativo presentaron tres picos de mayor intensidad localizados en $2\theta = 5, 17$ y 22° . Los difractogramas de las películas mezcla también presentaron los picos de 5 y 17 pero el tercer pico apareció alrededor de $2\theta = 20^\circ$. Para el caso de las películas de almidón acetilado, los difractogramas correspondientes no mostraron el pico de $2\theta = 5^\circ$, los picos más intensos se localizaron alrededor de $2\theta = 17$ y 22° . Estos resultados indican que las películas de almidón de maíz nativo y acetilado presentan estructuras cristalinas diferentes, aunque la asignación de un patrón de difracción característico resultó muy difícil. Los picos de mayor intensidad presentes en los difractogramas indicaron que la estructura cristalina desarrollada corresponde al tipo C, patrón intermedio entre A y B. Singh y colaboradores (2009) asignan también el patrón de difracción C para películas a base de almidón de porotos rojos. Salleh y colaboradores (2009) indicaron que películas formuladas a partir de almidón de trigo presentaron una muy baja cristalinidad con un pico de difracción intenso a $2\theta = 17^\circ$, además de picos de menor intensidad a $2\theta = 15, 20, 22$ y 24° . García y colaboradores (2009) informaron que las películas de almidón de mandioca plastificadas con glicerol presentaron un patrón tipo B, mientras que para las películas de almidón de maíz waxy con glicerol los difractogramas presentaron picos correspondientes al patrón B y al A.

La estructura tipo A se interpreta proponiendo una celda unidad con doble hélices enrolladas a la derecha, con seis unidades glucosídicas por vuelta; la unidad repetitiva es de tres unidades glucosídicas ($10.4 - 10.5 \text{ \AA}$), todas en la misma conformación; siendo el empaquetamiento antiparalelo (Bader y Göritz, 1993; Whistler y col., 1984). Las fuerzas inter e intramoleculares mantienen la estructura, destacándose fundamentalmente las interacciones por puentes de H y por fuerzas de van der Waals. En la estructura tipo B la celda unidad propuesta consta de una doble hélice con 6 residuos de glucosa y tres moléculas de agua por vuelta, las hélices a izquierda están ligeramente favorecidas energéticamente, siendo la distancia repetitiva de 10.6 \AA . La diferencia entre ambas estructuras es la cantidad de moléculas de agua en el arreglo cristalino (Biliaderis, 1992). De acuerdo a lo informado por Roos (1995), los almidones con patrón tipo A tienen cadenas más cortas que los almidones con patrón tipo B. Asimismo, Roos (1995) señala que la estructura cristalina termodinámicamente más estable es la tipo A mientras que el patrón tipo B es cinéticamente la forma polimórfica más favorecida. La estructura tipo A

es favorecida respecto a la B a temperaturas de cristalización altas, así como a mayores concentraciones poliméricas y con cadenas más cortas. Como se mencionó anteriormente, la estructura tipo C es intermedia entre las anteriores. La estructura tipo V es un empaquetamiento de hélices a izquierda, cuya unidad repetitiva es de 8 \AA , por reorganización molecular fácilmente se convierte en estructura del tipo B (Whistler y col., 1984).

El uso de almidón acetilado permitió obtener películas que desarrollaron una estructura menos cristalina que las de almidón nativo (Figura 4.16). La cristalinidad de las películas a base de almidón depende del grado de disolución de la amilosa y de la cantidad de enlaces puente de hidrógeno formados dentro de la película (Bertuzzi y col., 2007; Liu y Han, 2005; Bader y Göritz, 1994; Chen y Jane, 1994). Así, los resultados de difracción de rayos X de las películas concuerdan con los datos de contenido de amilosa y con los grados de cristalinidad de ambos polvos de almidón informados en el Capítulo 2, (Figura 2.12).

Para las tres formulaciones ensayadas los picos más intensos de los difractogramas de las películas plastificadas con glicerol se hallaban aproximadamente en la misma posición que los picos de las películas sin plastificar, lo que indica que ambos materiales desarrollaron estructuras cristalinas similares (Figura 4.16, Tabla 4.8). También se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) en el grado de cristalinidad de las películas cuando se adicionó el plastificante a la matriz polimérica. Esto podría atribuirse a que el plastificante limita el alineamiento de las cadenas poliméricas en la matriz de almidón disminuyendo así el grado de cristalinidad. El efecto del almidón acetilado sobre la disminución del grado de cristalinidad observado para las películas sin plastificar también se evidenció en las películas con glicerol, estos resultados podrían atribuirse a que el sustituyente interfiere en la asociación de las cadenas debido al impedimento estérico.

Durante el almacenamiento de las películas no se modificaron las estructuras cristalinas desarrolladas, ya que las posiciones de los picos más intensos presentes en los difractogramas resultaron similares a las obtenidas a tiempo inicial. Sin embargo, se observó un aumento de la intensidad de dichos picos dando como resultado grados de cristalinidad significativamente ($p < 0.05$) mayores para las películas almacenadas. El aumento del grado de cristalinidad por efecto del almacenamiento de las películas sin plastificar resultó en promedio de 10%, mientras que para las películas con glicerol el aumento observado fue de 3%. Durante el almacenamiento hay un reordenamiento del

retículo polimérico ya que aumenta la interacción entre las cadenas poliméricas, proceso que depende de la movilidad y de la capacidad de las mismas para formar cristalitas (Bertuzzi y col., 2007). Además, este aumento de la cristalinidad se correlacionó con el aumento de la rigidez del material. El menor grado de cristalinidad de las películas plastificadas, así como su menor variación durante el almacenamiento indica que las películas plastificadas presentaron una estructura más estable que las sin plastificar. Además, en las películas almacenadas también se observó el efecto del almidón acetilado y del agregado de plastificante sobre el grado de cristalinidad anteriormente mencionado.

8. Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopía FTIR se utilizó para evaluar la compatibilidad entre los componentes de las películas de almidón en estudio ya que cuando dos o más sustancias se mezclan, las interacciones físicas y químicas se reflejan en cambios en los picos característicos de los espectros FTIR (Yin y col., 1999; Guan y col., 1998).

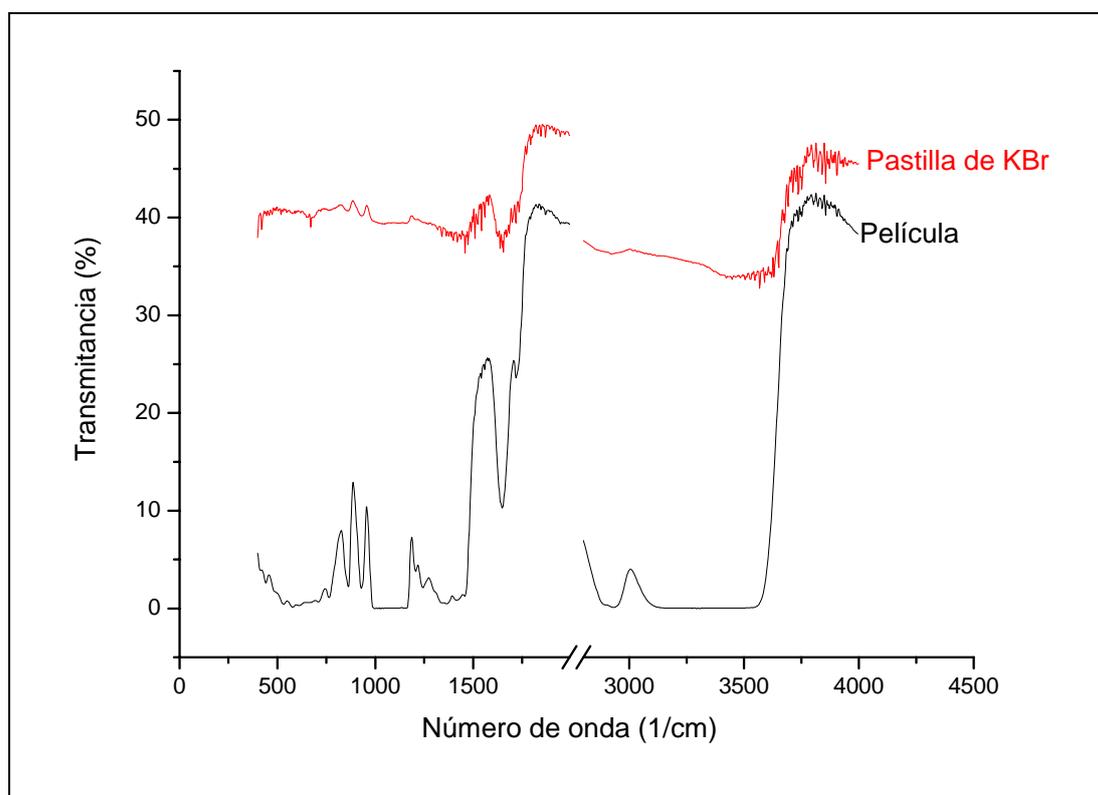


Figura 4.17. Espectros de FTIR de películas a base de una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), plastificadas con 1.5% p/p de glicerol.

Dado que los espectros obtenidos con las películas aún con espesores menores a $30\mu\text{m}$ se saturaban fue necesario realizar las corridas de polvos de películas dispersos en KBr mediante la obtención de pastillas. La Figura 4.17 ilustra esta situación. Shen y colaboradores (2010) también reportaron la necesidad del uso de pastillas de KBr para el análisis por espectroscopía FTIR de películas de almidón de batata con glicerol, sorbato de potasio y/o quitosano.

El espectro FTIR de las películas de almidón de maíz nativo sin glicerol presentó las señales típicas de estiramiento, flexión y deformación correspondientes a los principales grupos funcionales característicos del almidón (Figura 4.18).

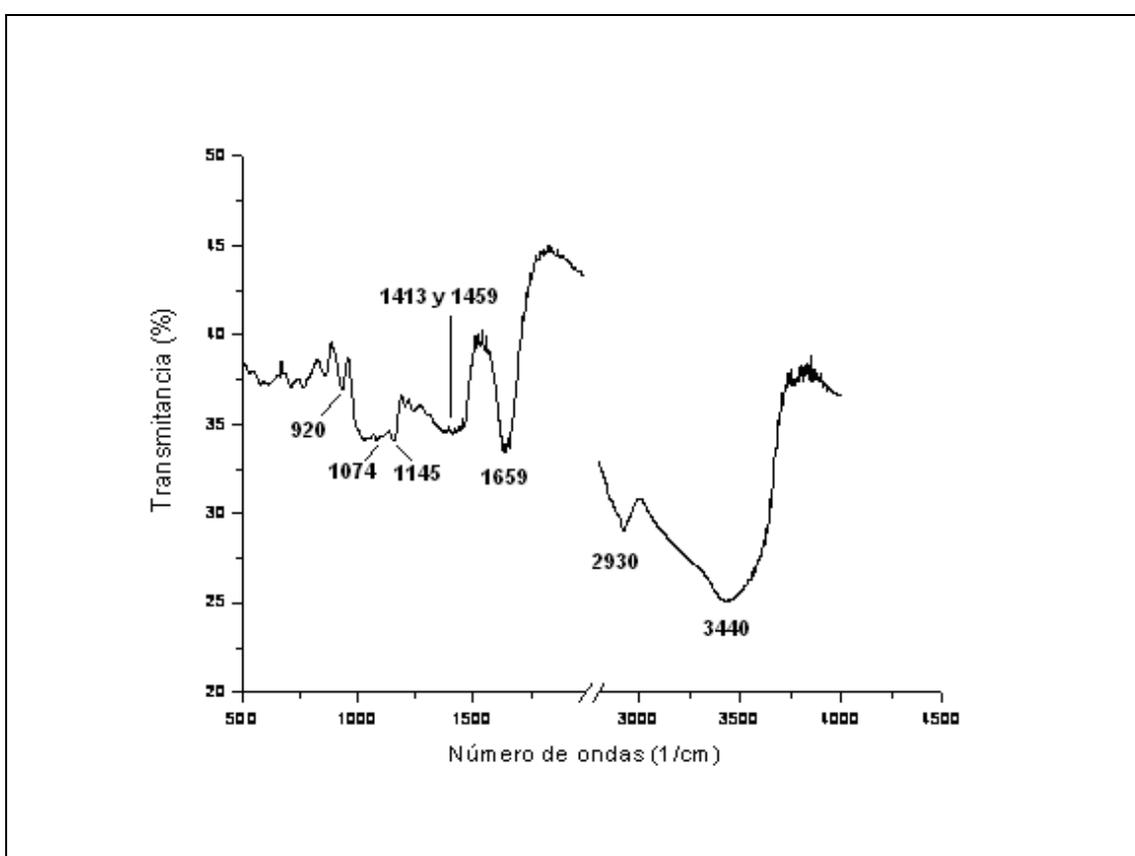


Figura 4.18. Espectros FTIR de películas a base de almidón de maíz nativo.

Los picos localizados en 920 , 1074 y 1145 cm^{-1} corresponden al estiramiento del enlace C-O siendo el pico de 1074 cm^{-1} característico del estiramiento O-C en el anillo de anhidroglucosa (Zhang y Han, 2006). El pico que se observa en 1413 cm^{-1} se atribuye al modo de deformación simétrica del $-\text{CH}_3$ (Salleh y col., 2009). Las bandas que aparecen a 1459 y 1659 cm^{-1} se asignan a las flexiones δ del grupo O-H del agua y del $-\text{CH}_3$, respectivamente (Mano y col., 2003). Estos resultados son comparables con los reportados por otros autores (Zhang y Han, 2006; Fang y col., 2002; Kacuráková y

Wilson, 2001). El pico que aparece a 2930 cm^{-1} es característico del estiramiento del enlace C-H. La banda extremadamente ancha que aparece con una intensidad máxima a 3440 cm^{-1} corresponde a los grupos hidroxilos enlazados por puente hidrógeno. Esta banda corresponde al complejo vibracional de estiramiento asociado con grupos hidroxilos libres, e inter e intramolecularmente enlazados que forman parte de la estructura del almidón (Wu, 2003; Fang y col., 2002). A esta banda contribuyen también los estiramientos de los OH del agua asociada al almidón.

Las películas de almidón de maíz acetilado presentaron las mismas señales que las de almidón nativo (Figura 4.19), mostrando además un pico característico ubicado en 1726 cm^{-1} que corresponde específicamente al estiramiento vibracional del enlace C-O de los grupos acetilo (Demirgöz y col., 2000). Además, Guerra-Della Valle y colaboradores (2008) observaron una disminución en las señales que corresponden a vibraciones por estiramiento ($3000\text{-}3900\text{ cm}^{-1}$) y vibraciones por flexión (1650 cm^{-1}) de los grupos O-H debido a la introducción de los sustituyentes acetilo en el almidón.

El espectro FTIR de las películas mezcla presentó los mismos picos que las películas de almidón nativo y la señal característica a 1726 cm^{-1} correspondiente al grupo acetilo, aunque de menor intensidad que el de las películas de almidón acetilado. Estos resultados demuestran la compatibilidad química de ambos almidones.

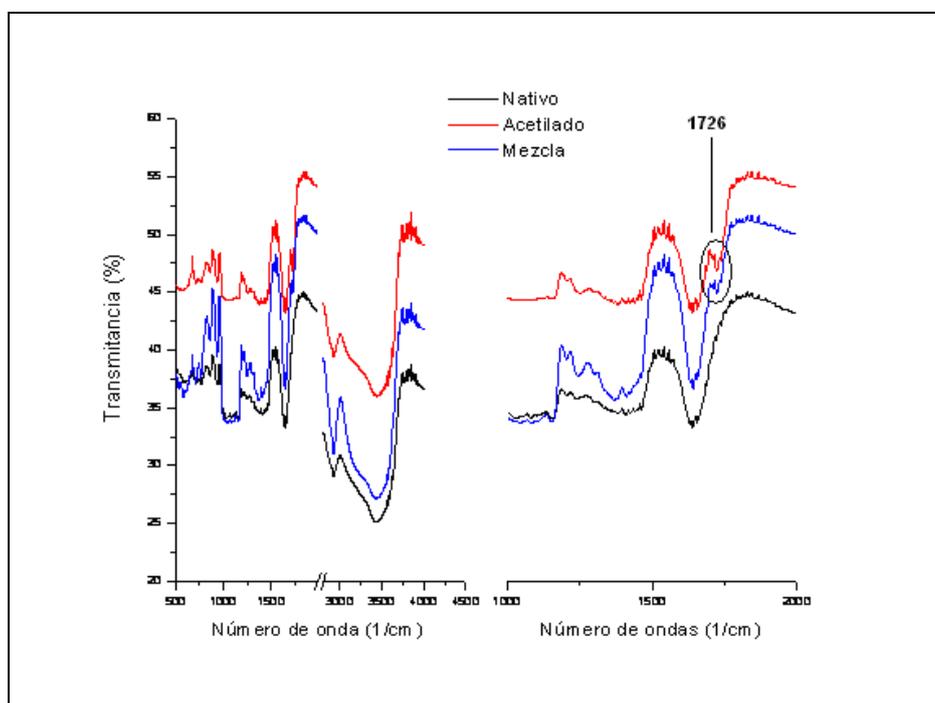


Figura 4.19. Efecto del tipo de almidón en los espectros de FTIR de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y su mezcla.

La Figura 4.20 muestra el efecto del glicerol en los espectros FTIR de las películas a base de almidón de maíz nativo, observándose diferencias en cuanto a la presencia y a la intensidad de algunos picos. El pico ubicado en 3440 cm^{-1} resultó más ancho para las películas con glicerol, lo que indica que en las películas plastificadas hay una mayor cantidad de grupos hidroxilos provenientes del agua y del glicerol que se encuentran formando parte de enlaces puente de hidrógeno con las moléculas de almidón. Estos resultados son consistentes con el aumento observado en el contenido de humedad de equilibrio de las películas plastificadas (Tabla 4.4). Resultados similares fueron informados por Zhang y Hang (2006) en películas de almidón de arvejas plastificadas con 2% p/p de glicerol.

Además, en las películas con glicerol se puede observar un pico ubicado en 1458 cm^{-1} que correspondería al glicerol presente en las muestras (Whilhem y col., 2003); la baja intensidad de esta señal indica que el plastificante agregado resultó químicamente enlazado por las cadenas de almidón y las moléculas de agua.

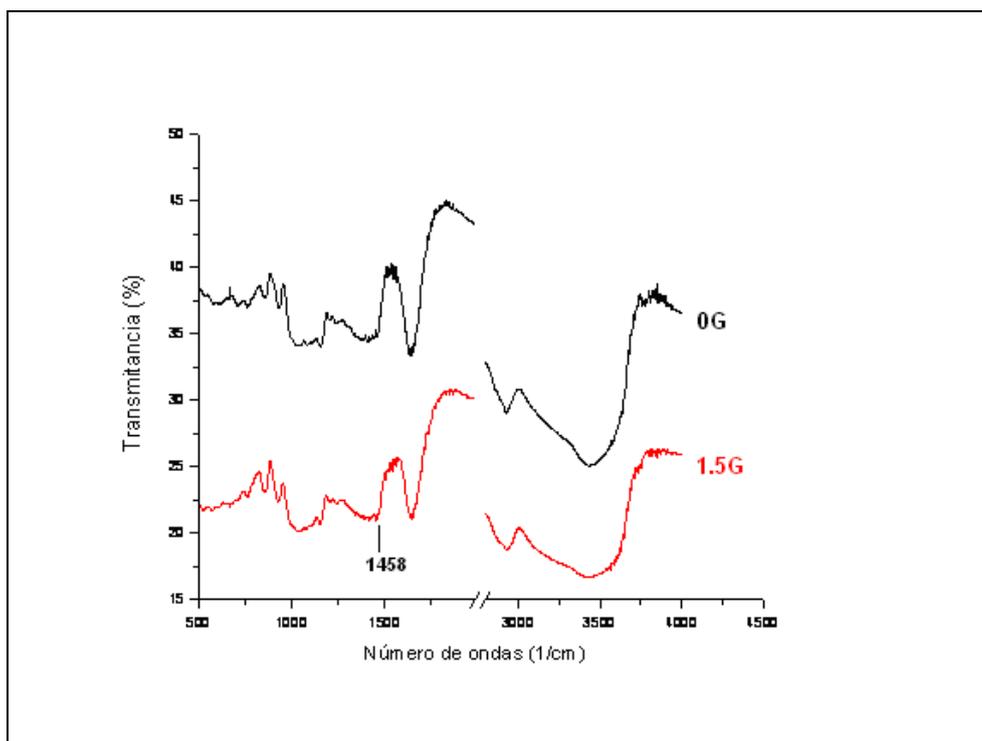


Figura 4.20. Efecto del agregado de 1.5% p/p de glicerol (1.5G) en los espectros de FTIR de películas a base de almidón de maíz nativo.

Los espectros FTIR de las películas de almidón acetilado y mezcla con glicerol, presentaron las mismas diferencias con respecto a los de las películas sin plastificar que las descritas para las películas de almidón nativo.

9. Análisis termo-mecánico

El análisis dinámico mecánico (DMA) provee información sobre las propiedades mecánicas de los sistemas poliméricos sólidos, los mecanismos de relajación y la compatibilidad de las mezclas de polímeros (Demirgöz y col., 2000; Jones, 1999).

El rango de viscoelasticidad lineal resultó ser de 12 μm para todas las formulaciones estudiadas, por lo tanto, los ensayos de barridos de frecuencia en función de la temperatura se realizaron a una amplitud constante de 5 μm .

La Figura 4.21 muestra la dependencia de E' (modulo de almacenamiento), E'' (modulo de pérdida) y $\tan \delta$ con la temperatura de las películas de almidón de maíz acetilado plastificadas con 1.5% de glicerol.

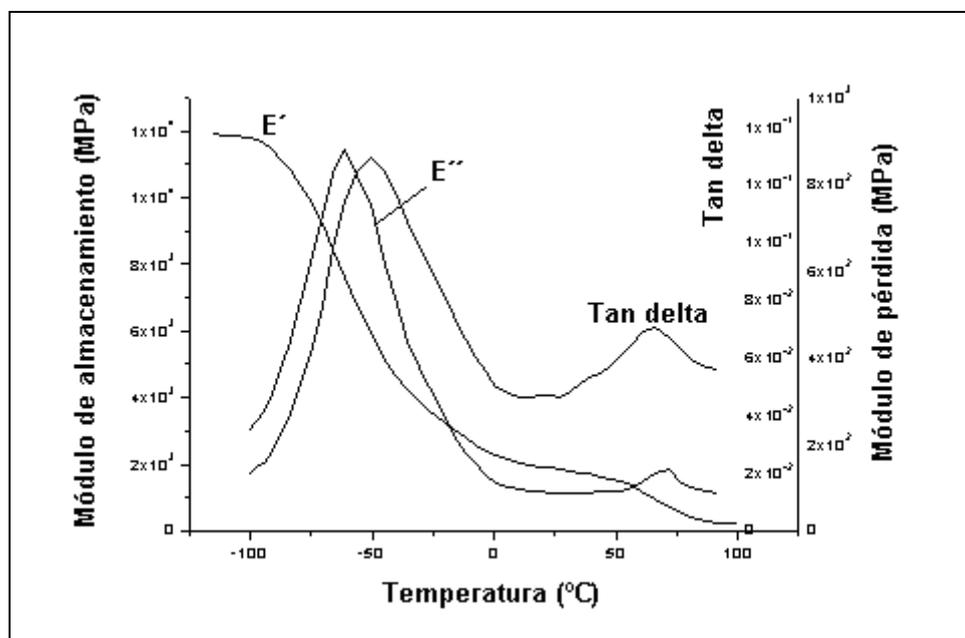


Figura 4.21. Evolución isocrónica del modulo de almacenamiento (E'), módulo de pérdida (E'') y factor de pérdida factor ($\tan \delta$) en función de la temperatura de películas de almidón de maíz acetilado plastificadas con 1.5% p/p de glicerol.

Muchos autores han reportado que las mezclas de almidón-glicerol son sistemas parcialmente miscibles por lo que se observan dos fases, una rica en almidón y otra rica en glicerol (García y col., 2009; Da Roz y col., 2006; Mathew y Dufresne, 2002; Curvelo y col., 2001). Además, Zhang y Han (2006) informaron que la miscibilidad del glicerol en la matriz de almidón se encuentra limitada y depende de la concentración del plastificante. Por lo tanto, los patrones mecánico-dinámicos de las películas plastificadas mostraron dos relajaciones, una localizada alrededor de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (T_1), asociada a la transición vítrea de la fase rica en plastificante (glicerol), y otra alrededor

de 60 °C (T_2), atribuida a la fase rica en almidón (Figura 4.21). La transición alrededor de -50 °C presenta mayor definición e intensidad asociada al cambio que la transición de 60 °C. Estos resultados están de acuerdo con los informados por Jiang y colaboradores (2006) que trabajaron con películas de almidón acetilado termoplástico de tapioca. Una tendencia similar también fue reportada por otros autores para películas formuladas a partir de almidones nativos de diferentes fuentes tales como cebada (Forssell y col., 1997), maíz céreo (García y col., 2009), arvejas (Ma y col., 2009), poroto mung (Hongsprabhas y Israkarn, 2008), mandioca (Famá y col., 2006) y cará (Wilhelm y col., 2003); así como para películas de proteínas plastificadas (Cherian y col., 1995).

Los patrones dinámico-mecánicos de las películas sin plastificar exhibieron una sola relajación, en comparación con las que contenían glicerol; ésto se muestra en las curvas de $\tan \delta$ en la Figura 4.22. Estos resultados concuerdan con los reportados por Biliaderis y colaboradores (1999) quienes informaron que los sistemas formados por un polímero y agua presentan una sola transición.

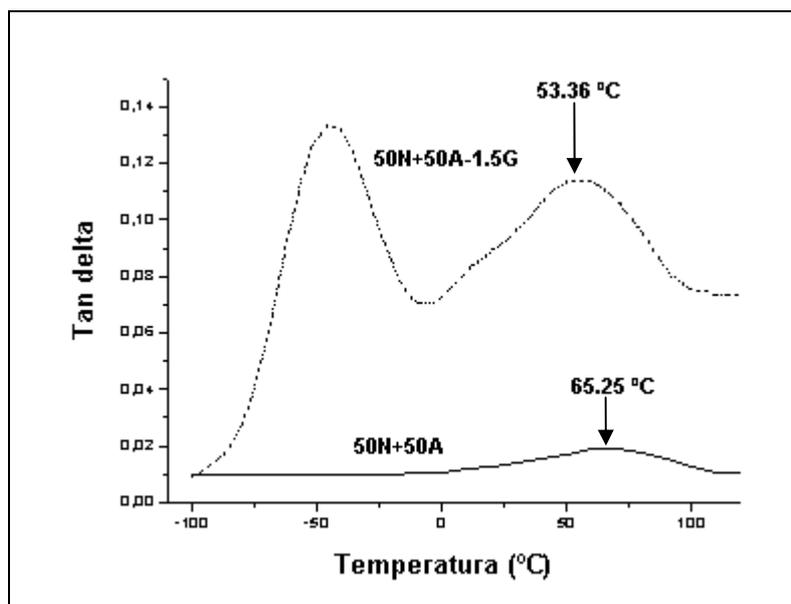


Figura 4.22. Evolución isocrónica del factor de pérdida en función de la temperatura de películas a base de una mezcla de almidón de maíz nativo y acetilado en iguales proporciones sin plastificar (50N+50A) y con 1.5 % p/p de glicerol (50N+50A-1.5G)

En las películas sin plastificar, las temperaturas de relajación de la zona rica en almidón, no se vieron afectadas por el porcentaje de almidón acetilado en la formulación (Figura 4.23). La incorporación de glicerol disminuyó significativamente ($p < 0.05$) las temperaturas de relajación de la fase rica en almidón siendo este efecto más

marcado en las películas de almidón de maíz nativo. Estos resultados coinciden con el efecto ampliamente descrito que ejerce el plastificante sobre las temperaturas de transición vítrea (Sothornvit y Krochta, 2005; Biliaderis y col., 1999; Chartoff, 1981).

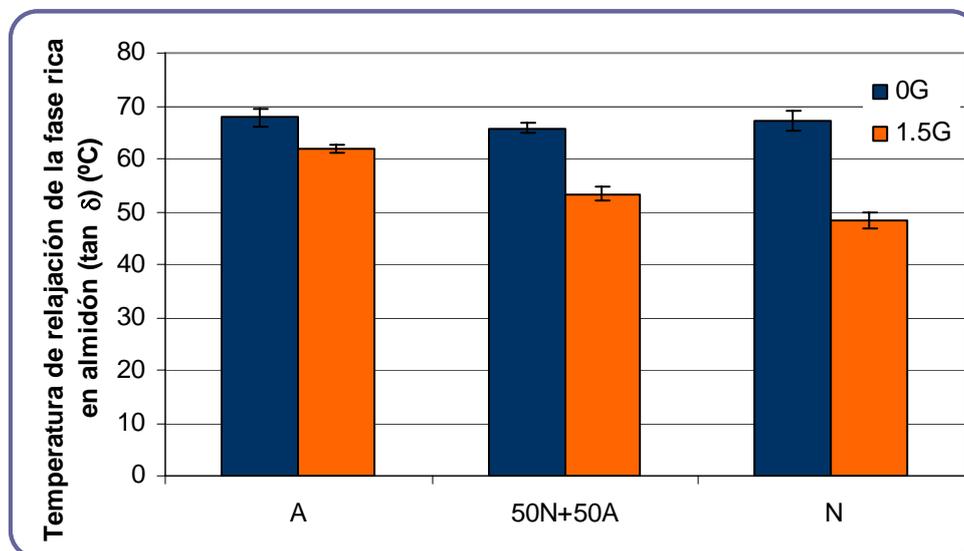


Figura 4.23. Efecto de la composición de la películas sobre la temperatura de relajación de la zona rica en almidón (obtenida a través de las curvas de $\tan \delta$) de películas de almidón de maíz.

En la Tabla 4.9 se informan las temperaturas de relajación de la fase rica en glicerol (T_1) obtenidas para las películas de almidón plastificadas.

Tabla 4.9. Temperaturas de relajación (T_1) asociadas a la transición vítrea de la fase rica en glicerol de películas de almidón de maíz con 1.5% p/p de glicerol determinadas por DMA (10 Hz).

Composición de la película plastificada con 1.5% p/p de glicerol	Temperatura de relajación (T_1) asociada a la transición vítrea de la fase rica en glicerol (°C)		
	Inflexión del módulo de almacenamiento (E')	Máximo del módulo de pérdida (E'')	Máximo de $\tan \delta$
N	-60.92±0.01	-61.06±4.11	-52.24±0.30
50N+50A	-56.90±3.94	-55.67±0.14	-45.03±0.42
A	-58.85±1.73	-56.28±1.75	-48.78±1.63

Las películas formuladas a partir de la mezcla de ambos almidones mostraron las temperaturas de relajación más altas comparadas con las de las películas de almidón

nativo y acetilado. El efecto de la adición de glicerol se debe a la formación de enlaces puente hidrógeno entre las moléculas del plastificante y las cadenas poliméricas, a mayor interacción menor temperatura de relajación (T_1). En el caso de las películas obtenidas a partir de la mezcla, la interacción de los polímeros base con el glicerol es menor, lo cual podría explicar las mayores temperaturas de relajación obtenidas (Tabla 4.9).

La temperatura a la cual ocurre la relajación depende de la frecuencia utilizada en el ensayo. Este efecto es ilustrado para la fase rica en glicerol de las películas de almidón de maíz nativo plastificadas con 1.5% p/p de glicerol (Tabla 4.10, Figura 4.24).

Tabla 4. 10. Módulo de almacenamiento (E'), de pérdida (E'') y factor de pérdida ($\tan \delta$) en función de la temperatura a diferentes frecuencias de la fase rica en glicerol de películas de almidón de maíz nativo con 1.5% p/p de glicerol

<i>Frecuencia</i> (Hz)	<i>Temperatura de relajación (T_1) asociada a la temperatura de transición vítrea de la fase rica en glicerol ($^{\circ}$C)</i>		
	<i>Inflexión del módulo de almacenamiento (E')</i>	<i>Máximo del módulo de pérdida (E'')</i>	<i>Máximo de $\tan \delta$</i>
<i>1</i>	-63.92	-66.71	-61.13
<i>3</i>	-62.80	-65.71	-54.33
<i>5</i>	-61.73	-58.96	-53.56
<i>10</i>	-60.85	-58.16	-52.45
<i>15</i>	-59.92	-57.26	-45.78

El punto de inflexión de la curva de E' como así también el pico máximo en las curvas de E'' y $\tan \delta$ se desplazaron a temperaturas más altas a medida que la frecuencia aumentaba (Tabla 4.10, Figura 4.24). Esta tendencia también fue observada por Biliaderis y colaboradores (1999) trabajando con películas mezcla de pululano-almidón. Además, Ma y colaboradores (2009) expresaron que el factor de pérdida resultó sensible al movimiento molecular.

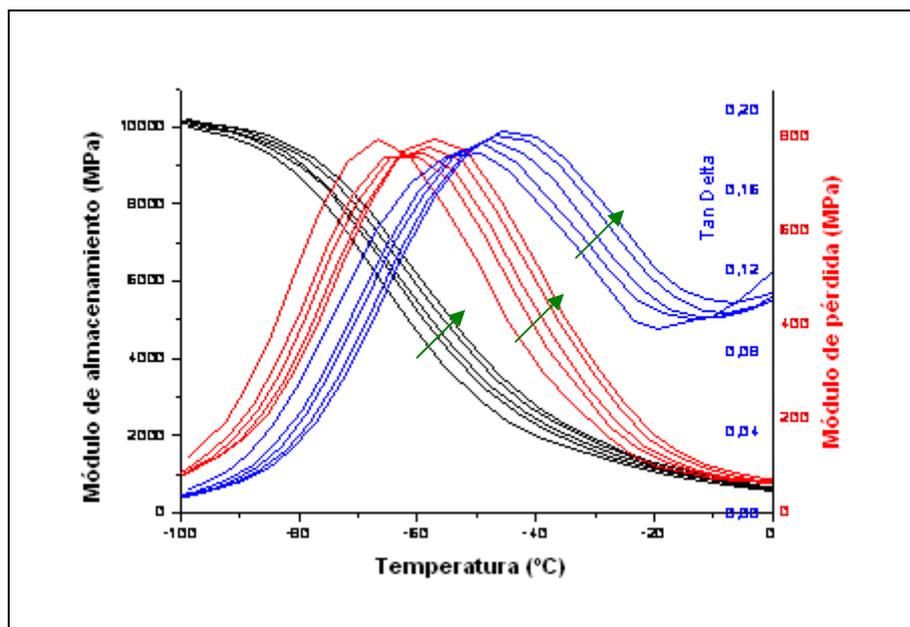


Figura 4.24. Efecto de la frecuencia del ensayo sobre la temperatura de relajación de la fase rica en glicerol de películas de almidón de maíz nativo plastificadas con 1.5% p/p de glicerol. La flecha indica la dirección en la que aumenta la frecuencia desde 1 hasta 15 Hz.

La energía de activación aparente (ΔH_a) para la transición puede ser determinada a partir de la ecuación de Arrhenius:

$$\ln f = -\frac{\Delta H_a}{RT_1} \quad [4.15]$$

donde f es la frecuencia de oscilación mecánica (1-15 Hz), ΔH_a es la energía de activación aparente, R es la constante universal de los gases y T_1 es la temperatura de relajación asociada a la transición vítrea de la zona rica en glicerol.

El ajuste matemático de la ecuación de Arrhenius a los datos experimentales de la temperatura de relajación asociada a los valores de T_g de la fase rica en glicerol, en función de la frecuencia se muestra en la Figura 4.25. Se encontró una correlación satisfactoria ($r^2 > 0.94$) para las películas plastificadas de los distintos tipos de almidón de maíz. Los valores de las energías de activación aparente obtenidos (Figura 4.25) se encuentran dentro del rango de los datos reportados en la literatura (102 - 400.3 kJ/mol) para las películas a base de almidón de maíz plastificadas y dependen de la composición de la formulación (Zhang y Han, 2006; Lazaridou y Biliaderis, 2002; Biliaderis y col., 1999). Aunque los valores de ΔH_a obtenidos son similares, el mayor valor

correspondiente a las películas de almidón acetilado (289.30 KJ/mol) podría indicar que las cadenas poliméricas de este almidón requieren más energía del medio para superar las fuerzas cohesivas. Además, en el comportamiento mecánico de estas películas, descrito en el Capítulo 3, se muestran evidencias de este refuerzo de la matriz de almidón acetilado.

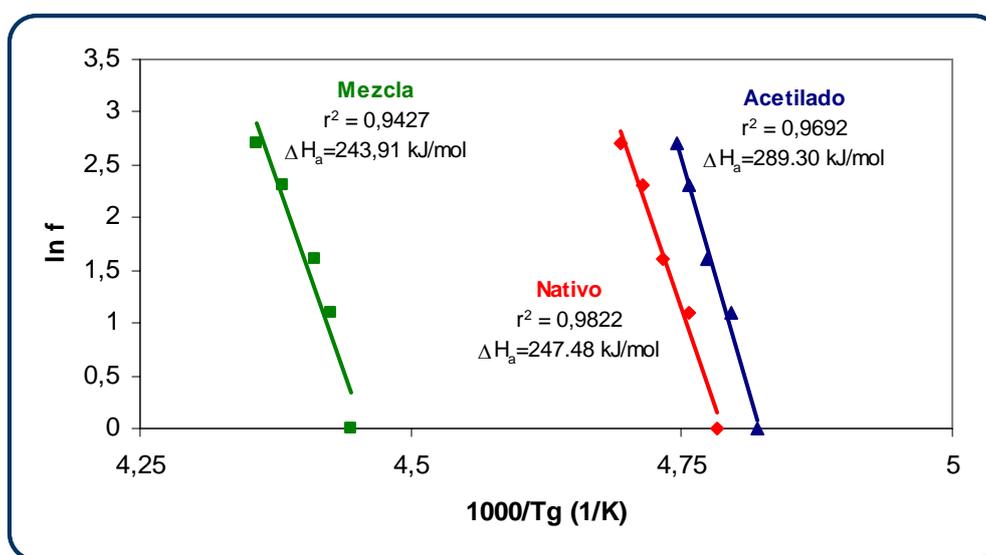


Figura 4.25. Efecto de la frecuencia sobre la temperatura de relajación de la fase rica en glicerol de películas de almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones, con 1.5% p/p de glicerol.

Los análisis realizados en el DSC permitieron la determinación de la Tg de las películas sin plastificar; los resultados obtenidos fueron 74.8 ± 2.4 °C para las películas de almidón nativo; 71.7 ± 3.2 °C para las de almidón acetilado y 71.5 ± 3.5 °C para las de la mezcla. Los valores de Tg obtenidos por DSC están de acuerdo con las temperaturas de relajación determinadas por DMA (Figura 4.23) para las películas sin plastificar, además estas temperaturas no se vieron significativamente afectadas por el tipo de almidón utilizado en la formulación de las películas.

En el caso de las películas plastificadas, los valores de Tg no pudieron ser detectados por DSC, a pesar de haber realizado dos ciclos consecutivos de calentamiento. Muchos autores describieron que este procedimiento ayuda a la detección de Tg por DSC (Rivero y colab., 2010; Famá y colab., 2006). La detección de Tg por DSC de películas de almidón es dificultosa ya que los cambios en la capacidad calorífica o la señal del flujo de calor usualmente es más débil que en el caso de otros polímeros convencionales.

Por lo tanto, para las películas plastificadas fue necesario utilizar la técnica de DSC con temperatura modulada (MTDSC). De Meuter y colaboradores (1999) reportaron que esta técnica es más adecuada para la detección de Tg en materiales de almidón termoplástico. Los valores de Tg de las películas plastificadas resultaron alrededor de 30% más bajos que los de las películas sin plastificar, debido al efecto del glicerol sobre las matrices de almidón. La transición térmica observada por MTDSC resultó débil y ancha; por lo tanto la detección de la temperatura de transición de la fase rica en almidón fue más fácil por DMA ya que los cambios en las señales asociadas resultaron más definidos.

10. Permeabilidad al O₂ y al CO₂

Los resultados de permeabilidad a los gases para las películas a base de almidón de maíz desarrollados en esta Tesis se presentan en la Tabla 4.11.

Tabla 4.11. Permeabilidad al O₂ y al CO₂ de películas a base de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A) con 1.5% p/p de glicerol (1.5G).

<i>Composición de la película</i>	<i>Permeabilidad al O₂ x 10¹⁰ (cm³/m seg Pa)</i>	<i>Permeabilidad al CO₂ x 10⁹ (cm³/m seg Pa)</i>	<i>Coefficiente de selectividad (β) P_{CO2}/P_{O2}</i>
<i>N-1.5G</i>	3.97±0.05	5.37±0.27	13.51
<i>50N+50A-1.5G</i>	3.40±0.04	4.72±0.27	13.87
<i>A-1.5G</i>	3.12±0.05	4.03±0.02	12.92

Sólo se informan los valores para las películas plastificadas; la determinación de las permeabilidades en las matrices sin plastificar fue imposible ya que el ensayo requiere aproximadamente 48 hs de circulación de los gases antes de que éstos comiencen a permear a través de las películas y la rigidez y fragilidad de estos materiales imposibilitó la determinación.

La composición afectó significativamente (p<0.05) las permeabilidades a los gases de las películas. Según Pascat (1986) la naturaleza del polímero (estructura química, cristalinidad, tamaño de las cadenas, densidad, ramificaciones, peso molecular y grado de polimerización) que forma la matriz es uno de los factores más importantes que afectan la difusión de los gases. Los menores valores de permeabilidad a los gases se obtuvieron para las películas desarrolladas a partir de almidón acetilado, mientras que

las películas formuladas a partir de la mezcla presentaron permeabilidades intermedias, confirmando nuevamente la compatibilidad entre ambos componentes. Miller y Krochta (1997) informaron que la presencia de diferentes grupos funcionales en la estructura de un polímero influye en la solubilidad del gas permeante y por lo tanto afecta la permeabilidad de las películas. Esta misma tendencia se observó para la permeabilidad al vapor de agua de las películas en estudio informadas en el Capítulo 3.

Estos resultados concuerdan además con la morfología de las películas analizadas por SEM donde se observó que las que contenían almidón acetilado eran más homogéneas y compactas que las de almidón nativo, disminuyendo así la permeabilidad de las mismas. La comparación de los resultados obtenidos con datos bibliográficos resulta dificultosa ya que existen numerosos factores que afectan el fenómeno de permeabilidad de las películas. Los valores obtenidos para películas de almidón de maíz nativo concuerdan con los informados por García y colaboradores (1998) para películas de almidón de maíz plastificadas con glicerol en una concentración similar a la utilizada en el presente trabajo de Tesis, siendo la permeabilidad al CO₂ de 5.69×10^{-9} cm³/m s Pa y al O₂ de 4.61×10^{-10} cm³/m s Pa. Por otra parte, Gaudin y colaboradores (1999) reportaron una permeabilidad al O₂ de 1.4×10^{-14} cm³/m s Pa para películas de almidón de trigo sin plastificar, determinado utilizando el equipo Oxtran, específico para este análisis. Películas a base de proteína de soja presentaron un valor de permeabilidad al oxígeno de 6×10^{-13} cm³/m s Pa según Cho y colaboradores (2010).

Con respecto a los materiales sintéticos, en la literatura se informan valores de permeabilidad al CO₂ para películas de LDPE de 2.1×10^{-10} cm³/m s Pa y para O₂ de 5.18×10^{-11} cm³/m s Pa, mientras que para el caso de películas de HDPE los datos informados fueron 3.22×10^{-11} y 8.25×10^{-12} cm³/m s Pa, respectivamente (Piringer, 2000).

Por otra parte, la permeabilidad al O₂ resultó mucho menor que al CO₂ para las tres formulaciones ensayadas (Tabla 4.11). Según Pascat (1986) existen muchos parámetros concernientes a la naturaleza del gas permeante que afectan la permeabilidad del mismo a través de una red polimérica. La permeabilidad selectiva de las películas de almidón estudiadas se puede atribuir principalmente a la mayor solubilidad del dióxido de carbono en las mismas. A partir del cálculo de los coeficientes de selectividad (β), informados en la Tabla 4.11, se pudo determinar que este parámetro no se vio afectado por la composición de las mismas. Esta es una característica distintiva de las películas biodegradables respecto a las sintéticas, ya que el factor de selectividad es de 4.2 para

LDPE y 4 para HDPE mientras que las películas desarrolladas presentaron valores mayores que 13. La selectividad gaseosa es una propiedad muy útil en el desarrollo de envases para alimentos. El intercambio gaseoso selectivo a través de la película es capaz de mantener una atmósfera modificada adecuada dentro del envase que permite controlar las reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas, evitando o minimizando las principales degradaciones que se producen durante el almacenamiento, incrementando así la vida útil de los alimentos.

11. Propiedades ópticas

La opacidad y el color superficial son dos factores importantes que determinan la apariencia de las películas.

En la Figura 4.26 se muestra el espectro en la región del UV-visible correspondiente a una película de almidón mezcla (50N+50A) sin glicerol.

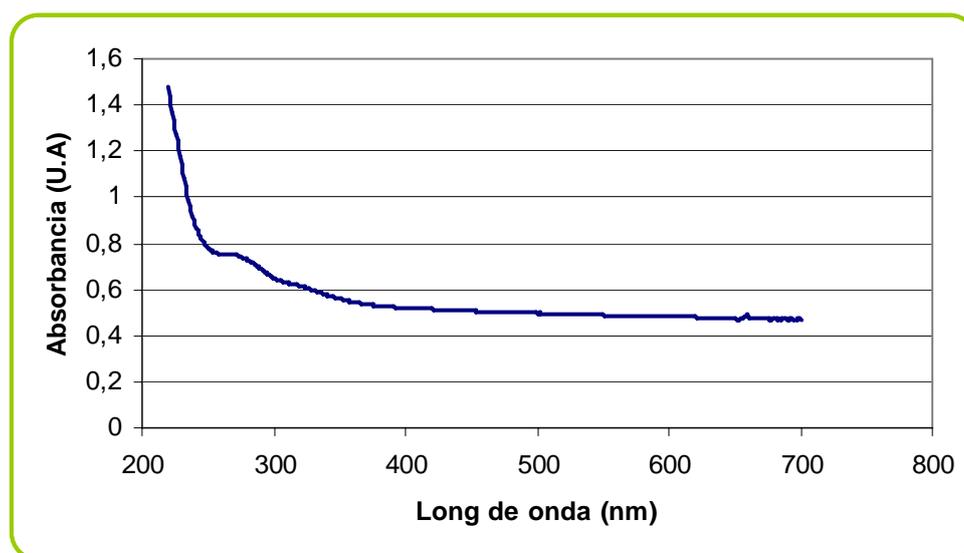


Figura 4.26. Espectro de absorción UV-visible de una película a base de una mezcla de almidón de maíz nativo y acetilado en iguales proporciones sin plastificar.

Las películas sin plastificante resultaron menos opacas que las plastificadas, independientemente del tipo de almidón (Tabla 4.12). Además, las películas de almidón acetilado resultaron significativamente ($p < 0.05$) más transparentes que las del nativo mientras que las de la mezcla presentaron una opacidad intermedia.

Tabla 4.12. Opacidad de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), sin glicerol y con 1.5% p/p de glicerol.

<i>Composición de la película</i>		<i>Opacidad (AU x nm)</i>
<i>Almidón</i>	<i>Glicerol (% p/p)</i>	
<i>N</i>	<i>0</i>	159.14±2.08
	<i>1.5</i>	170.29±2.16
<i>50N+50A</i>	<i>0</i>	136.25±5.58
	<i>1.5</i>	150.91±2.61
<i>A</i>	<i>0</i>	67.43±4.38
	<i>1.5</i>	80.18±4.85

La opacidad depende del grado de cristalinidad del material, generalmente, materiales más cristalinos resultan más transparentes. Miles y colaboradores (1985a y b) explicaron que el desarrollo de opacidad en geles de almidón está relacionado con una separación irreversible de fases en dos regiones: una deficiente y otra rica en polímero, donde mayormente ocurre la cristalización. Así, las películas con glicerol, que presentaron menor grado de cristalinidad, resultaron ser más opacas que las sin plastificar (Tabla 4.12), siendo esta diferencia significativa ($p < 0.05$). Resultados similares fueron informados para películas de amilomaíz (Bertuzzi y col. 2007) y para películas de proteínas de gluten (Gontard y col., 1992).

Sin embargo la cristalinidad del material no explica el efecto observado del tipo de almidón sobre la opacidad ya que las películas de almidón acetilado, que presentaron los valores de opacidad más bajos resultaron ser las menos cristalinas.

El desarrollo de color superficial se evaluó tanto sobre la cara expuesta al aire durante el secado como en la cara que se encontraba en contacto con el molde, observándose diferencias significativas ($p < 0.05$) en la luminosidad para la mayoría de las formulaciones ensayadas. Las variaciones en este parámetro fueron las que más contribuyeron a las diferencias de color de las películas analizadas, (Figura 4.27). Además, cabe destacar que los bajos valores de diferencia de color registrados para las películas a base de almidón indican que estos materiales son prácticamente incoloros, a diferencia de las películas de proteínas para los cuales se han informado valores de ΔE de 16.24 para proteína de soja y 67.85 para proteína de girasol (Salgado y col., 2010).

Esta es una característica altamente beneficiosa en el caso del desarrollo de envases en los cuales el producto deba ser visible tales como vegetales mínimamente procesados, donde la visibilidad condiciona la aceptabilidad del producto.

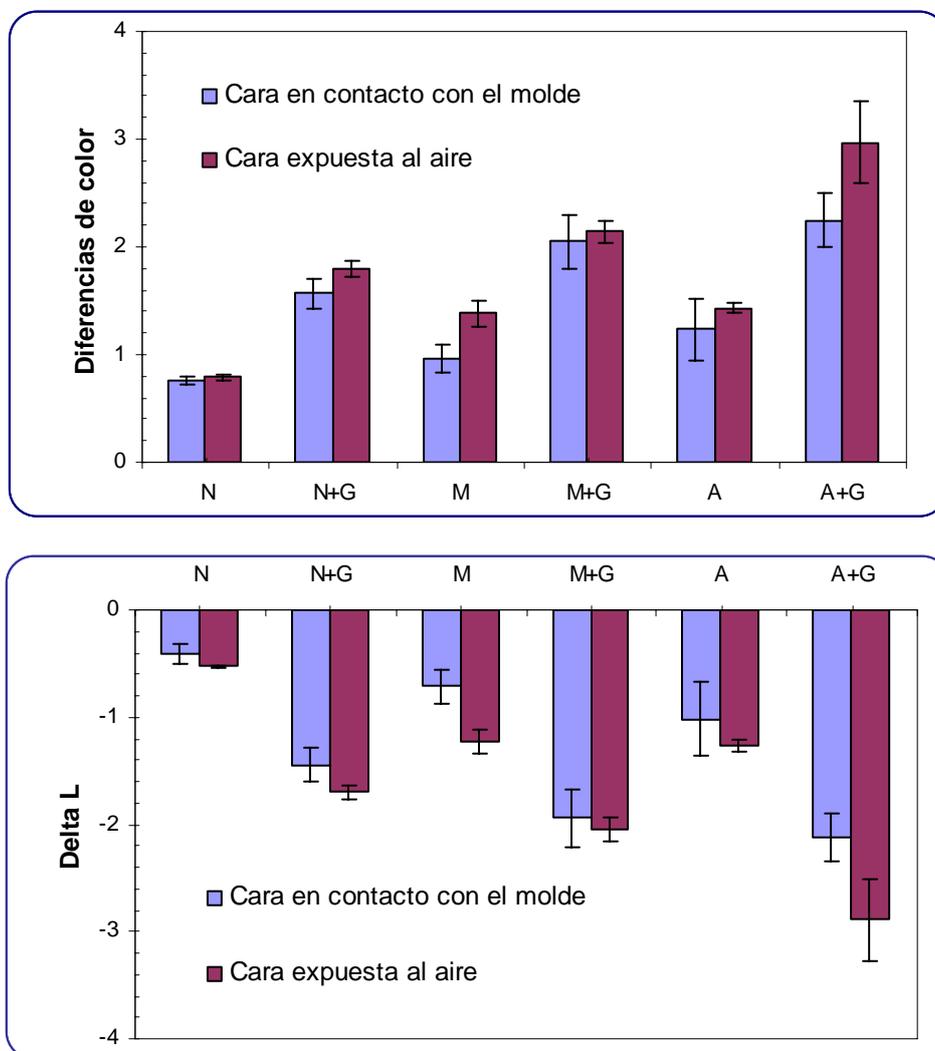


Figura 4.27. Diferencias de color y variación del parámetro de luminosidad de películas a base de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (M), sin glicerol y con 1.5% p/p de glicerol (G)

Respecto a la influencia de la composición en los parámetros de color se observó que el agregado de plastificante disminuyó la luminosidad de las películas (mayores valores de ΔL), resultados que concuerdan con los de opacidad, previamente descriptos.

En general, la cara de la película expuesta al aire fue más opaca que la que estuvo en contacto con el molde. Esta diferencia se correlaciona con las obtenidas por SEM y AFM ya que las superficies secadas en contacto con la placa de moldeo, más lisas y

menos rugosas, poseen mayor poder de reflexión de la luz, que se refleja en el brillo de las mismas, característica evaluada a través del parámetro de luminosidad.

12. Biodegradabilidad

Una de las principales razones para el desarrollo de nuevos materiales provenientes de fuentes naturales renovables, es la posibilidad de reducir la cantidad de residuos plásticos. La ventaja que tienen estos materiales es que son considerados biodegradables ya que luego de ser utilizados se descomponen bajo ciertas condiciones, en un período relativamente breve. En este trabajo de Tesis se evaluó la biodegradabilidad de las películas desarrolladas bajo condiciones que simulaban ambientes naturales. Sólo se realizó el estudio de biodegradabilidad de las películas plastificadas ya que las películas sin glicerol presentan aplicaciones muy limitadas debido principalmente a sus características mecánicas. Existen en la bibliografía diferentes métodos de evaluación de la biodegradabilidad de películas. Entre ellos se destacan la evolución del CO₂ liberado por acción de los microorganismos en condiciones controladas y la medición de las propiedades mecánicas a lo largo del tiempo de experimentación (Orhan y Büyükgüngör, 2000). Esta última metodología resultó inaplicable en el caso de las películas en estudio dada su elevada tasa de degradación. En el presente trabajo de Tesis se evaluó la biodegradación a través del seguimiento de la pérdida de peso de la muestra a lo largo de un período de degradación. Ishigaki y colaboradores (2004) y Biakiaris y colaboradores (1998) reportaron que la variación de peso es un buen indicador de la degradabilidad de materiales poliméricos.

El tiempo de incubación de las muestras no superó los 48 días ya que pasado este período resultaba muy dificultoso recuperarlas y acondicionarlas para pesarlas.

La Figura 4.28 muestra la pérdida de peso de las películas luego de estar en contacto con compost orgánico durante 48 días en las cuatro condiciones ensayadas (luz natural; luz natural+riego; oscuridad y oscuridad+riego). Se puede observar que la combinación de luz y riego aumentó la pérdida de peso de todas las muestras ensayadas, lo que indicó una mayor tasa de biodegradación de estos materiales.

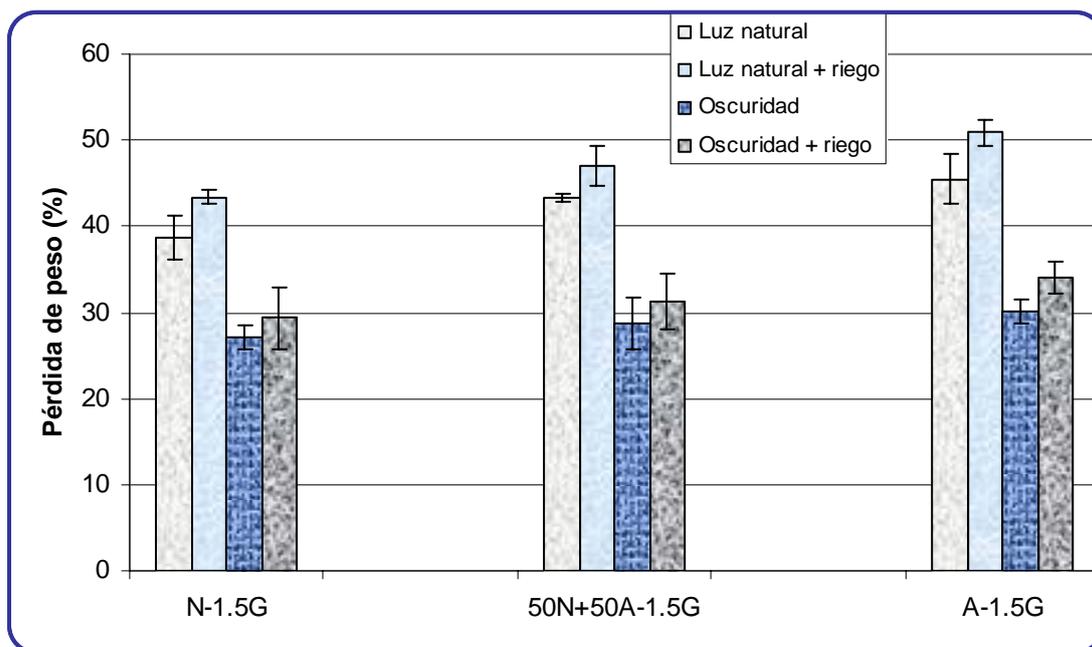


Figura 4.28. Pérdida de peso de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) incubadas a 20 °C en compost orgánico durante 48 días.

La Figura 4.29 muestra la evolución de la pérdida de peso de las películas incubadas en condiciones de luz natural y riego. Se observó que hasta el día 15 de almacenamiento no se registraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la pérdida de peso de las tres formulaciones ensayadas. A partir del día 15 la mayor pérdida de peso en estas condiciones correspondió a las películas de almidón de maíz acetilado. Según Merchán y colaboradores (2009) uno de los factores que más afectan la degradación de las películas es su cristalinidad. Así los resultados obtenidos por DRX, que indican que las películas de almidón acetilado presentan un menor grado de cristalinidad, concuerdan con los resultados obtenidos en los ensayos de biodegradabilidad. La región amorfa, conformada por las cadenas de amilosa, absorbe grandes cantidades de agua, haciéndola más susceptible al ataque de los microorganismos aumentando así la tasa de biodegradación (Myllärinen, y col., 2002). Otro factor importante que contribuye a la biodegradabilidad es la capacidad de absorción de agua del material ya que facilita el cultivo de bacterias y hongos degradantes del almidón, además de catalizar la acción de enzimas que rompen los enlaces entre las moléculas de glucosa de las cadenas constituyentes del almidón. Sin embargo, este factor no fue relevante en la biodegradación de las películas estudiadas ya que, como se describió previamente, el

tipo de almidón utilizado no afectó el contenido de humedad de las películas ni su comportamiento de sorción.

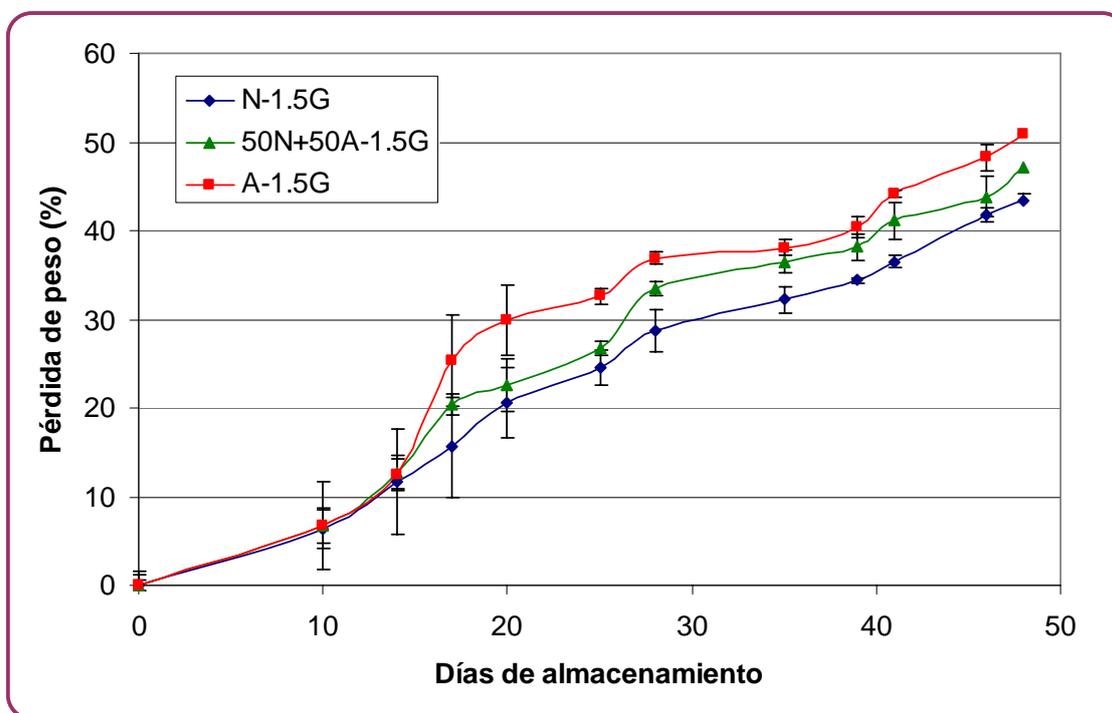


Figura 4.29. Pérdida de peso de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) incubadas a 20 °C en compost orgánico con luz natural y riego.

La apariencia de las películas de almidón de maíz nativo durante el ensayo de biodegradabilidad se puede observar en la Figura 4.30.

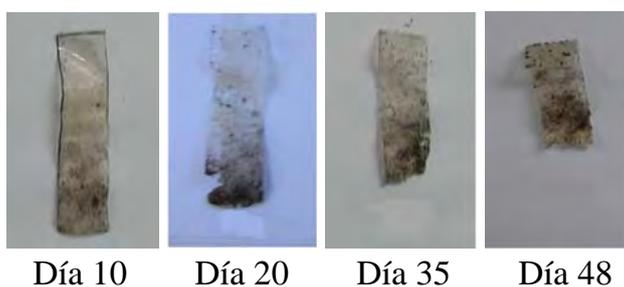


Figura 4.30. Fotografías de películas de almidón de maíz nativo con 1.5% p/p de glicerol, incubadas a 20 °C en compost orgánico con luz natural y riego.

13. Capacidad de termosellado

Las películas a base de almidón fueron selladas mediante la técnica de impulso, ampliamente usada en el cierre de películas sintéticas flexibles (Brody y Marsh, 1997), donde la termoselladora se calienta hasta la temperatura de fusión por acción de un impulso eléctrico corto. Se eligió la selladora de impulso de alambre en lugar de la de barra ya que ésta permite que el cierre se enfríe antes de que las tijeras se abran mejorando así la resistencia del mismo (Brody y Marsh, 1997; Osborn y Jenkins, 1992). Se evaluó la capacidad de termosellado de las películas desarrolladas y se observó que el cierre de mejor calidad se obtuvo a 154 °C durante 1.84 seg para todas las formulaciones. Un cierre de buena calidad determina la integridad del envase y se obtiene cuando la interacción molecular entre las capas individuales es suficiente para destruir la interfase y permitir la formación de una nueva capa homogénea (Cho y col., 2007).

La Figura 4.31 muestra las curvas típicas y los modos de falla asociados obtenidos a partir de los ensayos de resistencia del termosellado. Las películas sin plastificar exhibieron rupturas cerca del cierre, mientras que las plastificadas presentaron fallas adhesivas (Figura 4.31).

Las películas formuladas con almidón acetilado exhibieron valores más altos de máxima resistencia a la tracción comparado con las de almidón nativo, mientras que se observó un comportamiento intermedio para las películas mezcla (Figura 4.32). Según Lacroix (2009) cuando se incorporan grupos funcionales tales como hidroxilos, aldehídos y ácidos carboxílicos se modifican las fuerzas de adhesión de las películas. Un efecto similar fue descrito por Possart y Deckhoff (1999) en películas de polietileno; el mejoramiento de la fuerza del sellado se atribuyó al incremento de la interacción de las cadenas debido a la incorporación de grupos funcionales que contenían nitrógeno y oxígeno. La adición de glicerol no modificó esta tendencia ya que las películas plastificadas de almidón acetilado exhibieron valores estadísticamente ($p < 0.05$) mayores de resistencia media del termosellado que las de almidón nativo, (Figura 4.32). Además, las energías necesarias para causar las fallas adhesivas de las películas de almidón nativo y de la mezcla fueron similares, mientras que las correspondientes al almidón acetilado presentaron valores más altos. Nuevamente, esto se atribuye a la mayor resistencia de la matriz de las películas de almidón acetilado debido al refuerzo de la estructura por la incorporación de grupos sustituyentes.

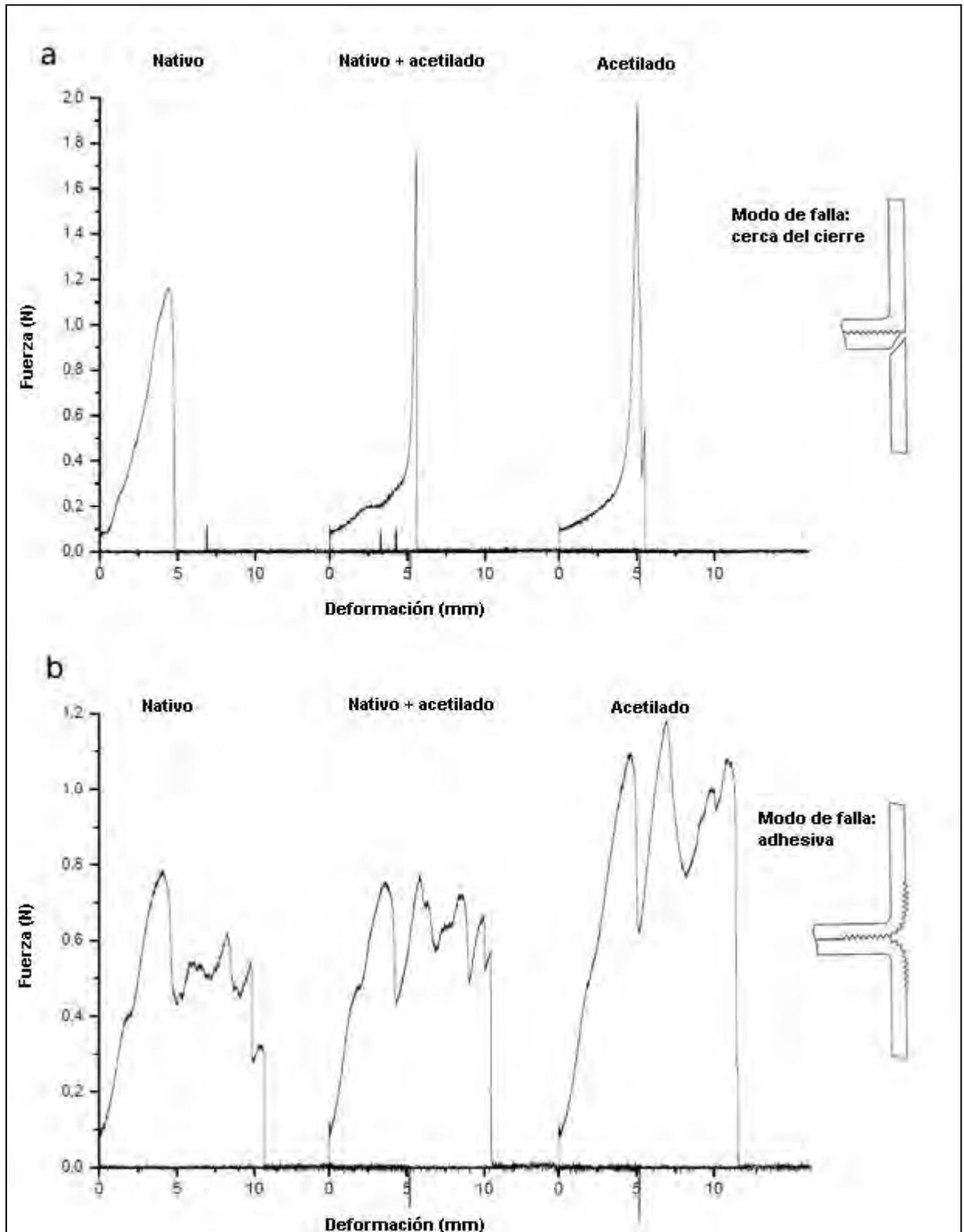


Figura 4.31. Curvas típicas de resistencia del termosellado y los modos de falla asociados de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones. a) Películas sin plastificador y b) Películas con 1.5% p/p de glicerol.

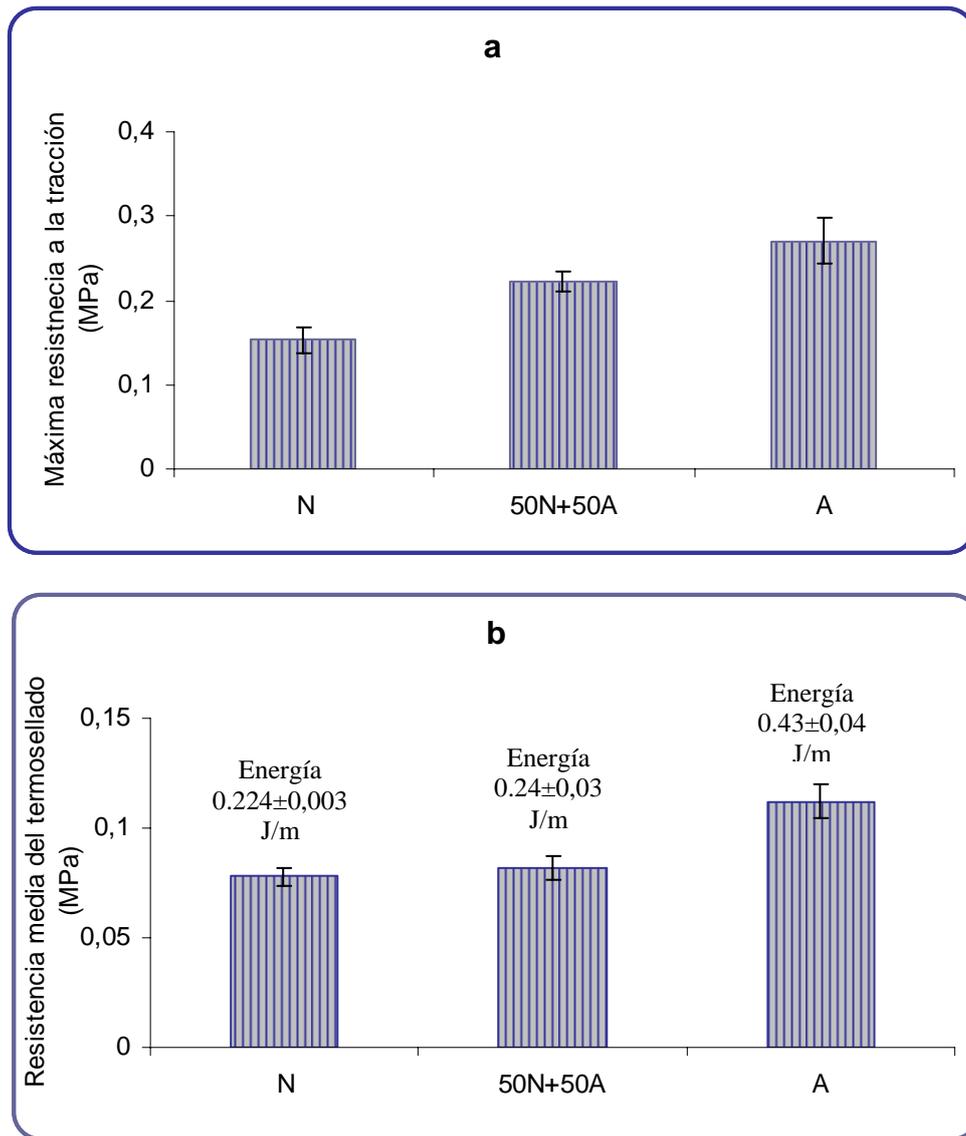


Figura 4.32. Resistencia del termosellado de películas a base de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A). a) Máxima resistencia a la tracción de películas sin plastificar. b) Resistencia media del termosellado de películas con 1.5% p/p de glicerol y la energía necesaria para causar la falla adhesiva.

Capítulo 4:
PELÍCULAS OBTENIDAS
POR EXTRUSIÓN Y
SOPLADO

INTRODUCCIÓN

1. Almidón termoplástico

El almidón termoplástico (TPS) se obtiene a partir de la modificación estructural de los gránulos de almidón cuando son procesados bajo la acción de fuerzas térmicas y mecánicas, con un bajo contenido de agua y en presencia de plastificantes que no se evaporan fácilmente durante el procesamiento (Bastioli, 2001). El TPS es un material biodegradable, proveniente de fuentes renovables que se puede adaptar muy fácilmente a diferentes procesos empleando equipos estándares utilizados en la fabricación de polímeros sintéticos, tales como extrusión por soplado, moldeo por inyección, moldeo por compresión, extrusión de película plana y por moldeo (Zhai y col., 2003, Van Soest y col., 1996).

En la última década ha aumentado el interés en la utilización de TPS obtenidos a partir del procesamiento de almidones nativos para desarrollar bolsas desechables, recipientes, vasos, cucharas, tenedores, cuchillos y bolsas para la basura (Shamekin y col., 2002). Sin embargo, estos materiales presentan problemas provocados por su rigidez y fragilidad debido principalmente a su higroscopicidad (Forssell y col., 1999). La modificación del almidón a través de la esterificación, eterificación y la oxidación antes del proceso de termo-plastificación, reduce la sensibilidad al agua y mejora las propiedades mecánicas y de barrera de los materiales TPS obtenidos (Gaspar y col., 2005; Wesslén y Wesslén, 2002; Seidenstücker y Fritz, 1999). Así, la utilización de almidones modificados, específicamente almidones sustituidos, permitiría mejorar la estabilidad estructural de los materiales termoplásticos.

Las formulaciones generalmente incluyen plastificantes que en el caso del proceso de extrusión tienen el rol adicional de actuar como lubricantes del tornillo; en general su concentración varía entre 10 y 50%. Existe una gran variedad de plastificantes que se utilizan para la obtención de TPS, tales como azúcares, polialcoholes, aminoácidos, lípidos, sorbatos y fosfatos (Fama y col., 2005; Petersson y Standing, 2005; Parra y col., 2004; De Graaf y col., 2003; Kittiwut y col., 2003; Nashed y col., 2003). Además, los plastificantes mejoran las propiedades mecánicas de las películas de TPS y permiten que éstas se mantengan estables durante 25-30 días de almacenamiento (Ma y col., 2007; Orts y col., 2007; Shi y col., 2007; Wilpiszewska y Szychaj, 2007; Follain y col., 2005; Ma y Yu, 2004; Smits y col., 2003; Fang y col., 2002; Myllärinen y col., 2002; Van Soest y col., 1996).

Las características del almidón, el tipo de plastificante como así también las condiciones mecánicas y térmicas del proceso de termo-plastificación permiten obtener TPS con características distintivas (Van Soest y Essers, 1997).

2. Moldeo por extrusión de almidón

Mediante el proceso de extrusión, las condiciones de alta temperatura, presión y cizalla producida por la velocidad del tornillo, se logra la depolimerización interna del almidón, tanto de la amilosa como de la amilopectina (De Graaf y col., 2003). Bajo estas condiciones el almidón se convierte en un termoplástico por la desestructuración de los gránulos en presencia de plastificantes, bajo condiciones específicas de proceso (De Graaf y col., 2003; Kruiskamp y col., 2001).

El polímero fundido es forzado a pasar a través de una boquilla por medio del empuje generado por la acción de un tornillo que gira concéntricamente en una cámara (cañón) a temperaturas controladas, con una separación milimétrica entre ambos elementos. El material polimérico es alimentado por medio de una tolva en un extremo de la máquina y debido a la acción de empuje se funde, fluye y se mezcla en el cañón, obteniéndose a la salida del mismo el material con un perfil geométrico preestablecido. La Figura 5.1 muestra el diseño de una extrusora.

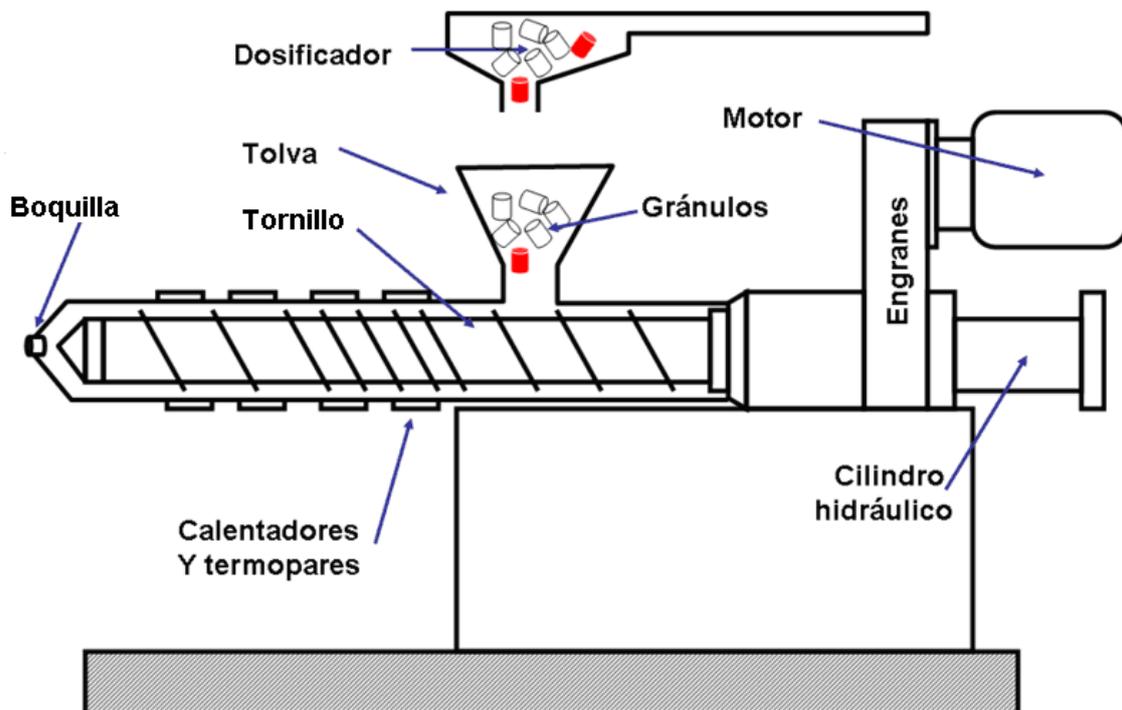


Figura 5.1. Diseño genérico de una extrusora

Los extrusores más comunes utilizan un sólo tornillo en el cañón. La división más común para extrusores de un sólo tornillo consiste en 4 zonas, desde la alimentación hasta la salida por la boquilla del material:

- 1. Zona de alimentación:** es donde ocurre el transporte de los gránulos sólidos y comienza la elevación de temperatura de los mismos.
- 2. Zona de compresión:** en esta zona, los gránulos de polímero son comprimidos y están sujetos a fricción y esfuerzos cortantes, lográndose una fusión efectiva.
- 3. Zona de distribución:** aquí se homogeneiza el material fundido y ocurren las mezclas.
- 4. Zona de mezcla:** esta parte es opcional y es donde ocurre un mezclado intensivo del material, en muchos casos no se aconseja porque puede causar degradación del mismo.

3. Proceso de fusión del polímero en la extrusora

Las investigaciones más recientes se han dirigido a la comprensión de los procesos de fusión del almidón durante la extrusión (Mater Bi[®], 2007; Novamont[®], 2007; Myllärinen y col., 2002).

El polímero funde por acción mecánica en combinación con la elevación de su temperatura por medio del calentamiento del cañón. La acción mecánica incluye los esfuerzos de corte y el arrastre, que empuja el polímero hacia la boquilla, aumentando la presión.

La primera fusión que se presenta en el sistema ocurre en la pared interna del cañón, en forma de una delgada película, como resultado del incremento de la temperatura del material y de la fricción que ocurre posteriormente. Cuando esta película crece, es desprendida de la pared del cañón por el giro del tornillo, mediante movimientos de ida y vuelta, formando un patrón semejante a un remolino. En las condiciones de operación reales el polímero experimenta fricción tanto en la pared del cañón como en el tornillo, las fuerzas de fricción determinan el arrastre que sufrirá el polímero.

La boquilla en el proceso de extrusión es el molde, el polímero fluye a través de la misma, sale fuera del cañón de extrusión y el material toma el perfil deseado. La boquilla se considera como un consumidor de presión, ya que en el extremo del tornillo la presión es máxima, mientras que a la salida de la boquilla la presión es igual a la atmosférica. La alta presión que experimenta el polímero antes de la boquilla, ayuda a que el proceso sea estable y continuo, sin embargo, el complejo diseño de las boquillas es responsable en su mayor parte de esta estabilidad. Existen boquillas para tubos,

láminas y perfiles de geometrías complejas, cada una tiene características de diseño especiales que le permiten al polímero adquirir su forma final.

OBJETIVOS

Los **objetivos** planteados para este capítulo son los siguientes:

- Obtener películas biodegradables por el método de extrusión y soplado a partir de almidón de maíz nativo, acetilado y mezclas de ambos, plastificadas con glicerol.
- Utilizar un diseño estadístico experimental como herramienta para estudiar el efecto de la formulación sobre las propiedades de las películas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Muestras de almidones

Se utilizó almidón de maíz nativo (AMIDEX 3001) y acetilado (RD571); provistos por Corn Products Brasil. El almidón Amidex 3001 contiene 27% p/p de amilosa y 73% p/p de amilopectina y el RD571 tiene un grado de acetilación entre 0.5 y 0.8%. Dado que los ensayos de extrusión se realizaron en la Universidad Estadual de Londrina (UEL) y que la capacidad mínima de la extrusora es de 5kg por carga, fue imposible utilizar los mismos insumos empleados para la obtención y caracterización de películas por moldeo.

2. Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental para mezclas multicomponentes en el cual los factores son las proporciones de los componentes en la mezcla y sus niveles no son independientes unos de otros ya que debe verificarse la siguiente restricción: la suma de las proporciones de los componentes de la mezcla es siempre igual a 1. Para mezclas de q componentes:

$$\sum_{i=1}^q x_i = x_1 + x_2 + \dots + x_q = 1 \quad [5.1]$$

donde x_i representa la proporción de cada componente en la mezcla.

La ventaja de este diseño es que permite evaluar los efectos de las variables individuales y combinadas a través de un ensayo acotado experimentalmente (Srinivasa y col., 2007).

En este trabajo de Tesis se empleó un diseño para mezclas de 3 componentes, con tres replicaciones en el punto central, para estudiar el efecto de las interacciones entre los componentes sobre las propiedades de las películas desarrolladas. Las variables dependientes fueron las concentraciones de almidón de maíz nativo (N), de almidón de maíz acetilado (A) y de glicerol (G). Para delimitar una zona de estudio y poder hacer factible esta investigación, se establecieron concentraciones máximas y mínimas de cada componente en las mezclas a ensayar. Estos límites se propusieron en base a ensayos preliminares realizados empleando las mismas formulaciones utilizadas para obtener películas por el método de moldeo (Capítulo 3 y 4). Los límites propuestos para cada componente, expresados en % p/p, fueron los siguientes: 5 – 70; 10 – 80 y 15 – 20 para el N, A y G, respectivamente. Las formulaciones ensayadas se muestran en la Tabla 5.1 y se determinaron empleando un software específico de estadística y análisis de datos (Statistica Software 6.0, Statsoft, USA).

Tabla 5.1. Formulaciones a base de almidón de maíz acetilado, nativo y glicerol determinadas a través del software Statistica Software 6.0.

<i>Formulación</i>	<i>Acetilado</i> (% p/p)	<i>Nativo</i> (% p/p)	<i>Acetilado/nativo</i>	<i>Glicerol</i> (% p/p)
<i>1</i> (10:70:20)*	10	70	0.14	20
<i>2</i> (80:5:15)	80	5	16	15
<i>3</i> (75:5:20)	75	5	15	20
<i>4</i> (15:70:15)	15	70	0.21	15
<i>5</i> (45:37.5:17.5)	45	37.5	1.2	17.5

*(% p/p de almidón acetilado: % p/p de almidón nativo: % p/p de glicerol)

3. Proceso de extrusión

Las mezclas de los almidones en polvo y el glicerol se prepararon de acuerdo al diseño experimental descrito en la Tabla 5.1. Para lograr una buena incorporación del plastificante y así obtener mezclas homogéneas, los componentes se mezclaron manualmente con ayuda de una espátula. No se agregó agua a ninguna de las mezclas empleadas. Las mismas se dejaron descansar durante aproximadamente 12 hs a temperatura ambiente antes de someterlas al proceso de pelletización.

Se realizaron ensayos de extrusión preliminares para seleccionar los parámetros de operación, tales como perfiles de temperatura y velocidad de rotación del tornillo, que permitieran obtener películas homogéneas, sin formación de burbujas y minimizando la variación del espesor de las mismas.

En primera instancia se obtuvieron los pellets a partir de las mezclas. Para ello se utilizó una extrusora piloto BGM ELR-25 (Brasil) provista de tornillo simple de 250 mm de diámetro, un motor de 10-HP. Este equipo fue facilitado por la Universidad Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Brasil; en el marco del Proyecto “Fuentes renovables y tecnología de extrusión en la producción de embalajes biodegradables (SETCIP-CAPES)”. La velocidad de rotación del tornillo fue de 40 rpm y el perfil de temperaturas a lo largo del mismo fue de $120/120/120 \pm 2$ °C y la temperatura de la boquilla también fue de 120 ± 2 °C. La matriz utilizada constaba de 6 orificios de 2 mm de diámetro cada uno (Figura 5.2).

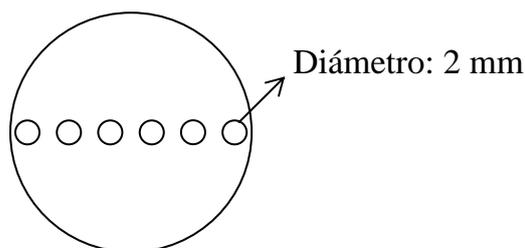


Figura 5.2. Diseño de la boquilla de pelletización

En una segunda etapa, la misma extrusora descrita se alimentó con los pellets correspondientes a las distintas mezclas ensayadas, para obtener por soplado los globos de películas de aproximadamente 15 cm de diámetro. La alimentación de la extrusora fue manual y se emplearon 5 kg de pellets de cada formulación. El perfil de temperaturas a lo largo del tornillo fue de 120 ± 2 °C y la temperatura de la boquilla varió entre 125 y 130 °C. El diámetro de la boquilla fue de 25 mm, y se utilizó un anillo de aire para enfriamiento externo de 300-350 mm de diámetro para la formación de las películas.

4. Caracterización de las películas

Para caracterizar las películas obtenidas por extrusión y soplado se realizaron las siguientes determinaciones: espesor, humedad, permeabilidad al vapor de agua, permeabilidad a los gases (O_2 y CO_2), comportamiento mecánico, análisis termo-

mecánico e isothermas de sorción. También se evaluó la apariencia y homogeneidad de las películas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). La preparación de las muestras y las condiciones en las que se realizaron los ensayos son las mismas que las descritas en las secciones de Materiales y Métodos de los Capítulos 3 y 4.

Cabe aclarar que en el caso de los ensayos mecánicos, las probetas utilizadas se cortaron paralelos a la dirección del flujo de soplado.

5. Análisis de datos

Los datos obtenidos para espesor, humedad, propiedades mecánicas, WVP y permeabilidad a los gases se modelaron matemáticamente utilizando un modelo polinómico asociado al diseño experimental (Khuri y Cornell, 1987). Para mezclas de tres componentes:

$$Y = k + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 \quad [5.2]$$

donde Y es la propiedad medida, los coeficientes β son los parámetros estimados para cada término lineal y cruzado del modelo y X_1 , X_2 y X_3 son las concentraciones de cada componente en la mezcla (1:A, 2:N y 3:G). Los valores positivos de los componentes binarios y ternarios (β_{ij} y β_{ijk}) indican un efecto sinérgico mientras que valores negativos de los mismos representan antagonismo. El modelado matemático de los datos se realizó en el software Systat (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, USA) versión 10.0.

También se construyeron las superficies de respuesta para las propiedades modeladas a partir de las ecuaciones de regresión no lineales obtenidas. En estos gráficos tridimensionales, el eje Z corresponde a la variable dependiente estudiada, el eje X a la relación entre las concentraciones de almidón acetilado y nativo y el eje Y a la concentración de glicerol. Las mismas se generaron empleando el programa OriginPro versión 7.0 (USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Obtención de las películas

El proceso de pelletización consta de dos etapas, la primera consiste en la formación de los “spaghetties” y la segunda es la etapa de cortado para obtener así los pellets

correspondientes. Se determinó que antes de someter los “spaghetties” al proceso de cortado, los mismos se debían enfriar hasta temperatura ambiente y espolvorear con almidón de maíz nativo, evitando así que los pellets obtenidos se adhirieran unos con otros. También se ensayaron dos procesos de pelletización, uno simple y otro doble y se determinó que cuando la mezcla se sometía a una doble pelletización el material obtenido resultaba más homogéneo, por lo que éste fue el procedimiento seleccionado. La Figura 5.3 muestra los pellets obtenidos a partir de las formulaciones propuestas por el diseño experimental (Tabla 5.1).



Figura 5.3. Pellets obtenidos a partir de mezclas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y glicerol (G), Tabla 5.1.

Las condiciones del proceso de soplado empleadas permitieron obtener películas homogéneas, libres de burbujas y con la mínima variación posible del espesor a partir de mezclas de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol (Figura 5.4).

Las películas presentaron cierta pegajosidad que impidió que las mismas se pudieran bobinar debido a la elevada temperatura a la que se encontraban cuando emergían de la boquilla. Este problema se solucionó manteniendo el globo inflado hasta que se enfriara a temperatura ambiente.



Figura 5.4. Obtención de películas por el método de soplado a partir de pellets a base de almidón de maíz nativo y acetilado y glicerol como plastificante.

A partir de las bobinas se obtuvieron láminas de películas para su posterior caracterización. Flores y colaboradores (2010) y Thunwall y colaboradores (2008) también informaron el mismo inconveniente respecto a la apariencia pegajosa de películas obtenidas por extrusión a base de almidón de mandioca y de papa con glicerol, respectivamente. Esto se puede atribuir a la susceptibilidad a la humedad del almidón base y a la posible migración del plastificante hacia la superficie del material, (Flores y col., 2010). De Graff y colaboradores (2003) también reportaron migración del plastificante y aumento de la fragilidad de películas de TPS.

La Figura 5.5 muestra las películas obtenidas.



Figura 5.5. Películas a base de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y glicerol (G) obtenidas por extrusión y soplado, Tabla 5.1.

2. Apariencia y homogeneidad

Debido al bajo grado de acetilación del almidón modificado utilizado (0.5-0.8%), en comparación al utilizado para la obtención de películas por moldeo (2.20%), se consideró que los almidones empleados son estructuralmente similares. Así, las diferencias en la apariencia y homogeneidad de las películas podrían atribuirse principalmente a las distintas concentraciones de glicerol utilizadas en las formulaciones. Por lo tanto, se seleccionaron películas de tres mezclas representativas cuyas microestructuras se evaluaron mediante SEM. Las películas observadas correspondieron a las formulaciones 3, 4 y 5 que contenían 20, 15 y 17.5% p/p de glicerol, respectivamente (Figura 5.6).

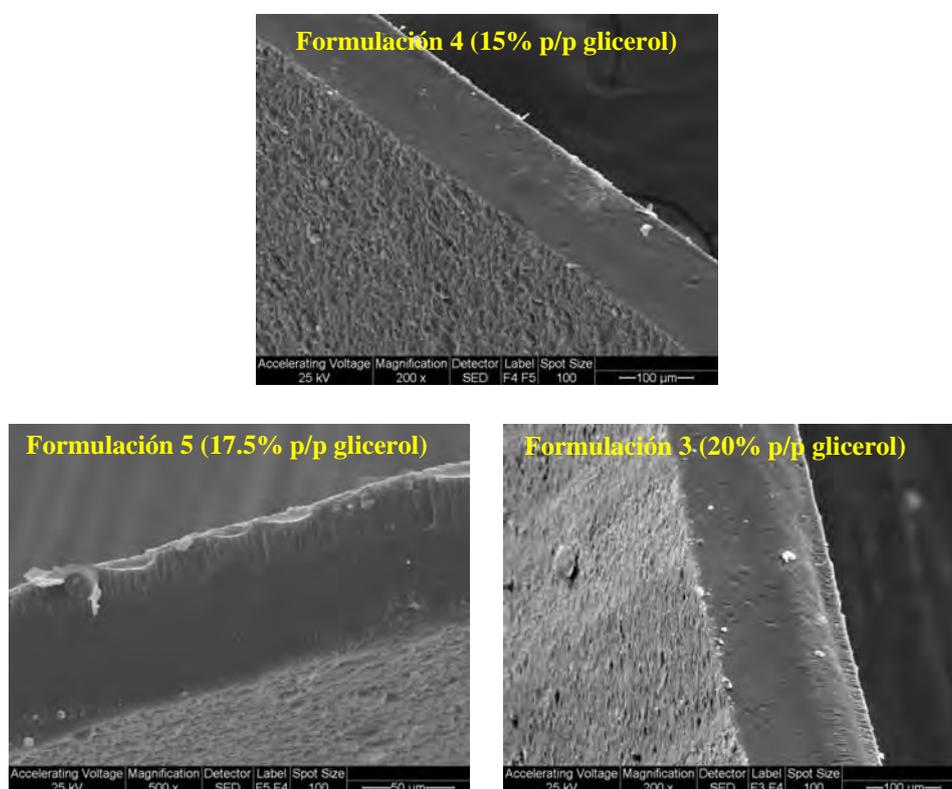


Figura 5.6. SEM de cortes transversales de películas obtenidas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol, obtenidas por extrusión y soplado.

Las tres formulaciones permitieron obtener películas cuyas superficies presentaron cierto grado de rugosidad, con estructuras compactas y homogéneas.

3. Caracterización de las películas

En la Tabla 5.2 se presentan los resultados de las propiedades de las películas obtenidas por extrusión y soplado a partir de las mezclas de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol de acuerdo al diseño experimental (Tabla 5.1).

Tabla 5.2. Propiedades de las películas a base de almidón de maíz nativo y acetilado, plastificadas con glicerol, obtenidas por extrusión y soplado.

Formulación	Espesor (μm)	Humedad (% p/p)	Propiedades mecánicas			Permeabilidad a los gases		
			Máximo esfuerzo de tensión (MPa)	Elongación en la ruptura (%)	WVPx10 ¹⁰ (g/s m Pa)	CO ₂ x10 ⁸ (cm ³ /m s Pa)	O ₂ x10 ¹⁰ (cm ³ /m s Pa)	Coefficiente de selectividad P _{CO₂} /P _{O₂}
1 (10:70:20)*	80.53±8.43	10.99±0.33	27.09±2.75	4.73±0.13	1.41±0.30	5.04±0.35	4.13±0.11	12.20
2 (80:5:15)	75.97±13.68	9.05±0.43	16.25±0.42	2.59±0.49	0.88±0.05	2.66±0.18	2.08±0.08	12.78
3 (75:5:20)	122.93±11.51	10.69±0.78	10.31±0.09	20.14±1.56	1.31±0.25	4.13±0.14	3.31±0.08	12.47
4 (15:70:15)	129.42±14.18	9.26±0.54	23.99±2.95	6.14±0.19	1.20±0.20	3.85±0.04	2.98±0.08	12.93
5 (45:37.5:17.5)	122.10±14.00	8.71±0.20	17.54±1.92	3.92±0.25	1.36±0.17	4.62±0.12	3.65±0.22	12.65

(* % p/p de almidón acetilado; % p/p de almidón nativo; % p/p de glicerol)

Tabla 5.3. Modelos y bondades de ajuste (R²) para los datos experimentales de las propiedades de las películas a base de almidón de maíz nativo y acetilado, plastificadas con glicerol, obtenidas por extrusión y soplado.

Variable dependiente	Modelo	R ²
Espesor	$Y = -0.296 - 1.041 * A + 3.856 * N + 1.416 * G - 0.063 * A * N + 0.108 * A * G - 0.176 * N * G + 0.005 * A * N * G$	0.995
Humedad	$Y = -0.204 + 0.107 * A + 0.264 * N + 0.216 * G - 0.017 * A * N - 0.001 * A * G - 0.009 * N * G + 0.001 * A * N * G$	0.998
Esfuerzo de tensión	$Y = -0.073 + 0.149 * A - 0.640 * N + 0.029 * G + 0.060 * A * N - 0.001 * A * G + 0.053 * N * G - 0.003 * A * N * G$	0.988
Elongación a la ruptura	$Y = -0.608 - 0.586 * A + 0.617 * N + 0.206 * G - 0.022 * A * N + 0.041 * A * G - 0.030 * N * G + 0.001 * A * N * G$	0.988
WVP	$Y = (-0.200 - 0.085 * A + 0.224 * N + 0.287 * G - 0.017 * A * N - 0.008 * A * G - 0.015 * N * G + 0.001 * A * N * G) \times 10^{-10}$	0.967
Permeabilidad al CO ₂	$Y = (0.097 - 0.055 * A - 0.089 * N + 0.112 * G + 0.007 * A * N + 0.004 * A * G + 0.006 * N * G) \times 10^{-9}$	0.999
Permeabilidad al O ₂	$Y = (0.085 - 0.049 * A - 0.093 * N + 0.107 * G + 0.006 * A * N + 0.003 * A * G + 0.006 * N * G) \times 10^{-10}$	0.999

A: % p/p de almidón acetilado; N: % p/p de almidón nativo; G: % p/p de glicerol

Por otra parte, la Tabla 5.3 muestra las ecuaciones correspondientes al modelado matemático de los datos como así también las bondades de ajuste evaluadas a través del coeficiente de regresión R^2 . Se puede observar que en todos los casos el modelo ajustó satisfactoriamente los datos experimentales ya que los coeficientes R^2 variaron entre 0.967 y 0.999.

A partir del análisis de los coeficientes β se puede inferir que en todos los casos los mayores efectos resultaron ser los correspondientes a las variables independientes individuales ya que los coeficientes β_1 , β_2 y β_3 presentaron los valores más altos. También se puede observar que los efectos de las interacciones dobles resultaron de menor importancia ya que los correspondientes coeficientes (β_{12} , β_{13} y β_{23}) presentaron menor magnitud que los individuales. Por último, los efectos de la interacción triple (β_{123}) resultaron muy bajos e incluso nulos en el caso de las permeabilidades al O_2 y al CO_2 .

3.1 Espesor

El espesor de las películas desarrolladas resultó significativamente afectado por la composición de las formulaciones y varió entre 75.97 y 129.42 μm (Tabla 5.2). Cabe aclarar que las desviaciones obtenidas reflejan que las películas por extrusión resultaron menos homogéneas en cuanto al espesor que las obtenidas por moldeo. Ésto se atribuye a que en el método de moldeo es posible controlar la relación masa de solución filmogénica por área de la placa de moldeo que determina el espesor, como se describió en el Capítulo 4. En el caso de la extrusión, el espesor de las películas depende del flujo de gas insuflado durante la etapa de soplado, el que resultó muy difícil de controlar en el equipo utilizado. Se analizaron los coeficientes obtenidos a partir del modelado matemático de los datos experimentales y, como se mencionó anteriormente, los efectos más importantes sobre el espesor se atribuyen a las variables individuales (Tabla 5.3). Se observó que los coeficientes correspondientes al almidón nativo y al glicerol (β_2 y β_3) resultaron ser los de mayor magnitud y positivos, por lo que al aumentar la concentración de estos componentes en la mezcla se obtendrían películas de mayor espesor. Con respecto al glicerol, esta misma tendencia se observó para el caso de las películas obtenidas por el método de moldeo (Capítulo 4). El efecto individual del almidón acetilado, resultó menos significativo ($\beta_1 < \beta_3 < \beta_2$) y opuesto ($\beta_1 < 0$), por lo que un incremento en la concentración de almidón acetilado en la mezcla disminuiría el espesor de los materiales desarrollados.

Para las películas obtenidas por el método de moldeo se observó lo contrario ya que la incorporación de almidón acetilado permitió obtener materiales de mayor espesor (Capítulo 4). Durante el proceso de extrusión la acción mecánica a la que somete el material polimérico facilita el alineamiento de las cadenas y por lo tanto, el impedimento estérico debido a la incorporación de los grupos acetilo (que provoca un aumento en el espesor de las películas obtenidas por moldeo) no tendría efecto. Además, cabe mencionar que el almidón acetilado utilizado para las películas obtenidas por extrusión presenta un grado de acetilación significativamente ($p < 0.05$) menor que el empleado en el proceso de moldeo.

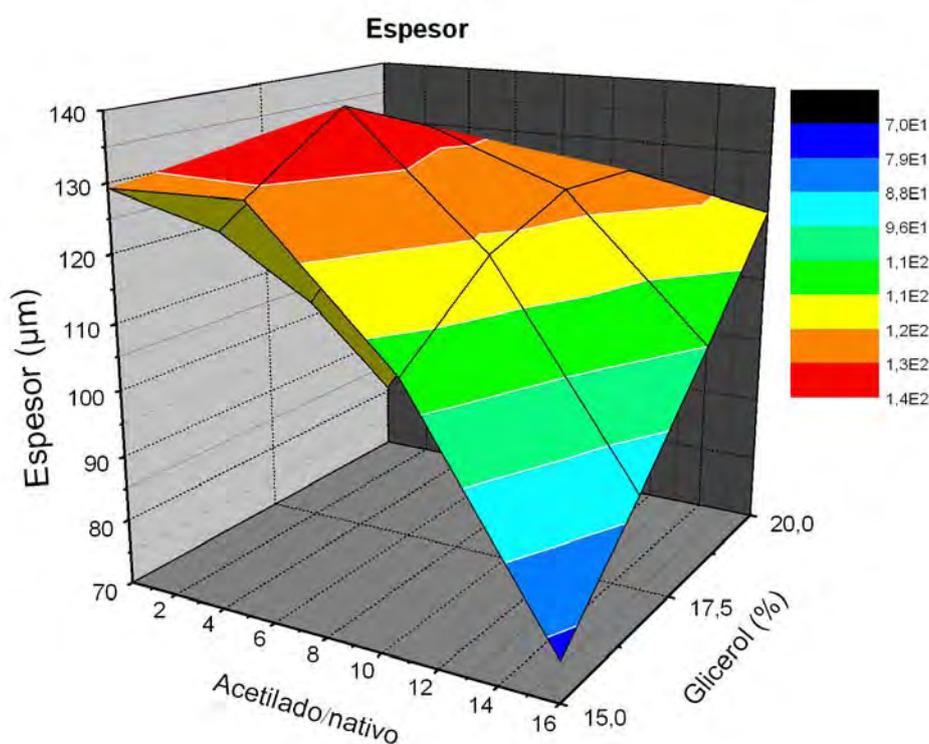


Figura 5.7. Superficie de respuesta correspondiente al espesor de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol obtenidas por extrusión y soplado.

La Figura 5.7 corresponde a la superficie de respuesta generada para el espesor. Se puede observar que los mayores valores se corresponden con mezclas que presentan una menor relación acetilado/nativo y una mayor concentración de glicerol. También se observa que al disminuir la concentración de almidón nativo (mayor relación acetilado/nativo) y la de glicerol se pueden obtener películas más delgadas.

3.2 Humedad

El contenido de humedad de las películas varió de 8.71 a 10.99% p/p (Tabla 5.2). Los valores obtenidos resultaron menores que el valor reportado (13% p/p) por Flores y colaboradores (2010) para películas de almidón de mandioca plastificadas con 18% de glicerol. Analizando los parámetros del modelo, presentados en la Tabla 5.3, se puede observar que los tres coeficientes correspondientes a las variables individuales (β_1 , β_2 y β_3) resultaron positivos por lo que el aumento de cualquiera de las tres concentraciones provocaría un aumento de la humedad de las películas. Sin embargo, los coeficientes más relevantes resultaron ser los correspondientes a las variables individuales concentración de almidón nativo (β_2) y de glicerol (β_3) mientras que la concentración de almidón acetilado (β_1) tuvo menos efecto sobre esta propiedad. Las formulaciones que contenían el mayor porcentaje de glicerol (20% p/p) presentaron los valores más altos de humedad y podría atribuirse al carácter hidrofílico del plastificante. La superficie de respuesta obtenida para esta propiedad muestra esta tendencia (Figura 5.8). En el Capítulo 4 también se observó dicha tendencia para las películas obtenidas por el método de moldeo.

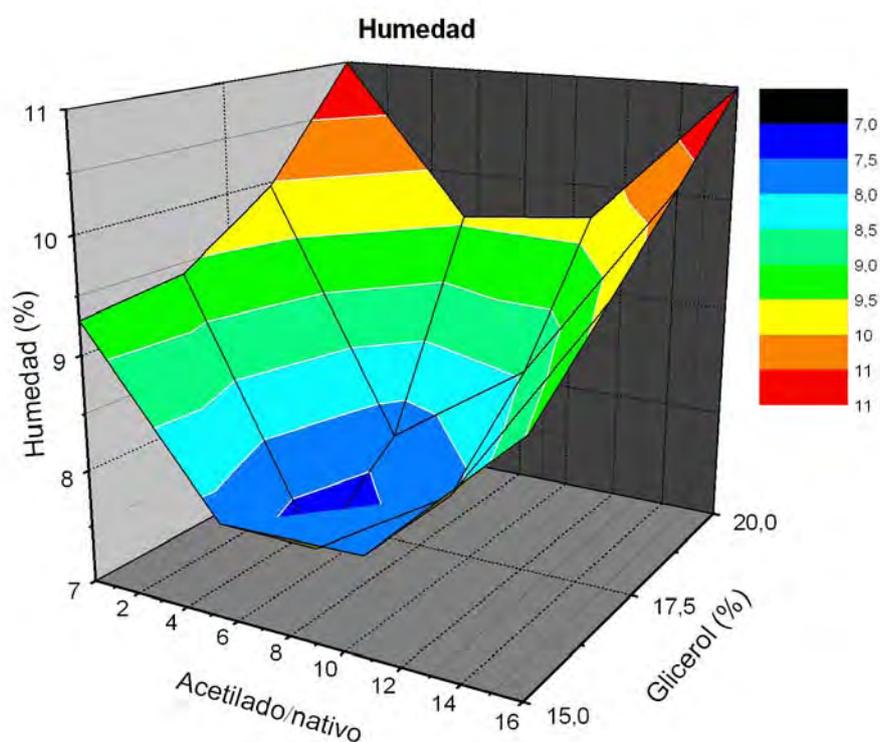


Figura 5.8. Superficie de respuesta correspondiente a la humedad de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol obtenidas por extrusión y soplado.

3.3 Propiedades mecánicas

Como se describió en la sección de Materiales y Métodos de este Capítulo, para los ensayos mecánicos las probetas se cortaron paralelas a la dirección del flujo de soplado. Esta aclaración es relevante ya que las propiedades mecánicas de las películas obtenidas por extrusión dependen de la dirección en que se corten las probetas a ensayar (paralela o perpendicular al flujo de soplado). Ésto se atribuye principalmente a que durante el proceso de extrusión y soplado las cadenas poliméricas se alinean en la dirección del flujo confiriendo así cierta anisotropía a las muestras. Este es un comportamiento ampliamente reportado para polímeros sintéticos, como en el caso del polipropileno (Sarantópoulos y col., 2002), y también para películas de TPS de papa modificado (Thunwall y col., 2008) y de mandioca (Flores y col., 2010)

Para el caso del esfuerzo de tensión a la ruptura, se observó que los parámetros correspondientes a los dos almidones (β_1 y β_2) ejercieron un efecto significativamente ($p < 0.05$) mayor que el del glicerol (β_3) (Tabla 5.3). Se observó que la incorporación de almidón acetilado reforzó la matriz aumentando así el esfuerzo máximo de tensión desarrollado por las películas ($\beta_1 > 0$). Este comportamiento se describió en el Capítulo 3 para las películas obtenidas por moldeo, aunque con mayor intensidad debido principalmente a las diferencias en el grado de acetilación del almidón utilizado. Sin embargo, la concentración de almidón nativo presentó un efecto negativo ($\beta_2 < 0$) y más importante que el del acetilado.

Así, la Figura 5.9, correspondiente a la superficie de respuesta generada para el esfuerzo de tensión de estas películas, muestra que el efecto más importante es el de los almidones, siendo las películas más fuertes las que presentaban una baja relación acetilado/nativo, independientemente de la concentración de glicerol empleada (Tabla 5.2).

Con respecto a la elongación a la ruptura, el comportamiento observado es, como era de esperar, inverso al descrito para el esfuerzo máximo de tensión. De las tres variables independientes, las que tuvieron más influencia sobre esta propiedad mecánica fueron las concentraciones de los dos almidones (β_1 y β_2) mientras que el efecto de la concentración de glicerol (β_3) resultó mucho menor. Los coeficientes β_1 y β_2 fueron similares en cuanto a magnitud pero el correspondiente al almidón acetilado fue negativo (β_1) mientras que el del nativo resultó positivo (β_2). Con respecto al glicerol, el efecto observado fue bajo pero positivo, es decir, que al aumentar el contenido de glicerol en la formulación aumentaba la elongación a la ruptura de las películas. Esta

tendencia es similar a la descrita, a través de los perfiles mecánicos, para las películas obtenidas por moldeo en el Capítulo 3.

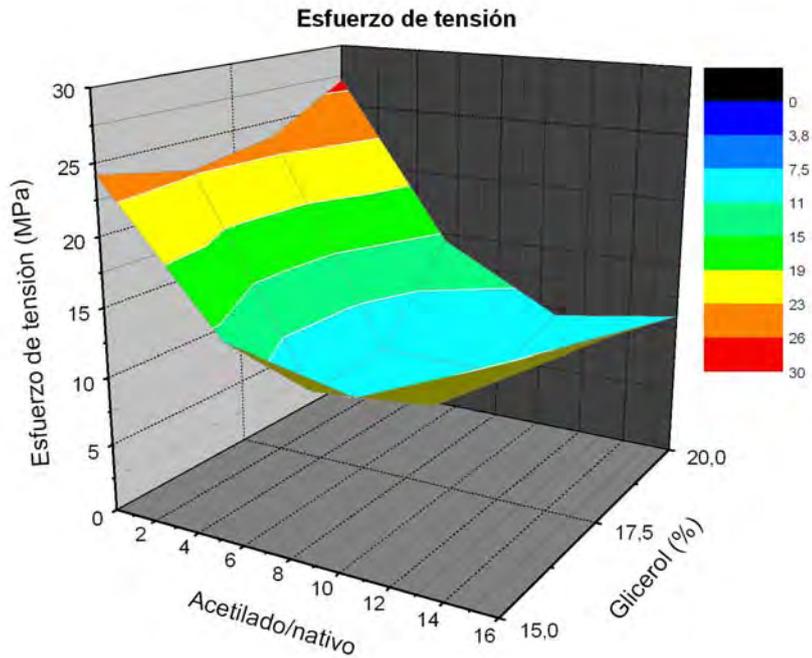


Figura 5.9. Superficie de respuesta correspondiente al esfuerzo de tensión de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol obtenidas por extrusión y soplado.

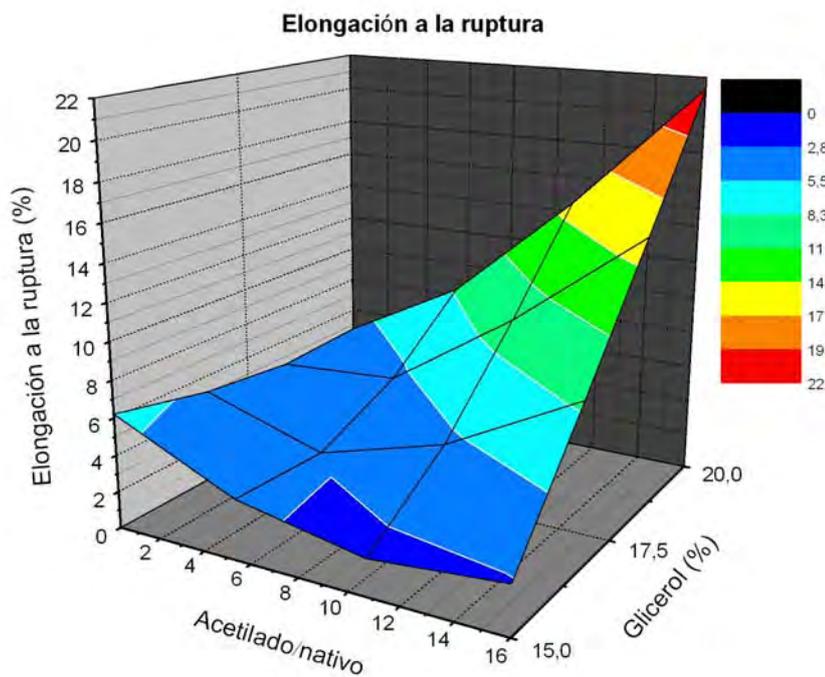


Figura 5.10. Superficie de respuesta correspondiente a la elongación a la ruptura de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol obtenidas por extrusión y soplado.

La superficie de respuesta muestra que las películas con mayor contenido de glicerol y mayor contenido de almidón acetilado resultaron ser las más flexibles de todas las formulaciones ensayadas (Figura 5.10).

3.4 Permeabilidad al vapor de agua

Los valores de WVP obtenidos variaron entre 0.88 y 1.41×10^{-10} g/s m Pa (Tabla 5.2). Estos resultados fueron menores que los reportados por Flores y colaboradores (2010) para películas de TPS de mandioca (3.72 y 6.40×10^{-10} g/s m Pa). Por otra parte, estos autores informaron que no resultó posible el modelado matemático de sus datos experimentales para predecir el comportamiento de las películas de TPS de mandioca con respecto a la WVP. Sin embargo, en este trabajo de Tesis fue factible modelar los datos experimentales obteniéndose un buen ajuste ($R^2=0.967$).

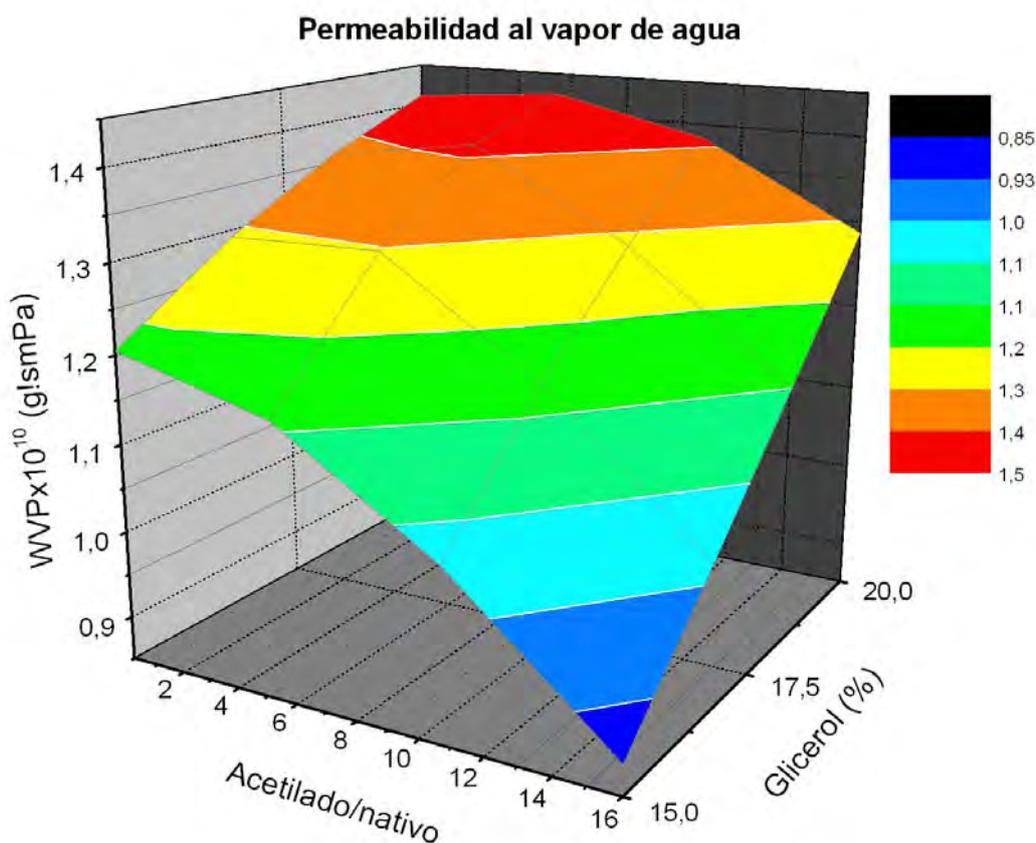


Figura 5.11. Superficie de respuesta correspondiente a la permeabilidad al vapor de agua de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol obtenidas por extrusión y soplado.

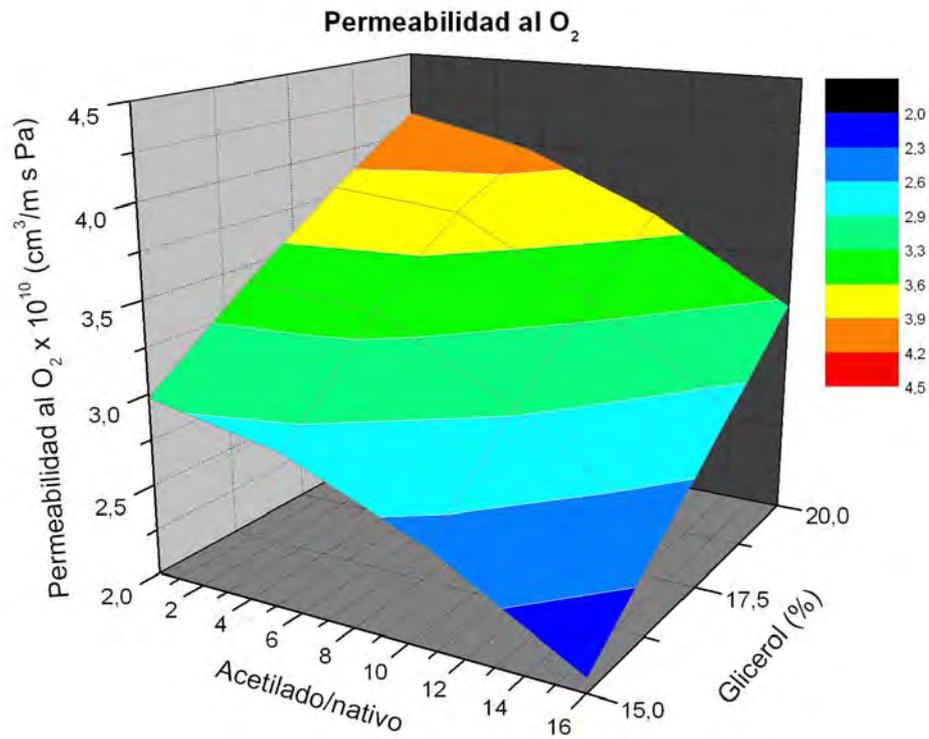
Analizando los parámetros del modelo se observó que las concentraciones de almidón nativo y glicerol ejercieron un efecto positivo sobre la WVP, siendo más importante el del glicerol ($\beta_2 < \beta_3$), (Tabla 5.3). La influencia de la concentración de glicerol se debe principalmente al carácter hidrofílico del plastificante. En el caso de las películas obtenidas por moldeo, el aumento de WVP debido al glicerol se observó a partir de concentraciones de plastificante mayores al 2% p/p. Por otra parte, el coeficiente correspondiente a la concentración de almidón acetilado (β_1) resultó de menor magnitud que β_2 y β_3 además de ser negativo (Tabla 5.3). Esto indica que a mayor contenido de almidón acetilado en la formulación se obtienen películas con menor permeabilidad al vapor de agua (Tabla 5.2). Esta tendencia se observó también para las películas obtenidas por moldeo independientemente de la concentración de plastificante empleada (Capítulo 3).

La superficie de respuesta representa los resultados del modelo e indica que las películas con menor WVP son obtenidas a partir de formulaciones con bajo contenido de glicerol y mayor relación acetilado/nativo (Figura 5.11).

3.5 Permeabilidad a los gases

Las películas desarrolladas presentaron el mismo comportamiento para las permeabilidades a ambos gases (O_2 y CO_2). Los coeficientes correspondientes a los dos almidones (β_1 y β_2) resultaron negativos, por lo tanto al aumentar las concentraciones de ambos, se obtendrían películas menos permeables a los gases (Tabla 5.3). Para las películas obtenidas por moldeo, se observó el mismo efecto de la concentración de almidón acetilado sobre la permeabilidad a los gases (Capítulo 4). Por el contrario, la influencia de la concentración de glicerol resultó positiva y de mayor importancia ($\beta_3 > 0$) y de mayor magnitud que β_1 y β_2 (Tabla 5.3). Esto indica que al aumentar el contenido de glicerol en la formulación si bien se mejoran las propiedades mecánicas los materiales obtenidos presentan mayor permeabilidad a los gases. El efecto de la concentración de glicerol sobre la permeabilidad a los gases de películas a base de TPS también fue reportada por varios autores (Stepito, 2006; Dole y col., 2004; Finkenstadt y Willett, 2004; Rhim, 2004; Forssell y col., 2002).

A)



B)

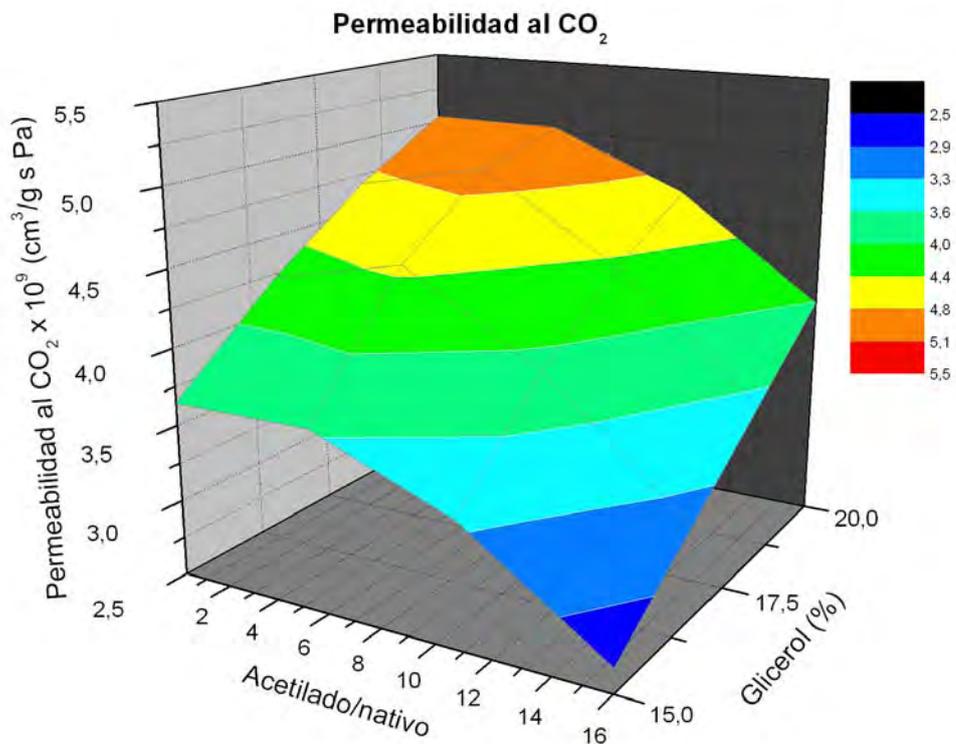


Figura 5.12. Superficies de respuesta correspondientes a las permeabilidades al los gases de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol obtenidas por extrusión y soplado. **A)** O₂ y **B)** CO₂

Además, las películas obtenidas por extrusión también resultaron selectivas con respecto a la permeabilidad a los gases, al igual que las obtenidas por moldeo (Capítulo 4). La permeabilidad al CO₂ resultó mucho mayor que al O₂ y los coeficientes de selectividad calculados para las películas obtenidas por extrusión (Tabla 5.2) resultaron similares a los de las películas obtenidas por moldeo (Capítulo 4).

Las superficies de respuesta correspondientes a la permeabilidad a ambos gases muestran que las formulaciones que contenían mayor concentración de glicerol y menor relación acetilado/nativo permitieron desarrollar películas con mayor permeabilidad (Figuras 5.12 A y B)

3.6 Análisis termo-mecánico

Como se describió en el Capítulo 4, los materiales a base de almidón y glicerol son sistemas parcialmente miscibles, por lo tanto presentan dos fases: una rica en glicerol y otra rica en almidón. Cabe aclarar que para las películas obtenidas por extrusión y soplado, los ensayos dinámico-mecánicos se realizaron en un rango de temperaturas que solamente permitió analizar el comportamiento viscoelástico de la zona rica en glicerol de estos materiales. La Figura 5.13 muestra las curvas de módulo de almacenamiento (E'), módulo de pérdida (E'') y $\tan \delta$ (E''/E') en función de la temperatura para las películas obtenidas a partir de la formulación 1 (10:70:20), obtenidas a partir de ensayos realizados a diferentes frecuencias. Se puede observar que en el rango de temperaturas evaluado, las curvas de $\tan \delta$ y de E'' muestran un pico máximo mientras que las curvas de E' sufren una caída abrupta. La temperatura a la que ocurren estos cambios observados corresponde a la temperatura de relajación asociada a la transición vítrea (T_g) de la fase rica en glicerol de las películas desarrolladas. También se observó que el punto de inflexión de la curva de E' y los picos máximos en las curvas de E'' y $\tan \delta$ se desplazaron a temperaturas más elevadas a medida que la frecuencia aumentaba. Esta dependencia de la temperatura de transición vítrea con la frecuencia a la que se realizaron los ensayos de DMA fue descrita también para las películas obtenidas por moldeo (Capítulo 4). Las películas desarrolladas a partir de las otras formulaciones ensayadas (Tabla 5.1) presentaron curvas similares a las de la Figura 5.13.

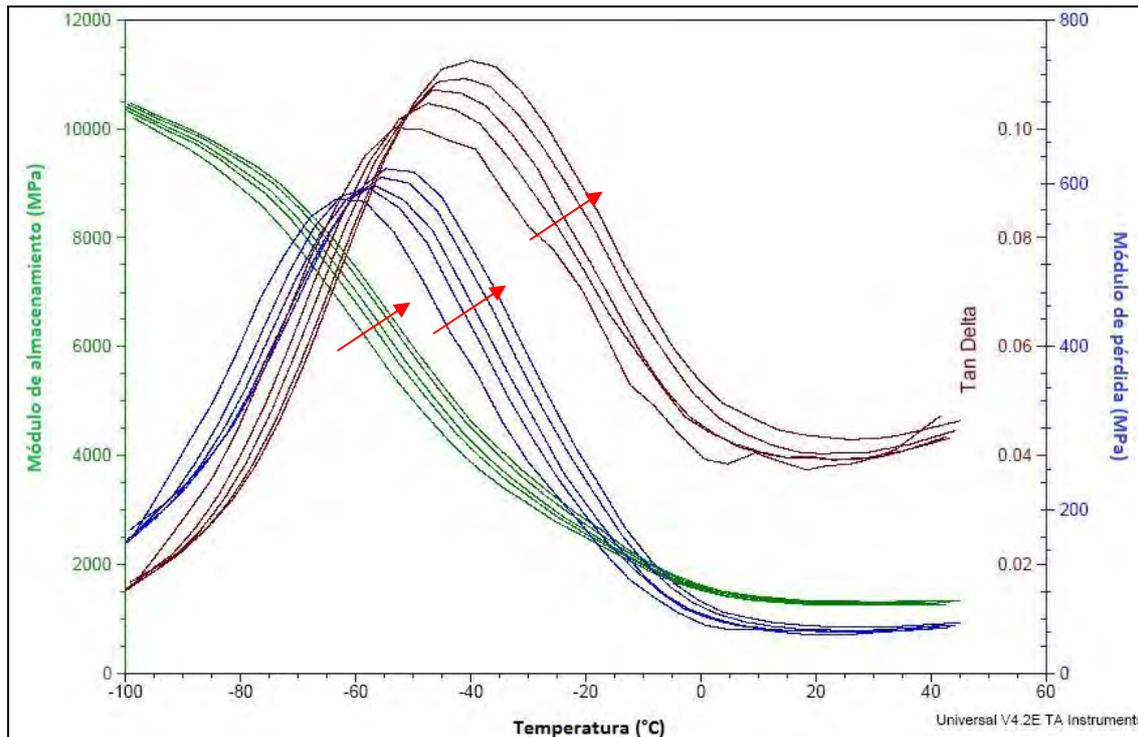


Figura 5.13. Evolución del módulo de almacenamiento (E'), de pérdida (E'') y $\tan \delta$ (E''/E') en función de la temperatura para películas obtenidas por extrusión y soplado. La flecha indica la dirección en la que aumenta la frecuencia desde 1 hasta 15 Hz.

En la Tabla 5.4 se muestran los valores de T_g para las películas desarrolladas, medidos a través de las curvas de E' , E'' y $\tan \delta$, obtenidas a partir de ensayos dinámico-mecánicos realizados a una frecuencia de 5 Hz. Los valores significativamente más bajos ($p < 0.05$) se obtuvieron para las películas con mayor porcentaje de glicerol (20% p/p) (formulaciones 1 y 3, Tabla 5.1), mientras que las películas plastificadas con 15% p/p de glicerol (formulaciones 2 y 4, Tabla 5.1) presentaron las T_g significativamente ($p < 0.05$) más elevadas. Como era de esperar, valores intermedios se obtuvieron para las películas desarrolladas a partir de la formulación 5 cuya concentración de plastificante era 17.5% p/p. La tendencia observada concuerda con el efecto ampliamente conocido de la concentración de glicerol sobre la T_g (Famá y col., 2006) y coincide con los resultados descriptos para las películas obtenidas por moldeo (Capítulo 4).

No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las T_g de las películas con iguales concentraciones de plastificante pero distintas proporciones entre los almidones base empleados (Tabla 5.4). Ésto podría atribuirse nuevamente a que los almidones utilizados en estos ensayos son estructuralmente similares, debido al bajo grado de acetilación del almidón modificado.

Tabla 5. 4. Temperatura de relajación asociada a la transición vítrea de la fase rica en glicerol medida a través del módulo de almacenamiento (E'), de pérdida (E'') y factor de pérdida ($\tan \delta$) de películas de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol obtenidas por extrusión y soplado. Frecuencia 5 Hz.

Formulación	Temperatura de relajación asociada a la temperatura de transición vítrea de la fase rica en glicerol ($^{\circ}\text{C}$)		
	Inflexión del módulo de almacenamiento (E')	Máximo del módulo de pérdida (E'')	Máximo de $\tan \delta$
1 (10:70:20)*	-56.48±0.33	-56.45±0.24	-46.15±0.64
2 (80:5:15)	-52.99±0.45	-50.27±0.28	-36.38±0.95
3 (75:5:20)	-56.16±0.41	-56.22±0.31	-46.20±0.32
4 (15:70:15)	-53.33±0.39	-50.17±0.23	-37.27±0.92
5 (45:37.5:17.5)	-54.22±0.40	-53.30±0.21	-40.53±0.38

*(% p/p de almidón acetilado: % p/p de almidón nativo: % p/p de glicerol)

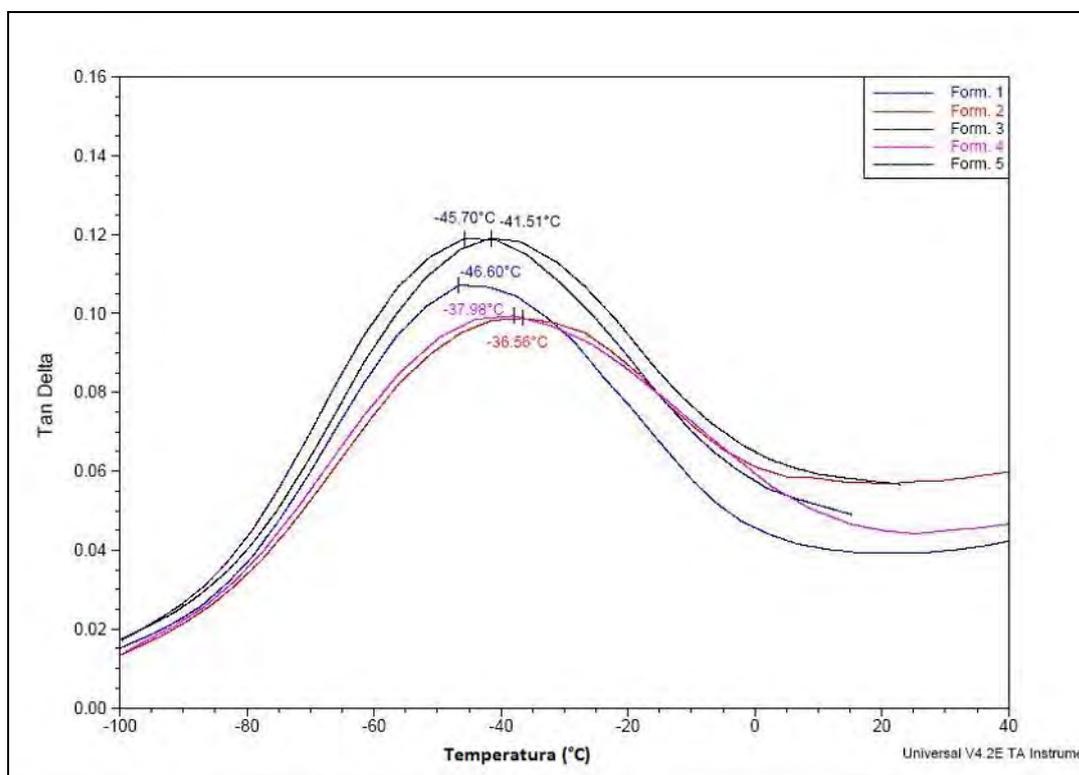


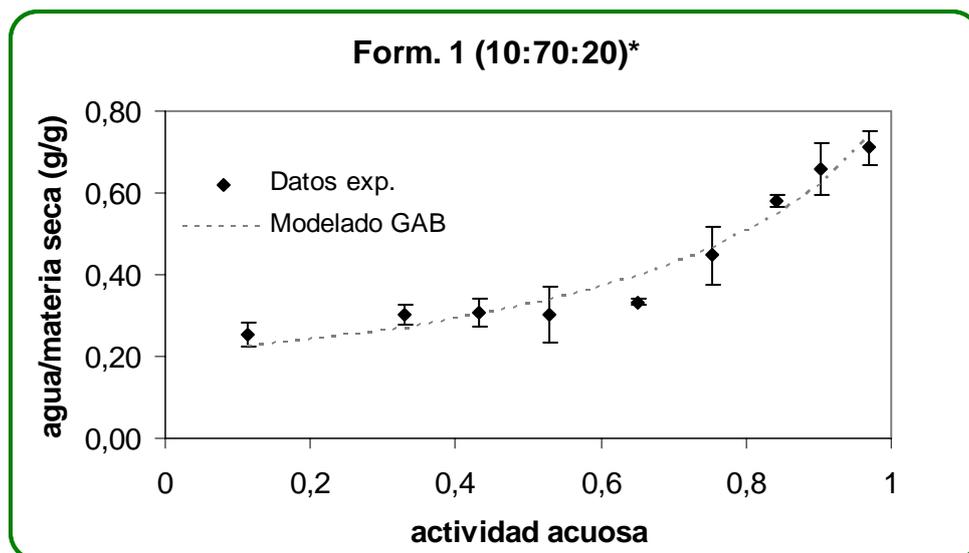
Figura 5.14. Evolución isocrónica del factor de pérdida ($\tan \delta$) en función de la temperatura de películas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol obtenidas por extrusión y soplado. Las temperaturas indicadas corresponden a los máximos de las curvas de Tan Delta.

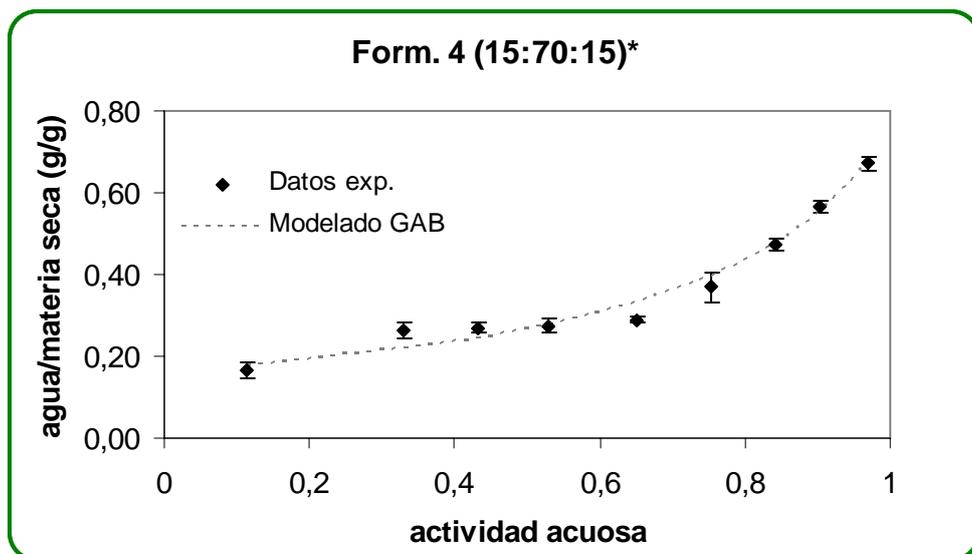
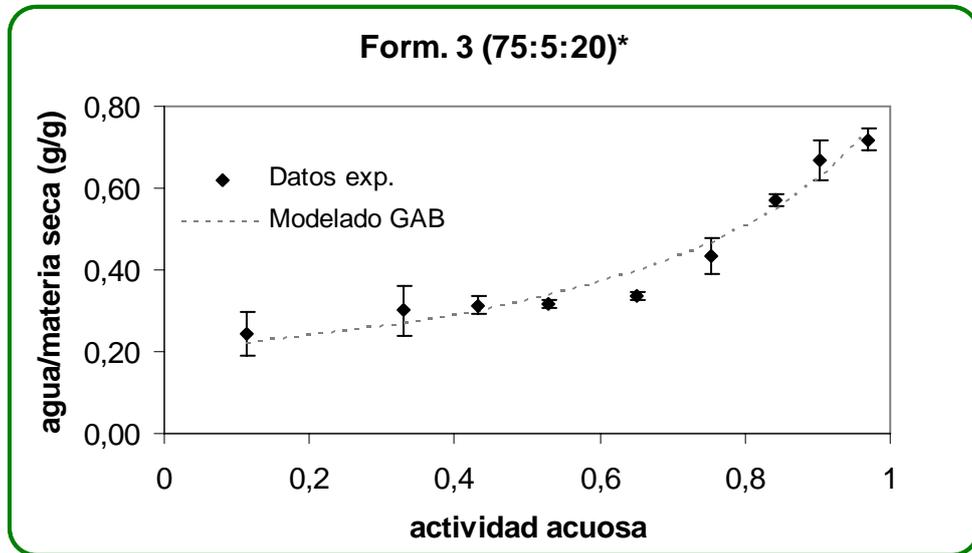
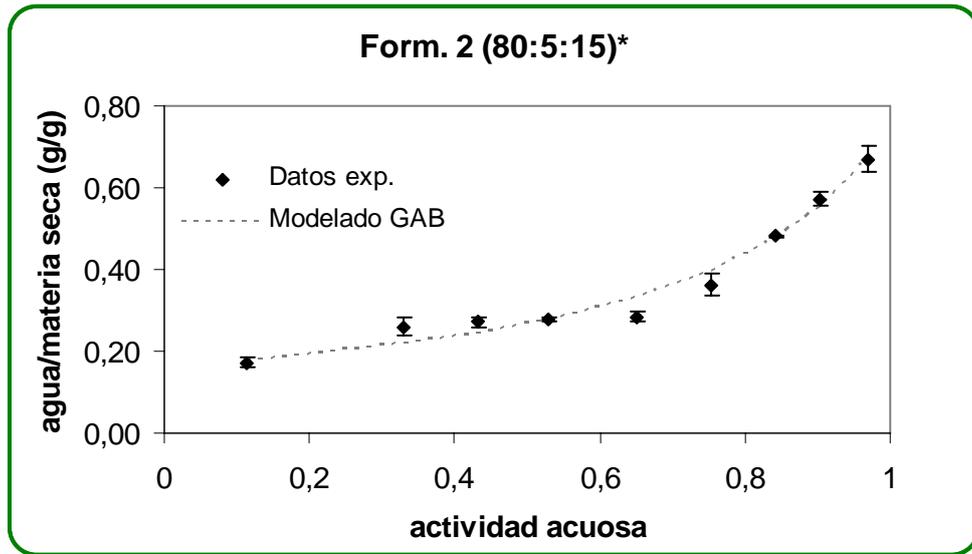
La Figura 5.14 refuerza los resultados presentados en la Tabla 5.4 ya que muestra el efecto del glicerol sobre las curvas de $\tan \delta$ y el valor de la Tg de las películas obtenidas por extrusión y soplado. También se observa que variando la proporción de los almidones no se registraron diferencias en los valores de las Tg.

3.7 Isotermas de sorción

La Figura 5.15 corresponde a las isotermas de sorción de las películas de almidón obtenidas por extrusión y soplado donde se muestran los valores experimentales de contenido de humedad de equilibrio en función de la actividad acuosa. Como se puede observar, los valores de humedad de equilibrio permanecieron constantes hasta $a_w \approx 0.7$, lo que indicó la estabilidad de los materiales obtenidos, siendo esta característica muy importante en el diseño de envases. Además la sensibilidad a la humedad y la movilidad del agua de materiales a base de TPS han sido evaluadas a través de estudios de sorción y difusión durante el almacenamiento controlado por diversos autores (Mali y col., 2005; Avérous y Boquillon, 2004; Tsiapouris y Linke, 2002; Avérous y Frigant, 2001; Frigant y col., 1998).

Al igual que las isotermas de las películas obtenidas por moldeo en el Capítulo 4, las mismas presentaron la típica forma sigmoidea de productos ricos en almidón y correspondieron al Tipo II, según la clasificación de BET.





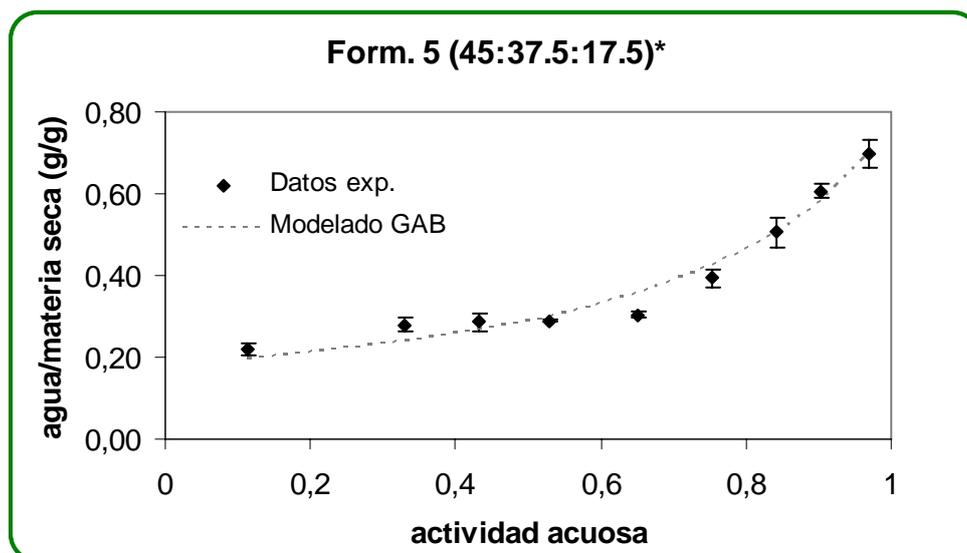


Figura 5.15. Isotermas de sorción de películas obtenidas a base de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol, obtenidas por extrusión y soplado.

Los datos obtenidos fueron ajustados empleando el modelo matemático de GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer). Este modelo es uno de los más utilizados ya que incluye parámetros con significado físico y es aplicable en el intervalo de a_w de interés práctico en el área de los alimentos, como se describió previamente en el Capítulo 4. En la Tabla 5.5 se presentan los parámetros de ajuste y los correspondientes coeficientes de correlación para todas las formulaciones ensayadas. Como se puede observar, el modelo de GAB describió adecuadamente el comportamiento de sorción de todas las películas ensayadas ya que los valores de los coeficientes de correlación (r^2) resultaron mayores que 0.990. La concentración de glicerol presente en la formulación afectó el valor de contenido de agua de la monocapa (X_m) y del parámetro K de las películas desarrolladas. En ambos casos, debido al carácter hidrofílico del plastificante empleado, los valores más elevados los presentaron las películas obtenidas a partir de las formulaciones con 20% p/p de glicerol, mientras que las formulaciones con 15% p/p del plastificante presentaron los valores más bajos. Las películas con una concentración intermedia de glicerol presentaron, como era de suponer, valores intermedios para dichos parámetros. La proporción de los almidones base empleados no afectaron los valores de X_m y K de las películas desarrolladas. Este resultado nuevamente puede atribuirse al bajo grado de modificación del almidón acetilado empleado.

Tabla 5.5. Bondad de ajuste y valores de los coeficientes estimados del modelado matemático (GAB) de las isotermas de sorción a 20 °C de películas de almidón de maíz nativo, acetilado y glicerol, obtenidas por extrusión y soplado.

<i>Formulación</i>	<i>Valores estimados de los coeficientes</i>			
	X_m	C	K	r^2
1 (10:70:20)*	0.204	3.1×10^{15}	0.745	0.990
2 (80:5:15)	0.162	4.4×10^{14}	0.783	0.995
3 (75:5:20)	0.202	9.9×10^{14}	0.749	0.992
4 (15:70:15)	0.162	3.0×10^{14}	0,782	0.995
5 (45:37.5:17.5)	0.178	5.3×10^8	0.768	0.995

* (% p/p de almidón acetilado: % p/p de almidón nativo: % p/p de glicerol).

X_m : contenido de humedad de equilibrio de la monocapa (g agua/g sólido seco).

C y K: parámetros de ajuste.

Capítulo 6:
PELÍCULAS ACTIVAS DE
ALMIDÓN DE MAÍZ

INTRODUCCIÓN

La tendencia actual y con buenas perspectivas a futuro consiste en incorporar aditivos a las formulaciones con el fin de ampliar la funcionalidad de las películas biodegradables (Li y col., 2006). Se pueden agregar agentes antimicrobianos, antioxidantes y otros preservativos, además de vitaminas y minerales para enriquecer las formulaciones desde el punto de vista nutricional.

La incorporación de agentes activos a diferentes matrices se ha utilizado comercialmente para la liberación de drogas y pesticidas en artículos para el hogar, textiles, implantes quirúrgicos, productos farmacéuticos y otros dispositivos biomédicos pero pocas aplicaciones relacionadas con los alimentos están disponibles actualmente.

Para prevenir la contaminación microbiana de los productos alimenticios se utilizan agentes antimicrobianos que pueden incorporarse en los alimentos durante su elaboración o aplicarse en la superficie de los mismos (Kim y col., 2002). Estos procedimientos presentan una limitada efectividad debido a la rápida pérdida de actividad de los aditivos incorporados. Una opción innovadora es el desarrollo de **envases activos antimicrobianos** que permiten una mejor eficiencia en la protección de los alimentos ya que ofrecen una mayor estabilidad del preservador con la finalidad de extender la vida útil y/o mejorar la calidad del alimento.

Los envases antimicrobianos se pueden desarrollar a partir de diferentes tecnologías:

1. Adición de bolsas que contienen agentes antimicrobianos dentro del envase.
2. Incorporación de agentes antimicrobianos dentro de la matriz polimérica del envase.
3. Incorporación de agentes antimicrobianos sobre la superficie del polímero.
4. Inmovilización de agentes antimicrobianos dentro de la matriz polimérica por enlaces iónicos o covalentes.
5. Utilización de polímeros que son inherentemente antimicrobianos.

Se han publicado numerosos artículos y patentes sobre la incorporación de antimicrobianos naturales y sintéticos (algunos con status GRAS), en papel y materiales termoplásticos para desarrollar envases activos que protegen a los alimentos de una amplia variedad de microorganismos que limitan su vida útil. (Tabla 6.1).

El motivo por el cual se decide incorporar los antimicrobianos en el envase es para prevenir el crecimiento de microorganismos en la superficie de los alimentos, donde ocurre la mayor contaminación. Además, de esta manera se reduce la cantidad de aditivo que debería incorporarse al producto para evitar su deterioro. La

liberación gradual del antimicrobiano desde la película o el envase hacia la superficie del alimento presenta ventajas comparado con las técnicas de inmersión o pulverización. En el proceso de pulverización, la actividad antimicrobiana puede perderse rápidamente debido a la inactivación de los agentes activos por reacción con algún componente del alimento o diluirse por migración hacia el interior del mismo (Henning y col., 1986).

Tabla 6.1. Antimicrobianos incorporados a matrices poliméricas para desarrollar películas activas.

<i>Antimicrobiano</i>	<i>Hidrocoloide base de la matriz</i>	<i>Referencia bibliográfica</i>
Extracto de madera kiam (<i>Cotyluobium lanceotatum</i>)	Hidroxipropil metilcelulosa (HPMC)	Chana-Thaworn y col. (2011)
Sorbato de potasio y quitosano	Almidón de batata	Shen y col. (2010)
Sorbato de potasio	Almidón de mandioca	Famá y col. (2005 y 2006)
Ácido láurico y quitosano	Almidón de trigo	Flores y col. (2007)
Nantamicina	Quitosano	Salleh y col. (2009)
Nisina, lactato de sodio y sorbato de potasio	Caseinato	Fajardo y col. (2010)
Sorbato de potasio	κ -carragenano	Kristo y col. (2008)
		Choi y col. (2005)

Generalmente, las películas con antimicrobianos se obtienen por métodos que no requieran temperaturas muy elevadas ya que procesos como extrusión o moldeo por inyección sólo son aplicables en el caso de antimicrobianos térmicamente estables.

El agente antimicrobiano debe difundir hacia la superficie del alimento, por lo tanto las características de la superficie y la cinética de la difusión son cruciales. La liberación de los antimicrobianos desde el envase ha sido objeto de varios estudios y se ha demostrado que debe ser lenta, para mantener una concentración del mismo sobre la superficie del alimento que sea superior a la concentración crítica inhibitoria. Sin embargo, la mayoría de los modelos difusivos hallados en la literatura estudian el proceso desde la matriz polimérica hacia un medio acuoso/líquido (Flores y col., 2007). En el presente trabajo de Tesis se propone estudiar el proceso difusivo hacia un medio semisólido, que simula el contacto de la película con un alimento de humedad intermedia a alta, situación más cercana a la realidad.

En general, los antimicrobianos utilizados en alimentos pueden ser ácidos orgánicos (Cagri y col., 2001), enzimas (Padgett y col., 1998), aceites esenciales (Tunc y col., 2007) o bacteriocinas (Jacquet y col., 1998). El ácido sórbico y sus sales minerales

(sorbato sódico, potásico y cálcico) se hallan entre los conservantes alimentarios más seguros, eficientes y versátiles usados hoy en día, debido a que son inhibidores altamente efectivos de la mayoría de los microorganismos comunes (hongos, mohos o levaduras) que pueden atacar a los alimentos causando su deterioro. Ésto puede producir pérdidas económicas sustanciales, tanto para la industria alimentaria (pérdidas de materias primas y de subproductos elaborados antes de su comercialización y deterioro de la imagen de la marca) así como para distribuidores y consumidores (deterioro de productos antes de su consumo y problemas de sanidad).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la ingesta diaria admitida (IDA) de sorbato de potasio es de 25 mg/Kg de peso corporal (Sofos y Busta, 1983). Su acción antifúngica ha sido ampliamente estudiada: los hongos y levaduras son incapaces de metabolizar los dobles enlaces C-C en posición α con respecto al carboxilo ya que el ácido sórbico actúa sobre las enzimas deshidrogenasas (Eklund, 1983). En el hombre se metaboliza siguiendo la ruta de los ácidos grasos por lo que resulta no tóxico.

Se utiliza como preservador en alimentos con pH ácido ya que la no disociación del compuesto es esencial para su actividad antimicrobiana siendo ésta mayor a pH bajos. Es un aditivo seguro, considerado GRAS y presenta la ventaja de tener un coeficiente de partición bajo (aceite/agua) en comparación con otros antimicrobianos, de esta manera una fracción significativa se encuentra disponible en fase acuosa para prevenir el crecimiento microbiano (Castro y col., 2003). Sin embargo, hay que tener en cuenta que este preservativo es inestable en solución acuosa y su oxidación degradativa se incrementa cuando el pH disminuye. Como consecuencia de esta degradación oxidativa, se producen compuestos carboxílicos que participan de reacciones de pardeamiento no-enzimático y ocasionan cambios indeseables en la calidad y aceptabilidad de estos materiales, además de afectar por supuesto la capacidad antimicrobiana de los mismos (Flores y col., 2007). Por consiguiente, el estudio de las propiedades de las películas biodegradables que contienen antimicrobianos y su monitoreo durante el almacenamiento resultan indispensables con el fin de proponer aplicaciones para los envases activos desarrollados a partir de las mismas. Así, los envases activos despiertan un gran interés en la industria alimentaria, orientándose actualmente las investigaciones hacia el desarrollo de este tipo de envases.

El **objetivo general** planteado para este capítulo consistió en la incorporación de sorbato de potasio a las matrices poliméricas desarrolladas con el fin de obtener envases activos para alimentos con capacidad antimicrobiana.

PARTE I

CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS

El **objetivo** planteado para la primer parte de este capítulo fue evaluar la capacidad antimicrobiana de las películas activas desarrolladas y estudiar su efecto en la vida útil de un producto lácteo.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Formulación de las películas con sorbato de potasio

Se prepararon suspensiones acuosas al 5% p/p de: almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones. Estas suspensiones se gelatinizaron a 90 °C durante 20 min. Una vez finalizada la gelatinización de las mismas se agregó 1.5% p/p de glicerol y sorbato de potasio (Anedra, Argentina) en diferentes concentraciones (0.1 - 0.5% p/p). También se prepararon suspensiones filmogénicas cuyo pH se ajustó a 4.5 empleando una solución acuosa 5M de ácido cítrico (Parafarm, Argentina).

2. Obtención de las películas con sorbato de potasio

Se obtuvieron por el método de moldeo. La cantidad de suspensión filmogénica moldeada y las condiciones de secado de las películas corresponden a lo descrito en el Capítulo 3. Una vez que las películas se secaron, se removieron de los moldes y se almacenaron a 20 °C y 65% HR durante 1 semana antes de ser sometidas a la caracterización, a los ensayos de difusión del preservador y a la evaluación de la capacidad antimicrobiana de las mismas.

3. Contenido de sorbato de potasio en las películas

La determinación de la concentración de sorbato de potasio de las películas se realizó según modificaciones del método oficial para determinar ácido sórbico (AOAC, 1977). Discos de películas de 1 cm de diámetro se pesaron y disolvieron en 50 mL de agua destilada, calentando a ebullición para facilitar la disolución de las muestras. Se tomaron 5 mL de esta solución, se agregaron 625 µL de HCl 0.1 N y se llevó a 100 mL con agua destilada en matraz aforado. Se midió la absorbancia de la solución obtenida a una longitud de onda de 260 nm, utilizando agua destilada como referencia y celdas de

cuarzo. Los valores informados corresponden al promedio de al menos dos determinaciones.

Curva de calibración

Se preparó una solución madre de sorbato de potasio de concentración 1 mg/mL. Se tomaron 0, 10, 20, 30 y 40 mL de esta solución madre y se llevaron a 100 mL con agua destilada en matraz aforado. De cada una de estas soluciones se tomaron 2.5 mL, se agregaron 625 μ L de HCl 0.1N y se llevaron a 250 mL con agua destilada en matraz aforado. Se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 260 nm utilizando agua destilada como blanco. Se construyó la curva de calibración de absorbancia en función de la concentración de sorbato de potasio (mg/mL), regresionando linealmente los datos experimentales obtenidos.

4. Concentración mínima inhibitoria de sorbato de potasio

Dado que la actividad antimicrobiana de las películas activas se evaluará sobre un producto lácteo, para la determinación de la concentración mínima inhibitoria se empleó una modificación de la metodología propuesta por Fajardo y colaboradores (2010). Se utilizó un queso comercial de alta humedad (55%), pasta blanda, elaborado con leche entera (acidificada por cultivo de bacterias lácticas y coagulada por cuajo).

Trozos de aproximadamente 25 g de queso fresco comercial se depositaron sobre películas a base de almidón de maíz aditivadas con sorbato de potasio (0.1 - 0.5% p/p). Las muestras se almacenaron a 20 °C durante 6 días; diariamente se realizó la evaluación de las mismas que se registró fotográficamente. La concentración más baja del aditivo que no permitió la observación visual del desarrollo de hongos sobre la superficie de las muestras de queso se consideró como la concentración mínima inhibitoria (CMI) de sorbato de potasio. Como control se empleó una porción de queso fresco depositado sobre una película sin sorbato de potasio que se almacenó en las mismas condiciones y durante el mismo período que las muestras.

5. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las películas con sorbato de potasio

Preparación de los inóculos

Cepas aisladas de *S. aureus*, *Candida spp.*, *Salmonella spp.* y *Penicillium spp.* fueron cultivadas en un caldo nutritivo TSB (Caldo Triptona Soja) e incubadas a 37 °C durante

12 hs. hasta alcanzar una concentración de 10^8 - 10^9 UFC/mL, determinada a partir de la densidad óptica (DO) de las soluciones. También se prepararon diluciones 1:10 de estos inóculos con agua peptona (Oxoid) al 1% estéril para alcanzar una concentración de 10^7 - 10^8 UFC/mL.

Capacidad antimicrobiana

La determinación de la actividad antimicrobiana de las películas activas se llevó a cabo empleando el método de difusión en agar descrito por Pranoto y col. (2005). Se testearon los inóculos anteriormente descritos empleando discos de películas de 1 y 3 cm de diámetro. Los discos fueron depositados sobre cajas de Petri con PCA (Plate Count Agar, Merck) para el testeo de bacterias y con Agar Malta para hongos y levaduras, que fueron previamente sembrados con 100 μ L del inóculo correspondiente. Todas las muestras se incubaron a 37 °C. Para el caso de *S. aureus*, *Candida spp.* y *Salmonella spp.* se realizaron observaciones visuales y se midieron las zonas inhibitorias de las películas a las 24, 48 y 94 hs de incubación. Para el caso del *Penicillium spp.* la observación y medición de las zonas de inhibición se realizó a las 48 hs y a los 8 días de almacenamiento. Para la determinación de las zonas de inhibición se tomaron fotografías a los tiempos indicados que fueron procesadas con el software específico de manipulación de imágenes GIMP 2.2 (Licencia Pública General, GNU). Los ensayos se realizaron por duplicado.

6. Aplicación de las películas activas desarrolladas

Porciones del queso fresco comercial anteriormente descrito se depositaron sobre películas de almidón de maíz nativo, plastificadas con 1.5% de glicerol y aditivadas con 0.3% p/p de sorbato de potasio, obtenidas a partir de suspensiones sin y con el pH ajustado a 4.5. Estas muestras se envasaron en bolsas termoselladas sintéticas de PD 141; como controles se emplearon porciones de queso fresco depositadas sobre placas de Petri y envasados en las mismas condiciones.

Las películas PD 141 (CRYOVAC®) a base de polietileno, son materiales multicapas de 75 μ m de espesor, especialmente diseñados para el envasado de alimentos frescos refrigerados ya que presentan velocidades de transmisión de oxígeno y dióxido de carbono elevadas que permiten controlar la respiración de los productos. Además, presentan una elevada resistencia del termosellado, manteniendo la integridad del envase.

Las muestras y los controles se almacenaron a 4 °C; a los 7, 15 y 22 días de almacenamiento se tomaron muestras y se realizó el recuento de hongos y levaduras. Para ello se tomaron 10 g de queso que se homogeneizaron en un Stomacher Seward Modelo 400 (Inglaterra) con 90 mL de agua peptona al 1% estéril. Se realizaron duplicados del homogenato para disminuir el error del muestreo. Se sembraron 100 µL del homogenato en medio YGC (Yeast extract Glucose Cloramphenicol, Merck) y las placas se incubaron 8 días a 30 °C.

Los recuentos de microorganismos viables se determinaron por conteo del número de colonias formadas, expresándose los resultados como UFC/g queso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Formación de las películas

El agregado de sorbato de potasio no modificó la capacidad filmogénica de las tres formulaciones ensayadas ya que las películas que se obtuvieron resultaron homogéneas y se removieron fácilmente de los moldes. Por otra parte, el agregado de ácido cítrico a las suspensiones con el fin de ajustar el pH a 4.5 tampoco interfirió en la capacidad filmogénica de las mismas. En la Figura 6.1 se observan fotografías de las películas obtenidas a partir de suspensiones a base de almidón de maíz nativo con 1.5% p/p de glicerol y con diferentes concentraciones de sorbato de potasio (0.1-0.5% p/p).

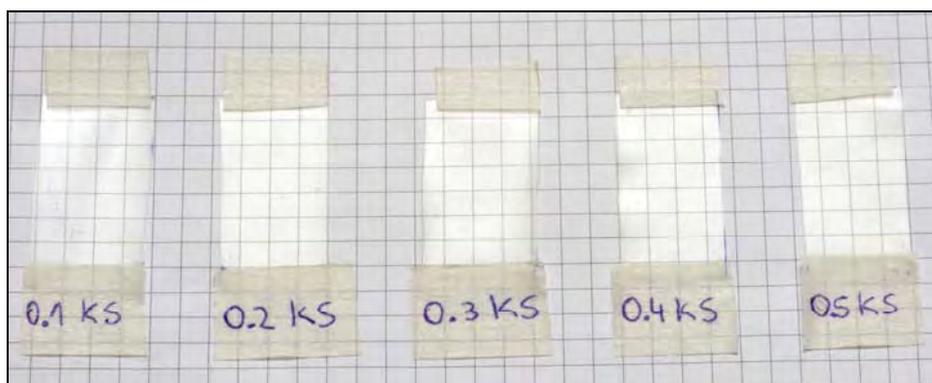


Figura 6.1. Películas de almidón de maíz nativo, plastificadas con 1.5% p/p de glicerol y aditivadas con sorbato de potasio (0.1 - 0.5% p/p).

2. Contenido de sorbato en las películas

En la Tabla 6.2 se muestran los contenidos de sorbato de potasio de las películas activas a base de almidón de maíz nativo desarrolladas en este trabajo de Tesis.

Tabla 6.2. Concentración teórica y medida de sorbato de potasio en películas de almidón de maíz nativo.

<i>KS agregado (g/100 mL de suspensión)</i>	<i>Concentración teórica de KS (g/100g de película seca)</i>	<i>Concentración medida de KS (g/100g de película seca)</i>	
		<i>pH sin ajustar</i>	<i>pH = 4.5</i>
		0.1	1.77
0.2	3.60	3.49±0.06	3.59±0.18
0.3	5.52	5.36±0.09	5.39±0.11
0.4	7.46	7.23±0.07	7.34±0.12
0.5	11.81	11.66±0.05	11.70±0.10

El método espectrofotométrico seleccionado para la determinación del contenido de sorbato de potasio de las películas resultó eficiente y adecuado ya que los valores obtenidos fueron muy próximos a los valores teóricos (Tabla 6.2). El agregado de ácido cítrico a las suspensiones filmogénicas para ajustar el pH a 4.5 no modificó el contenido de sorbato de potasio en las películas (Tabla 6.2). Para las películas desarrolladas a partir de almidón de maíz acetilado y de la mezcla de almidones se obtuvieron resultados similares con respecto al contenido de sorbato.

También se determinó el contenido de sorbato de potasio en películas aditivadas con 0.3 g/100 mL de suspensión, almacenadas durante 60 días bajo condiciones controladas (20 °C y 65% HR). Para las películas obtenidas a partir de suspensiones cuyo pH no fue ajustado, el contenido del agente antimicrobiano fue de 4.16±0.08 g de sorbato de potasio/100 g de película seca; mientras que para las películas obtenidas a partir de suspensiones cuyo pH se ajustó a 4.5, el contenido resultó ser 4.32±0.23 % p/p. Estos resultados indican que el contenido del aditivo durante el almacenamiento disminuyó en promedio 21% debido a la oxidación degradativa del mismo. Esta reacción depende principalmente de las condiciones de almacenamiento y de la presencia de otros aditivos, (Flores y col., 2007; Gliemo y col., 2004; Gerschenson y Campos, 1995).

Por lo tanto, se decidieron realizar los ensayos de evaluación de la capacidad antimicrobiana, aplicación, caracterización y difusión del agente antimicrobiano, empleando películas activas que, una vez que el proceso de deshidratación finalizó, permanecieron 1 semana acondicionadas a temperatura y humedad controladas (20 °C y

65% HR). De esta manera se minimizó el efecto de la disminución de la concentración de sorbato en las películas por destrucción oxidativa del mismo.

3. Concentración mínima inhibitoria de sorbato de potasio

La Figura 6.2 corresponde a las fotografías de las muestras de queso fresco almacenadas a 20 °C y 65% HR, durante 6 días, sobre películas de almidón de maíz nativo, plastificadas con 1.5% p/p de glicerol y aditivadas con diferentes concentraciones de sorbato de potasio (0.1 - 0.5% p/p).



Figura 6.2. Muestras de queso fresco almacenadas a 20 °C y 65% HR sobre películas de almidón de maíz nativo, plastificadas con 1.5% p/p de glicerol y aditivadas con diferentes concentraciones de sorbato de potasio (0.1 - 0.5% p/p).

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de sorbato de potasio resultó ser 0.3% p/p ya que las muestras de queso almacenadas sobre películas aditivadas con esta concentración no presentaron desarrollo visible de hongos durante los 6 días que permanecieron almacenadas a 20 °C y 65% HR. Esta CMI resultó independiente del pH de la suspensión filmogénica y del almidón base de la formulación.

4. Capacidad antimicrobiana de las películas activas

La capacidad antimicrobiana de las películas desarrolladas se evaluó a través del método de difusión en agar. La Figura 6.3 corresponde a las fotografías de los halos de inhibición observados para *Cándida spp.* y *Penicillium spp.* mostrándose los resultados correspondientes a los dos inóculos testeados.

En general, la inhibición del desarrollo microbiano y el efecto del pH de la formulación sobre el mismo se observó mejor trabajando con inóculos de concentración 10^7 - 10^8 UFC/mL.

Las tres formulaciones inhibieron el desarrollo de *Cándida spp.*, observándose en todos los casos un efecto positivo del ajuste del pH de las suspensiones ya que se observó un aumento del diámetro de las zonas inhibitorias (Figura 6.3 y Tabla 6.3).

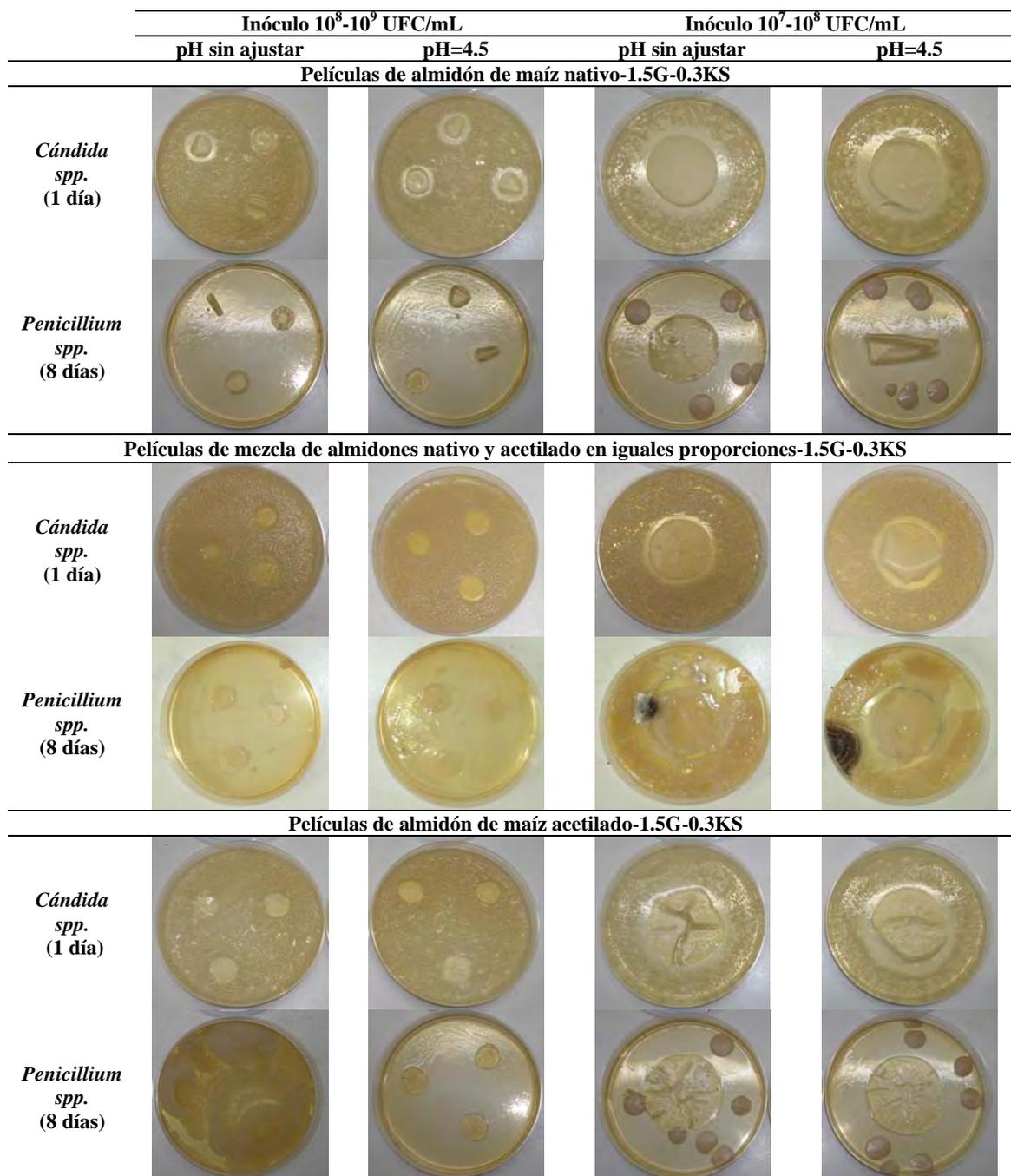


Figura 6.3. Zonas de inhibición del desarrollo de *Cándida spp.* y *Penicillium spp.* en películas de almidón con 1.5% de glicerol (1.5G) y 0.3% de sorbato de potasio (0.3KS).

Tabla 6.3. Medidas de las zonas de inhibición del desarrollo de *Cándida spp.* en películas de almidón con 1.5% de glicerol (1.5G) y 0.3% de sorbato de potasio (0.3KS).

Composición de la película	Halos de inhibición (mm)			
	Inóculo 10^8 - 10^9 UFC/mL		Inóculo 10^7 - 10^8 UFC/mL	
	pH sin ajustar	pH=4.5	pH sin ajustar	pH=4.5
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	13.55±0.12	15.71±0.63	42.08±1.14	43.53±1.07
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	10	10	32.07±1.11	36.22±2.63
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	10	10	36.38±1.95	43.25±0.36

N: almidón de maíz nativo; A: almidón de maíz acetilado; 50N+50A: mezcla en iguales proporciones de almidón N y A.

Con respecto al *Penicillium spp.*, no fue posible medir las zonas de inhibición; por lo tanto, se realizó una inspección visual del crecimiento y una descripción cualitativa del mismo. Para las películas a base de almidón de maíz nativo y la mezcla, cuando se sembraron los inóculos concentrados no se observó el desarrollo de hongos, independientemente del pH de la formulación (Figura 6.3). Sin embargo, para los inóculos diluidos se evidenció el desarrollo de hongos cuando se testearon tanto las películas con el pH sin ajustar como las de pH 4.5. En estos casos, para las formulaciones cuyo pH no fue ajustado, los hongos crecieron más cerca de las películas e inclusive para las películas a base de la mezcla de los almidones, los hongos se desarrollaron sobre las mismas. Para las películas de almidón acetilado, el sembrado de los inóculos concentrados de *Penicillium spp.* permitió un gran desarrollo de hongos cuando se testearon las películas cuyo pH no fue ajustado (Figura 6.3). Cuando se sembraron los inóculos diluidos se observó que los hongos crecieron sobre las películas sin el pH ajustado. En ambos casos se evidenció un efecto positivo del ajuste del pH de las formulaciones sobre la inhibición del desarrollo de este microorganismo.

Sofos y Busta (1983) han descripto ampliamente que el sorbato de potasio inhibe el desarrollo de un gran número de bacterias (gram positivas y negativas, catalasa positivas y negativas, aerobias y anaerobias, mesófilas y psicrótrofas). En el presente trabajo de Tesis se evaluó la acción inhibitoria de las películas activas desarrolladas sobre *S. aureus* y *Salmonella spp.* La elección de las mismas se basó en que se trata de bacterias patógenas responsables de enfermedades transmitidas por alimentos. Ambas son bacterias anaerobias facultativas, siendo *S.aureus* gram positiva y *Salmonella spp.* gram negativa.

Para el caso de *S. aureus*, las películas de almidón nativo aditivadas con sorbato de potasio inhibieron el desarrollo del mismo, siendo este efecto 34% mayor para las películas cuyo pH se ajustó a 4.5. Para las películas a base de la mezcla de los almidones se observó una tendencia similar a las del nativo, aumentando el ajuste del pH 41% el diámetro de la zona de inhibición.

Para el caso de *Salmonella spp.* se observó una tendencia similar al *S. aureus*. El ajuste del pH de la suspensión aumentó 22 y 50% el diámetro de las zonas de inhibición para las películas a base de almidón nativo y la mezcla, respectivamente.

Por último, las películas de almidón acetilado sólo fueron capaces de inhibir el desarrollo de ambas bacterias en la zona de contacto entre la película y el medio de cultivo, independientemente del pH de la suspensión.

Además, las películas a base de la mezcla de los almidones presentaron una mayor capacidad inhibitoria para las bacterias testeadas.

5. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de películas activas sobre un producto lácteo envasado.

Con el fin de analizar la efectividad de las formulaciones desarrolladas se evaluó la vida útil de queso fresco a través de ensayos microbiológicos. La Figura 6.4 corresponde a las fotografías de las muestras al tiempo inicial y final del almacenamiento refrigerado.

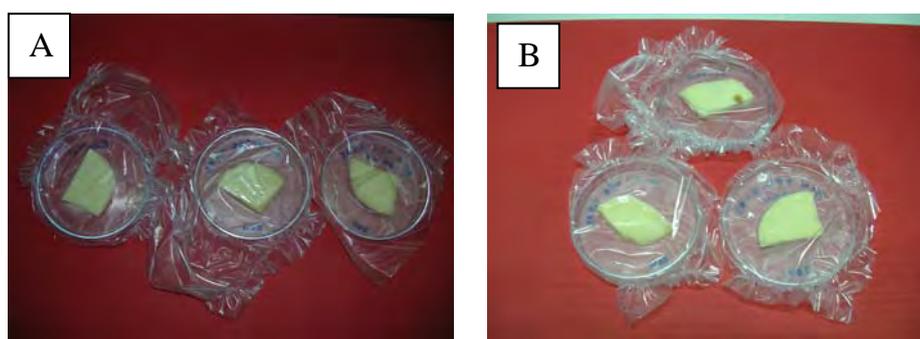


Figura 6.4. Muestras de queso fresco: A) inicial y B) almacenadas a 4 °C durante 22 días.

Los resultados obtenidos de los recuentos microbianos de las muestras de queso depositadas sobre películas activas a base de la mezcla de almidón nativo y acetilado se muestran en la Figura 6.5. Se observó la capacidad inhibitoria del sorbato de potasio

sobre el desarrollo de hongos y levaduras. Si bien el ajuste del pH de la formulación condujo a valores menores de recuentos, esta disminución no fue significativa ($p>0.05$).

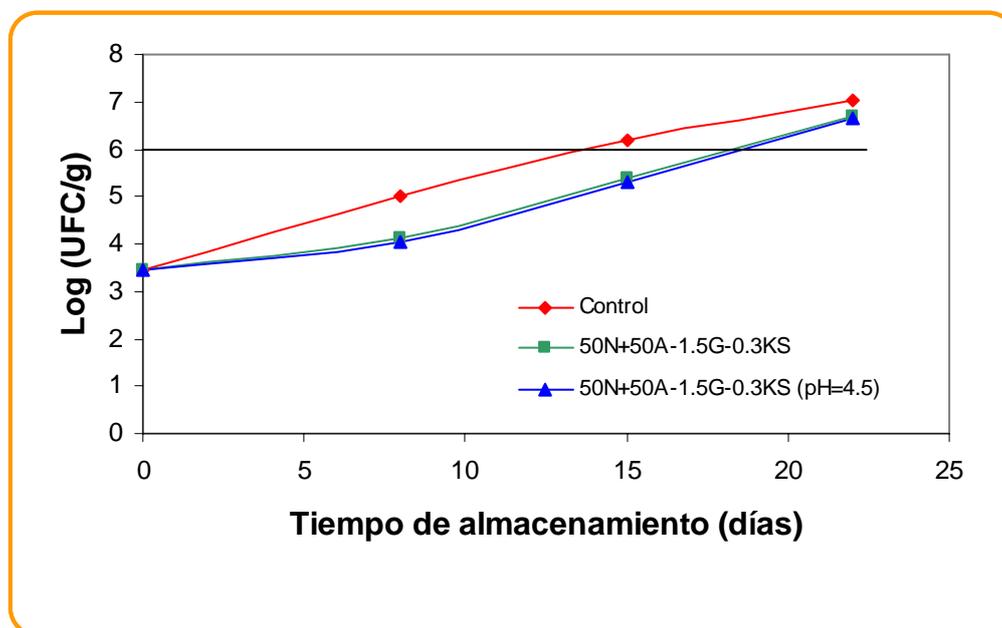


Figura 6.5. Efecto de la formulación de las películas en el desarrollo de hongos y levaduras en muestras de queso fresco almacenadas a 4 °C.

La vida útil de las muestras de queso refrigeradas está determinada principalmente por la contaminación microbiana. El queso fresco se caracteriza por ser un producto poco fermentado, aunque ligeramente ácido ($\text{pH} \approx 5$), con actividad acuosa elevada, un bajo porcentaje de sal ($< 3\%$) y con un potencial de óxido-reducción electronegativo (ausencia de oxígeno). Estas condiciones permiten el desarrollo de muchos microorganismos, especialmente de hongos y levaduras. Se definió la vida útil del queso fresco como el tiempo necesario para alcanzar 10^6 UFC/g de muestra. Para el caso del control la vida útil fue de 14 días mientras que para las películas aditivadas la misma se extendió hasta 17 días, independientemente del pH de la formulación (Figura 6.5). La baja incidencia del ajuste del pH de la formulación, en este caso en particular, podría deberse a que el pKa del ácido sórbico (4.76) es próximo al pH del producto envasado, por lo que la concentración de la forma no dissociada del agente antimicrobiano en la interfase película-producto resultaría similar en ambos casos.

PARTE II

CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS ACTIVAS

El **objetivo** correspondiente a la segunda parte de este capítulo consistió en estudiar el efecto del agente antimicrobiano y del ajuste del pH de la formulación sobre las propiedades de las películas activas desarrolladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Espectroscopía de difracción de rayos X

Se utilizó un difractómetro X'Pert Pro PAnalytical Modelo PW 3040/60 (Almelo, Holanda). Las condiciones de medida fueron las descritas en los Capítulos 2 y 4.

2. Espesor, propiedades mecánicas y permeabilidad al vapor de agua (WVP)

Estas propiedades se determinaron según los métodos descritos en el Capítulo 3.

3. Solubilidad en agua, microscopía electrónica de barrido (SEM) y de fuerza atómica (AFM), espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), análisis termo-mecánico, permeabilidad a los gases y propiedades ópticas

Estas propiedades se determinaron según los métodos descritos en el Capítulo 4.

Además se estudiaron las propiedades de barrera al UV-Visible de las películas desarrolladas registrando el espectro de absorción entre 200 y 700nm en un espectrofotómetro Hitachi U1900 (Japón) utilizando celdas de cuarzo.

4. Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado, a partir de películas preparadas desde soluciones filmogénicas individuales. Se realizaron análisis multifactoriales de varianza mediante el uso del software Systat (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, USA) versión 10.0. Las diferencias en las propiedades de las películas se determinaron mediante el test de diferencia mínima significativa de Fisher (LSD) usando un nivel de significación $\alpha=0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las películas que se sometieron a la caracterización fueron las formuladas a partir de almidón de maíz nativo, acetilado y la mezcla de ambos en iguales proporciones, plastificadas con 1.5% p/p de glicerol y aditivadas con 0.3% p/p de sorbato de potasio (CMI). También se analizaron las propiedades de las películas obtenidas a partir de las suspensiones filmogénicas cuyo pH fue ajustado a 4.5.

1. Propiedades ópticas: color superficial y barrera al UV

En la Tabla 6.4 se muestran los parámetros de color superficial para las dos caras de las películas control y con sorbato. Se puede observar que el parámetro Δa^* resultó negativo para todas las películas y no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre dichos valores. Por el contrario, el parámetro Δb^* resultó positivo y su valor aumentó significativamente ($p < 0.05$) con el agregado del antimicrobiano a las formulaciones. Ésto indica que las películas activas resultaron más amarillentas que las películas control debido al pardeamiento oxidativo del sorbato (Famá y col., 2006; Gerschenson y Campos, 1995). Cabe aclarar, que aunque los valores del parámetro b^* aumentaron, el desarrollo de color de las películas no afectaría la aceptabilidad del producto por parte del consumidor. El aumento en las diferencias de color (ΔE) se atribuye principalmente al parámetro Δb^* . Resultados similares fueron informados por otros autores para películas a base de almidón de diferentes orígenes botánicos y aditivadas con sorbato (Famá y col., 2006).

El agregado de sorbato no modificó la luminosidad de las películas. Para las películas aditivadas también se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la luminosidad de ambas caras de las películas para todas las formulaciones ensayadas, como en el caso de la películas control, descrito en el Capítulo 4 (Tabla 6.4).

El ajuste del pH de la suspensión filmogénica no modificó los parámetros de color superficial de las películas (Tabla 6.4). Sin embargo, Famá y colaboradores (2006) informaron que el índice de amarillamiento de las películas de almidón de mandioca con 0.1 a 0.3% de sorbato de potasio disminuyó al ajustar el pH de 6.7 a 5.

Tabla 6.3.1. Parámetros de color superficial de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y la mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A) con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS). Evaluación de ambas caras de las películas.

	<i>Composición de la película</i>	<i>Delta a*</i>	<i>Delta b*</i>	<i>Diferencia de color (ΔE)</i>	<i>Luminosidad (L)</i>
<i>Cara en contacto con el molde</i>	<i>N-1.5G</i>	-0.23±0.02	0.57±0.08	1.57±0.14	96.42±0.16
	<i>N-1.5G-0.3KS</i>	-0.22±0.02	1.39±0.32	2.04±0.29	96.41±0.17
	<i>N-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	-0.23±0.01	1.34±0.31	2.02±0.25	96.38±0.12
	<i>50N+50A-1.5G</i>	-0.22±0.01	0.61±0.03	1.83±0.03	95.76±0.03
	<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	-0.23±0.01	1.47±0.17	2.31±0.12	95.70±0.10
	<i>50N+50A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	-0.22±0.02	1.47±0.23	2.35±0.18	95.63±0.17
	<i>A-1.5G</i>	-0.22±0.01	0.59±0.02	2.24±0.25	95.44±0.05
	<i>A-1.5G-0.3KS</i>	-0.22±0.01	1.51±0.13	2.52±0.21	95.45±0.19
	<i>A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	-0.22±0.01	1.50±0.15	2.54±0.16	95.39±0.23
<i>Cara expuesta al aire</i>	<i>N-1.5G</i>	-0.23±0.01	0.54±0.05	1.80±0.08	96.17±0.07
	<i>N-1.5G-0.3KS</i>	-0.23±0.01	1.32±0.37	2.18±0.23	96.17±0.07
	<i>N-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	-0.22±0.01	1.32±0.36	2.18±0.22	96.17±0.05
	<i>50N+50A-1.5G</i>	-0.24±0.03	0.60±0.04	2.14±0.10	95.42±0.09
	<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	-0.23±0.02	1.48±0.10	2.54±0.12	95.42±0.17
	<i>50N+50A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	-0.23±0.03	1.48±0.09	2.56±0.15	95.39±0.19
	<i>A-1.5G</i>	-0.22±0.02	0.62±0.01	2.96±0.38	94.46±0.47
	<i>A-1.5G-0.3KS</i>	-0.22±0.01	1.38±0.12	3.47±0.18	94.24±0.21
	<i>A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	-0.22±0.02	1.41±0.04	3.48±0.11	94.26±0.14

El estudio de la capacidad de absorción de luz UV de las películas desarrolladas resulta relevante para definir posibles aplicaciones de las mismas para el envasado de alimentos. Si las películas son capaces de absorber en la zona UV se podrían utilizar para envasar y prolongar la vida útil de productos alimenticios de alto contenido graso, susceptibles a la rancidez oxidativa catalizada por acción de los rayos UV. En cambio, si no absorben en esta región espectral, podrían utilizarse para desarrollar envases para alimentos que posteriormente serán sanitizados por exposición a la luz UV con la finalidad de disminuir la carga microbiana de los mismos.

La Figura 6.6 corresponde a los espectros obtenidos para las tres formulaciones en estudio. Para cada caso se muestra el espectro UV-Vis de las películas control, de las películas con el agregado de 0.3% p/p de sorbato, sin y con el pH ajustado de la suspensión.

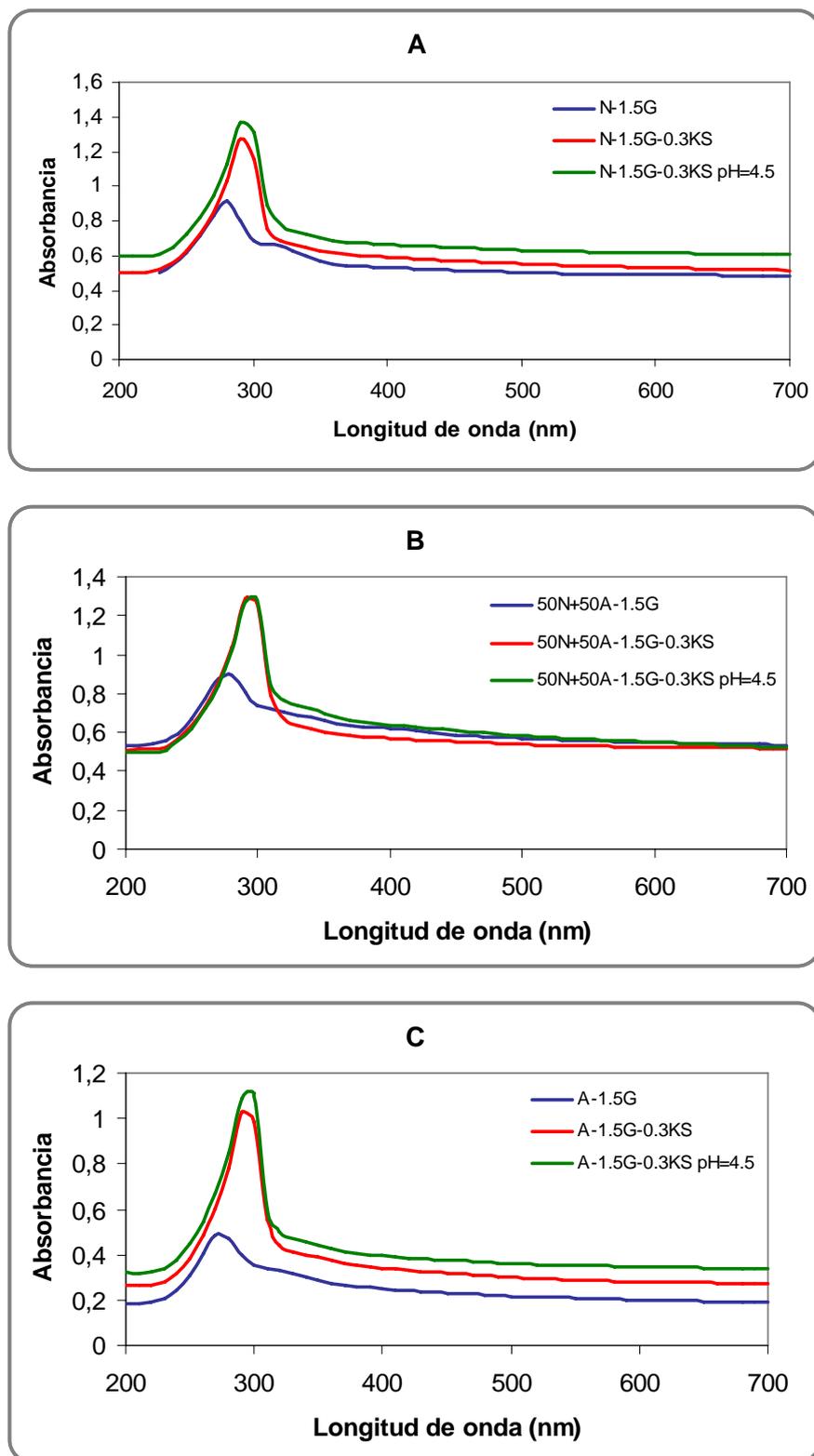


Figura 6.6. Espectros de absorción de luz UV-Vis de películas desarrolladas de almidón de maíz, con 1.5% p/p de glicerol y 0.3% de sorbato de potasio, sin ajustar el pH y con el pH ajustado a 4.5. A) Almidón de maíz nativo. B) Mezcla en iguales proporciones de almidón de maíz nativo y acetilado. C) Almidón de maíz acetilado.

Todas las películas desarrolladas resultaron ser barreras a la luz UV ya que se observó un pico característico de absorción entre 270 y 300 nm. El agregado de sorbato de potasio a las formulaciones permitió desarrollar películas con mayor capacidad de barrera a la luz UV ya que la intensidad del pico de absorción aumentó significativamente (Figura 6.6). En general, el ajuste del pH de la suspensión filmogénica derivó en un aumento de la capacidad de absorción de luz UV.

En la Tabla 6.5 se presentan las propiedades ópticas (opacidad y transparencia) calculadas a partir de los espectros de absorción en la región del visible de las películas desarrolladas.

Tabla 6.5. Espesor, opacidad y transparencia de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y la mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), sin y con el pH ajustado a 4.5.

<i>Composición de las películas</i>	<i>Espesor (μm)</i>	<i>Opacidad (AU x nm)</i>	<i>Transparencia (A_{600}/mm)</i>
<i>N-1.5G</i>	106.33±0.58	170.29±2.16	4.61±0.02
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	117.67±0.58	188.32±1.52	4.55±0.02
<i>N-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	118.67±0.58	207.06±2.10	4.47±0.02
<i>50N+50A-1.5G</i>	126.00±2.00	150.91±2.61	4.22±0.17
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	137.00±1.00	169.05±1.71	3.82±0.01
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	137.67±0.58	186.46±1.95	3.98±0.02
<i>A-1.5G</i>	133.33±1.53	80.18±4.85	1.51±0.02
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	143.00±2.64	90.20±0.97	1.40±0.03
<i>A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	143.67±1.53	99.01±0.89	1.25±0.01

El agregado de sorbato de potasio aumentó la opacidad y disminuyó la transparencia de las películas ($p < 0.05$), independientemente de la formulación. Por otra parte, el ajuste del pH de las suspensiones filmogénicas intensificó la tendencia observada (Tabla 6.5). Zhang y Hang (2006) reportaron valores de transparencia de películas de almidón de arvejas con diferentes plastificantes entre 1.11 y 2.75 A_{600}/mm . Los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis para las películas de almidón de maíz acetilado (1.25-1.51 A_{600}/mm) se encuentran dentro de este rango. Para las películas de almidón nativo y la mezcla los valores hallados (3.82-4.61 A_{600}/mm) resultaron más próximos a los

correspondientes a algunas películas sintéticas, tales como polietileno de baja densidad (LDPE, 3.05 A₆₀₀/mm) y dicloruro de polivinilo (PVDC, 4.58 A₆₀₀/mm).

2. Caracterización microestructural: espesor, microestructura, rugosidad y cristalinidad

El agregado de sorbato de potasio aumentó en promedio 9% el espesor de las películas desarrolladas, siendo este incremento significativo ($p < 0.05$), (Figura 6.7). Ésto podría atribuirse a las modificaciones estructurales causadas por la incorporación del agente antimicrobiano a la matriz polimérica.

La modificación del pH de las suspensiones filmogénicas no causó variaciones significativas ($p > 0.05$) en el espesor de las películas desarrolladas (Figura 6.7).

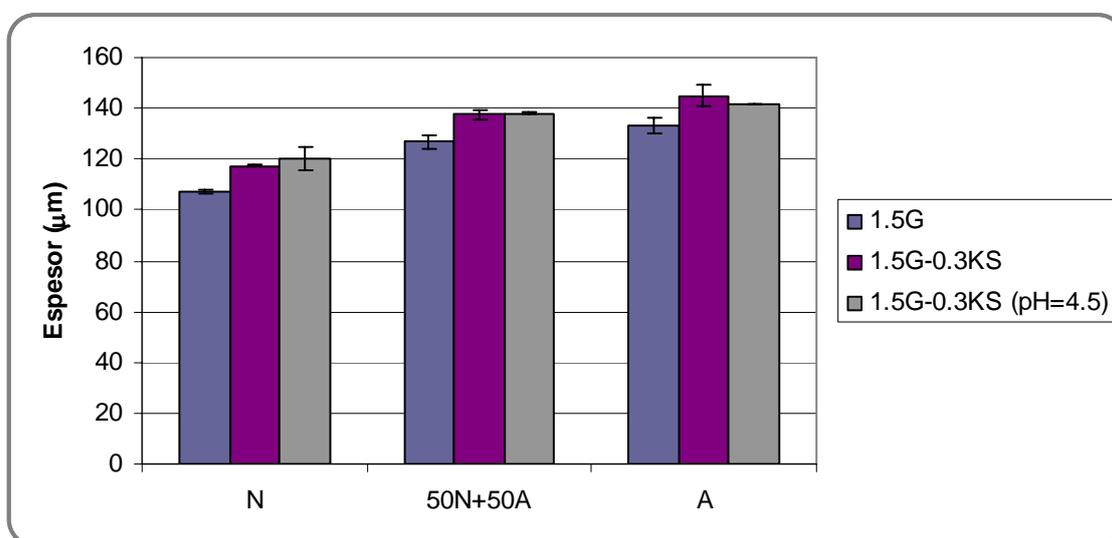


Figura 6.7. Espesores de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), sin y con el pH ajustado a 4.5.

Para analizar el efecto del agregado de sorbato de potasio sobre la morfología, estructura y apariencia de las películas, los materiales desarrollados se analizaron por SEM.

El agregado de sorbato de potasio a las matrices poliméricas no afectó la apariencia de la superficie de las películas desarrolladas (Figura 6.8 A y B). Tampoco se observaron cambios producidos por el ajuste del pH de las suspensiones filmogénicas (Figura 6.8 B y C). Los cortes transversales mostraron que la incorporación del aditivo permitió desarrollar películas que presentaron una estructura interna más irregular que la

correspondiente a las películas control (Figura 6.9 A y B). Esta observación está de acuerdo con el mayor espesor que presentaron las películas aditivadas con sorbato (Figura 6.7). Además, el ajuste del pH no modificó la estructura irregular desarrollada (Figura 6.9 B y C). Por otra parte, las superficies de las tres formulaciones no evidenciaron la presencia de grietas o poros.

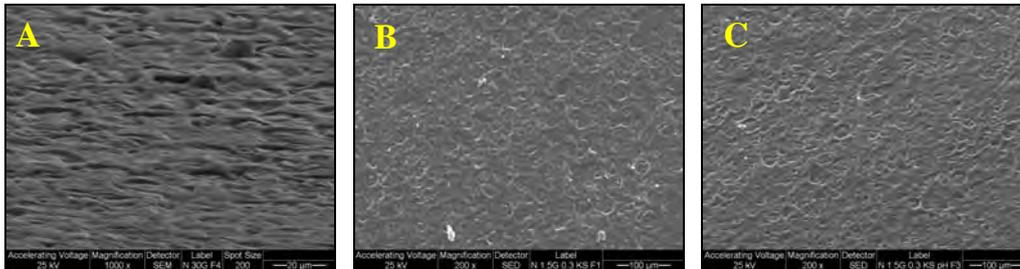


Figura 6.8. SEM de superficies de películas de almidón de maíz nativo. A) Con 1.5% p/p de glicerol. B) Con 1.5% p/p de glicerol y 0.3% p/p de sorbato de potasio. C) Con 1.5% p/p de glicerol, 0.3% p/p de sorbato de potasio y pH 4.5.

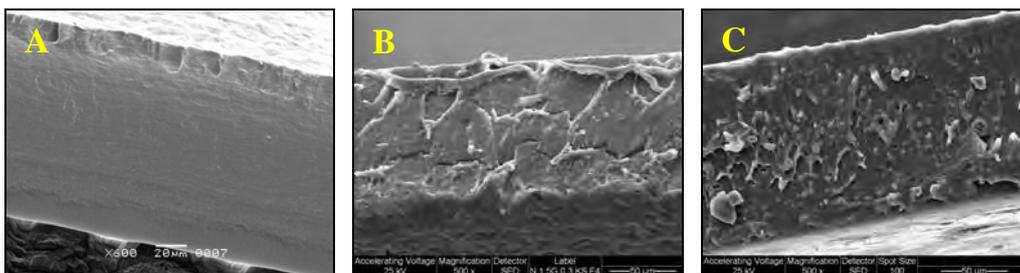


Figura 6.9. SEM de cortes transversales de películas de almidón de maíz nativo. A) Con 1.5% p/p de glicerol. B) Con 1.5% p/p de glicerol y 0.3% p/p de sorbato de potasio. C) Con 1.5% p/p de glicerol, 0.3% p/p de sorbato de potasio y pH 4.5.

También se observó el efecto del tipo de almidón en la morfología de las películas, descrito en el Capítulo 4, ya que la superficie de las películas de almidón acetilado resultaron menos irregulares que las correspondientes al nativo o a la mezcla (Figura 6.10).

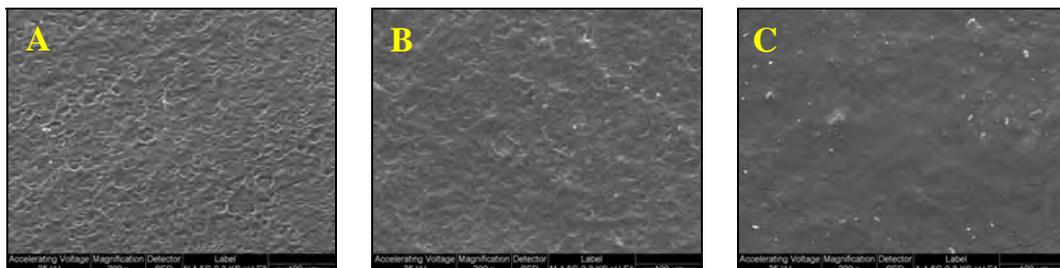


Figura 6.10. SEM de superficies de películas de almidón de maíz con 1.5% p/p de glicerol, 0.3% p/p de sorbato de potasio y pH 4.5. A) Nativo. B) Mezcla de nativo y acetilado en iguales proporciones. C) Acetilado.

La Figura 6.11 muestra las imágenes topográficas en 2D de las superficies de las películas activas. Como no se observó efecto del pH al SEM sólo se realizó AFM de las películas obtenidas a partir de las suspensiones sin ajustar el pH. Además, las imágenes analizadas corresponden a la cara expuesta al aire durante el secado de las películas. Para comparar estas imágenes con las correspondientes a las películas control, presentadas en el Capítulo 4, debe tenerse en cuenta que las imágenes analizadas en este Capítulo son de menor tamaño, por lo que las escalas resultaron diferentes.

Las superficies de las películas con sorbato muestran la presencia de las mismas estructuras granulares remanentes (fantasmas) que se habían observado en las películas control. No obstante, el tamaño de dichas estructuras granulares resultó mayor en las películas activas que en las control.

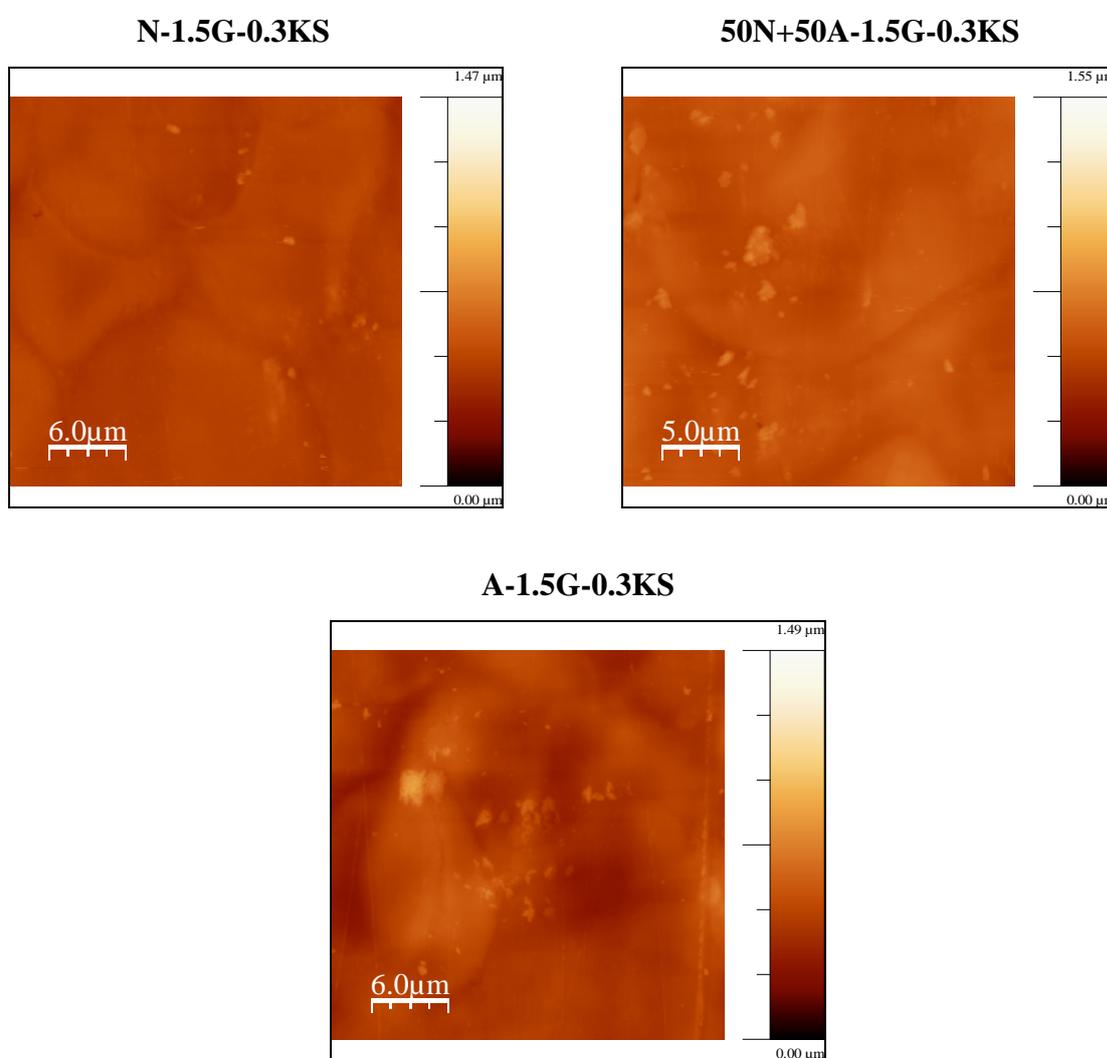


Figura 6.11. Imágenes topográficas AFM en 2D de superficies de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS).

La influencia de la incorporación de sorbato de potasio sobre los parámetros de rugosidad de las superficies de las películas activas se presenta en la Tabla 6.6. Cabe aclarar que los parámetros de rugosidad son comparables independientemente del tamaño de las imágenes analizadas. Se puede observar que la incorporación del agente antimicrobiano a las formulaciones modificó la rugosidad de las superficies ya que los valores de RMS y de rugosidad promedio resultaron menores que los presentados en el Capítulo 4 para las películas control. Por ejemplo, para las películas a base de almidón de maíz nativo, la disminución del valor de RMS y de la rugosidad promedio resultó de 13%; este efecto se debe a la acción plastificante del sorbato de potasio. El empleo de almidón acetilado en la formulación de las películas activas permitió desarrollar películas menos rugosas ya que los parámetros resultaron menores (Tabla 6.6). Esta misma tendencia se observó para las películas control cuyos resultados se presentaron en el Capítulo 4 y con las observaciones al SEM de las películas aditivadas con sorbato de potasio (Figura 6.10).

Tabla 6.6. Parámetros de rugosidad de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS).

<i>Composición de la película</i>	<i>Tamaño de la imagen analizada ($\mu\text{m} \times \mu\text{m}$)</i>	<i>Parámetros de rugosidad</i>		
		<i>RMS (μm)</i>	<i>Rugosidad promedio (μm)</i>	<i>Superficie (μm^2)</i>
<i>N-1.5G</i>	50x50	0.506	0.3939	2627.71
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	30x30	0.436	0.346	908.51
<i>50N+50A-1.5G</i>	64x64	0.3917	0.3085	4416.33
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	25x25	0.311	0.218	632.14
<i>A-1.5G</i>	50x50	0.3113	0.2431	2634.89
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	30x30	0.256	0.102	903.83

Las imágenes topográficas en 3D que se muestran en la Figura 6.12 refuerzan los resultados obtenidos a partir de las imágenes en 2D y del análisis de la rugosidad de las superficies descripto. La comparación de estas imágenes con las correspondientes a las películas control (Capítulo 4) nuevamente evidencia la disminución de la rugosidad de las superficies por la incorporación del sorbato de potasio.

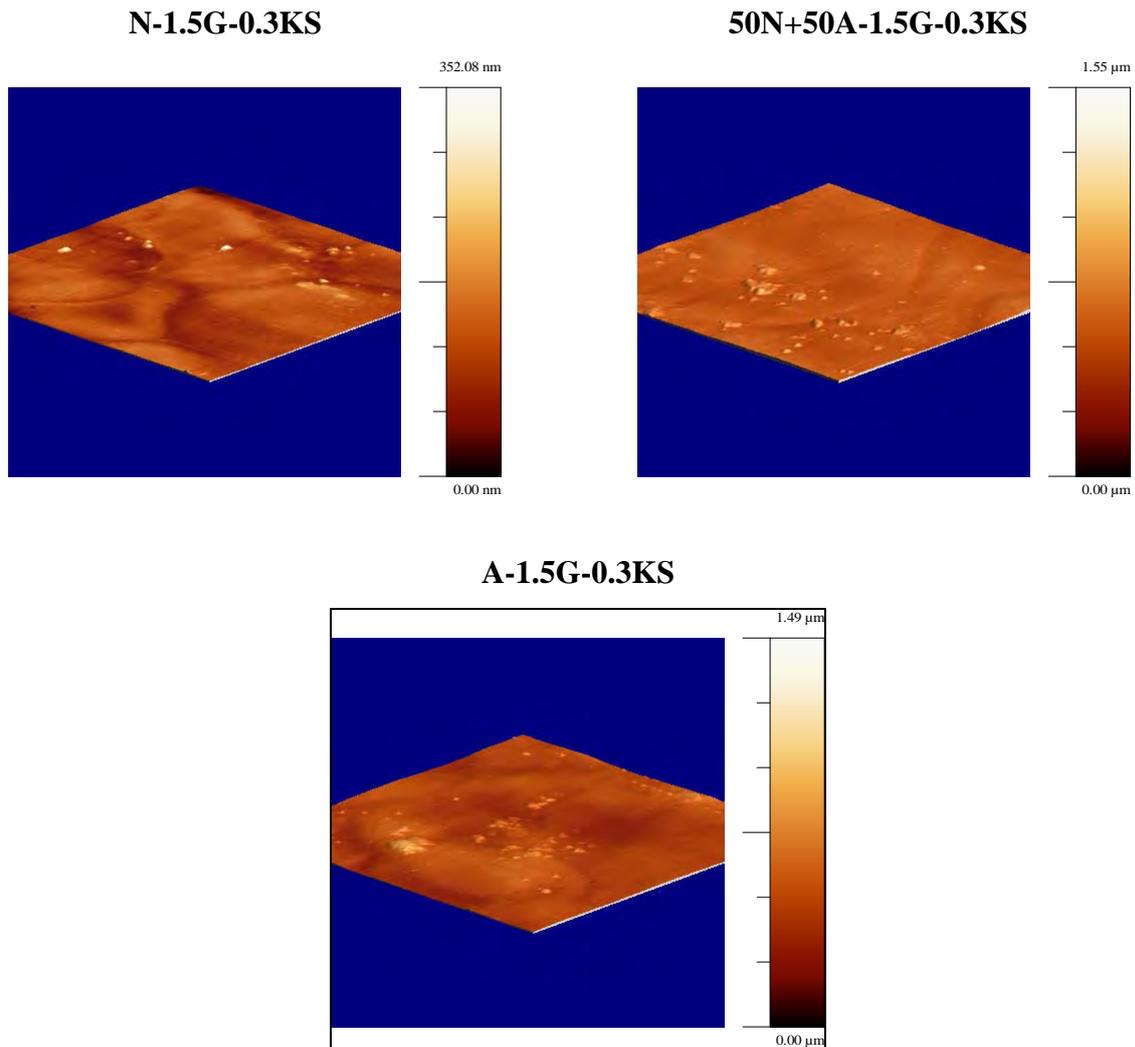


Figura 6.12. Imágenes topográficas AFM en 3D de superficies de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS).

La Figura 6.13 muestra los difractogramas y los grados de cristalinidad de las películas plastificadas con 1.5% p/p de glicerol sin aditivo y con 0.3% p/p de sorbato de potasio. Las películas con glicerol y sorbato de potasio presentaron patrones de difracción similares a los correspondientes a las películas con glicerol observándose la presencia de los mismos picos de difracción característicos, aunque de menor intensidad (Figura 6.13). La incorporación de sorbato disminuyó la fracción cristalina de las películas. La acción plastificante ejercida por el sorbato previene parcialmente el desarrollo de la cristalización ya que podría interactuar con las cadenas poliméricas obstaculizando su alineación e interfiriendo en el empaquetamiento de las cadenas de amilosa (Famá y col., 2005). La disminución de la fase cristalina de un material semicristalino está

estrechamente vinculada con el aumento del contenido de humedad del mismo, en el caso de matrices hidrofílicas.

Si bien en este Trabajo de Tesis no se realizaron los ensayos de DRX de las películas activas con pH 4.5, en la literatura se ha informado que en películas de almidón de mandioca con 0.1 a 0.3% de sorbato de potasio, el ajuste del pH de 6.7 a 5 aumentó levemente la fracción cristalina de estos materiales (Famá y col., 2006).

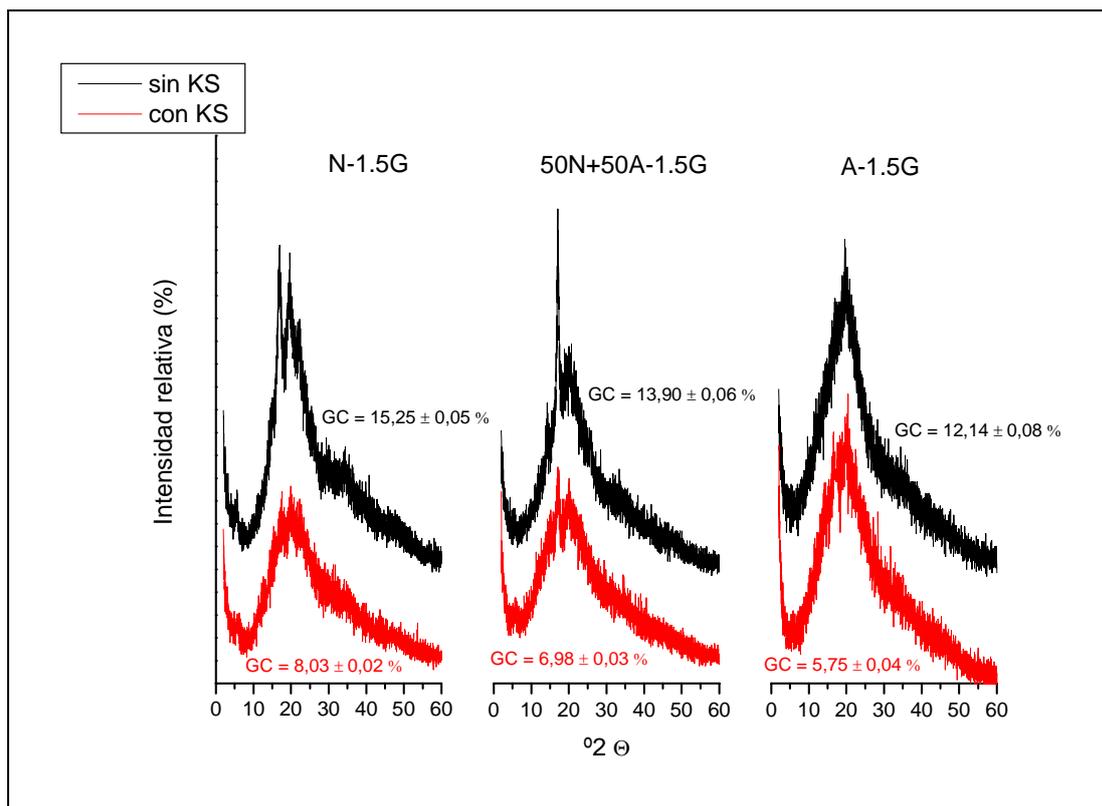


Figura 6.13. Difractogramas y grado de cristalinidad (GC) de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5 % p/p de glicerol (1.5G), sin aditivo (sin KS) y con 0.3% p/p de sorbato de potasio (con KS).

3. Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

La Figura 6.14 muestra los espectros FTIR de las películas de almidón de maíz nativo control y las aditivadas con 0.3% p/p de sorbato de potasio (pH sin ajustar y pH 4.5). Se observó que los espectros de las películas aditivadas presentaron las señales típicas de estiramiento, flexión y deformación correspondientes a los grupos funcionales característicos de las películas de almidón, descriptas en el Capítulo 4.

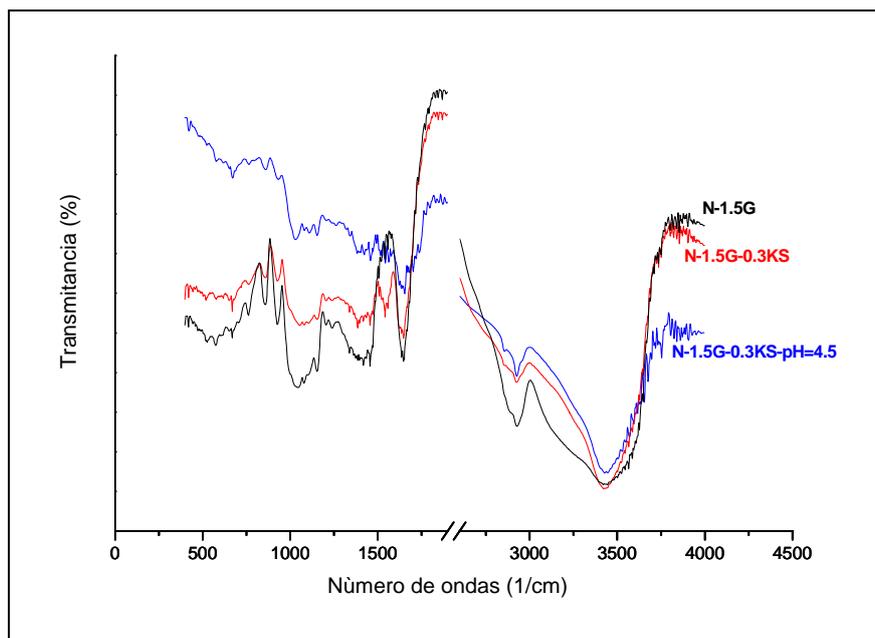


Figura 6.14. Espectros de FTIR de películas de almidón de maíz nativo (N), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), sin el pH ajustado y con pH 4.5.

La Tabla 6.7 presenta la ubicación de las principales señales correspondientes a cada espectro como así también la asignación de las mismas. Se observan pequeños corrimientos de los picos característicos dependiendo de las formulaciones. Estos efectos son comunes y han sido informados para películas a base de hidrocoloides (Zhang y Han, 2006). Se puede observar en los espectros de las tres formulaciones el pico característico del glicerol ubicado alrededor de 1458 cm^{-1} (Whilhem y col., 2003). El agregado de sorbato de potasio disminuyó la intensidad de los picos localizados en la zona de 850 a 1160 cm^{-1} ; el ajuste del pH de la suspensión intensificó esta tendencia. Ésto podría atribuirse a la interacción por puente de hidrógeno entre las cadenas de los constituyentes del almidón y los aditivos, disminuyendo así los estiramientos y flexiones vibracionales de los enlaces C-O-C y C-O-H, respectivamente (Tabla 6.7). Las formulaciones que contenían sorbato de potasio presentaron el pico diferencial correspondiente al estiramiento vibracional del enlace C-O de los grupos acetilo ubicado alrededor de 1730 cm^{-1} (Demirgöz y col., 2000). En las formulaciones con el pH ajustado se observó un leve incremento de la intensidad del mismo.

Tabla 6.7. Asignación de picos de los espectros FTIR de películas de almidón de maíz nativo (N), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), sin el pH ajustado y con pH 4.5.

<i>Número de ondas (cm⁻¹)</i>			<i>Banda asignada</i>	<i>Referencias</i>
<i>N-1.5G</i>	<i>N-1.5G- 0.3KS</i>	<i>N-1.5G- 0.3KS- pH=4.5</i>		
572	514	572	Interacciones de hidrógeno entre polímero-polímero y polímero-agua	Mano y Mendes, 1999
671	669	676		
765	759	765		
865	854	852	Estiramiento vibracional del enlace C-O-C y de las flexiones vibracionales del enlace C-O-H en el almidón. Vibraciones del esqueleto	Nataraj y col., 2008 Naumann, 2000 Shen y Wu, 2003 Synytsya y col., 2003 Wang y col., 2008
921	927	925		
1037	1045	1043		
1159	1153	1159		
1388	1388	1382	Flexiones vibracionales de H-C-H y -C-O-H	Melo y col., 2011
1458	1458	1467	Flexiones δ del grupo O-H del agua y del glicerol	Mano y col., 2003 Whilhem y col., 2003 Zhang y Han, 2006
1648	1645	1656	Flexiones δ del -CH ₃ Vibraciones de los O-H Flexión angular de los O-H del agua	Mano y col., 2003 Mano y Mendes, 1999 Dragunski y Pawlicka, 2001
-	1733	1726	Estiramiento vibracional del enlace C-O de los grupos acetilo	Demirgöz y col., 2000 Reddy y Yang, 2010
2881	2852	2854	Estiramiento simétrico del -CH ₃ y del -CH	Piermaría y col., 2011
2919	2921	2923	Estiramiento del enlace C-H	Zhang y Hang, 2006
3427	3427	3444	Complejo vibracional de estiramiento de O-H libres y enlaces inter e intramoleculares Estiramientos de los O-H del agua asociada al almidón	Fang y col., 2002 Wu, 2003

En la Figura 6.15 se muestran los espectros FTIR de las películas de almidón nativo, acetilado y la mezcla de ambos, plastificadas con 1.5% p/p de glicerol y aditivadas con 0.3% p/p de sorbato de potasio.

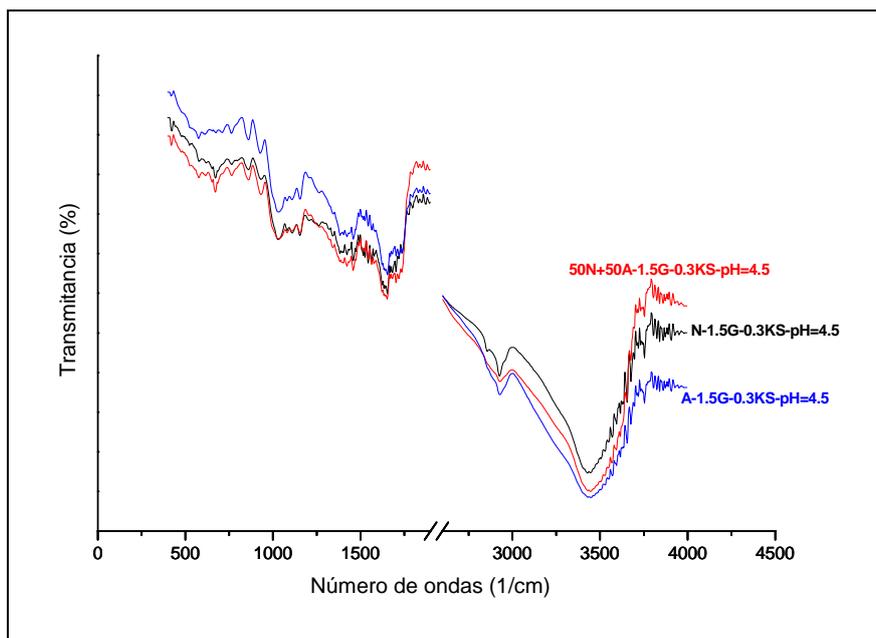


Figura 6.15. Espectros de FTIR de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), con pH ajustado a 4.5.

Los espectros de las películas a base de almidón acetilado y de la mezcla presentaron las mismas señales que las de almidón nativo, pero el pico diferencial ubicado alrededor de 1730 cm^{-1} resultó de mayor intensidad ya que a esta señal contribuyen los grupos acetilo del almidón modificado y el estiramiento del C-O de los grupos del sorbato de potasio y del ácido cítrico (Figura 6.15).

4. Humedad de las películas

El contenido de humedad de las películas resultó significativamente afectado ($p < 0.05$) por la presencia del agente antimicrobiano ya que el sorbato de potasio genera un aumento en la cantidad de agua retenida por las películas (Tabla 6.8). Famá y col. (2006) informaron una tendencia similar para películas de almidón de mandioca, plastificadas con glicerol y aditivadas con sorbato de potasio. Sin embargo, Flores y col. (2007) no hallaron diferencias entre los valores de humedad de películas a base de almidón de mandioca, plastificadas con 2.5% p/p de glicerol, sin y con 0.3% p/p de KS. Para las películas aditivadas con sorbato de potasio desarrolladas en el presente trabajo de Tesis también se observó que el tipo de almidón de maíz utilizado no afectó significativamente ($p > 0.05$) la humedad de las mismas, al igual que en las películas sin el antimicrobiano (Tabla 6.8 y 4.4).

Las películas desarrolladas a partir de las suspensiones filmogénicas cuyo pH fue ajustado a 4.5 presentaron valores de humedad similares ($p > 0.05$) a los correspondientes a las películas sin el pH ajustado.

Tabla 6.8. Humedad de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5 % p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), sin y con el pH ajustado a 4.5.

<i>Composición de la película</i>	<i>Humedad (g de agua/100 g de película)</i>
<i>N-1.5G</i>	15.28±0.91
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	19.03±1.07
<i>N-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	20.02±0.48
<i>50N+50A-1.5G</i>	15.75±0.51
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	19.48±0.28
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	19.10±0.28
<i>A-1.5G</i>	15.68±0.38
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	18.95±0.78
<i>A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	19.75±0.54

5. Solubilidad en agua

En la Tabla 6.9 se presentan los valores de solubilidad en agua a 25 y 100 °C de las películas plastificadas con glicerol, sin y con el agregado de sorbato de potasio. Como era de esperar, la solubilidad de las películas activas se incrementó con el aumento de la temperatura. Además, se observó que las películas que contenían almidón acetilado presentaron menores valores de solubilidad para las dos temperaturas ensayadas. Estos resultados coinciden con los hallados para las películas sin y con glicerol informados en el Capítulo 4. La presencia de sorbato aumentó significativamente la solubilidad de las películas en agua, siendo este aumento a 25 °C del 62.3, 64.3 y 62.5% para las películas a base de almidón nativo, acetilado y su mezcla, respectivamente. (Tabla 6.9). Como se mencionó anteriormente, el agregado del antimicrobiano produjo una estructura menos ordenada (menor grado de cristalinidad), aumentando la solubilidad en agua de las películas desarrolladas. Así, los resultados obtenidos al SEM, DRX y solubilidad concuerdan e indican la acción plastificante del sorbato de potasio en las matrices de almidón.

Tabla 6.9. Solubilidad en agua a 25 y 100 °C de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5 % p/p de glicerol (1.5G) y , 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), sin y con el pH ajustado a 4.5.

<i>Composición de la película</i>	Solubilidad en agua (%)	
	25 °C	100 °C
<i>N-1.5G</i>	13.63±0.02	26.31±0.55
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	22.12±1.27	36.72±1.45
<i>N-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	21.93±1.41	37.03±0.82
<i>50N+50A-1.5G</i>	12.64±0.01	24.36±0.11
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	20.54±0.20	34.30±0.10
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS (pH=4.5)</i>	20.83±1.09	34.74±0.45
<i>A-1.5G</i>	11.34±0.21	22.27±0.43
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	18.63±0.08	32.97±0.14
<i>A-1.5G-0.3KS(pH=4.5)</i>	18.17±0.12	33.26±0.39

6. Propiedades de barrera

Como se mencionó en otras oportunidades, la principal función del envase de un alimento es evitar o disminuir la transferencia de humedad entre el mismo y la atmósfera circundante, por lo tanto es importante desarrollar películas con bajos valores de WVP (Lacroix, 2009). La Figura 6.16 muestra que la adición de 0.3% p/p sorbato de potasio a la matriz polimérica no afectó significativamente ($p>0.05$) la WVP de las películas ensayadas, a pesar de que las mismas resultaron menos cristalinas. Sin embargo, estos resultados están de acuerdo con la ausencia de poros y grietas, observadas en las imágenes SEM, que presentaron las películas aditivadas. Resultados similares fueron reportados por Flores y colaboradores (2007) trabajando con películas de almidón de mandioca, plastificadas con glicerol (2.5% p/p) y con agregado de sorbato de potasio (0.3 % p/p). Cagri y colaboradores (2001) también obtuvieron la misma tendencia para películas de proteínas con 0.5 y 0.75% de ácido sórbico. Sin embargo, Shen y colaboradores (2010) informaron un aumento en la WVP de películas a base de almidón de batata cuando emplearon una concentración mucho más elevada de sorbato de potasio (15% p/p). Por lo tanto, el efecto de la adición de este antimicrobiano sobre la WVP de las películas depende de la concentración empleada del mismo y se atribuye a su acción plastificante y carácter hidrofílico. Además, se observó el efecto de la incorporación del almidón modificado, descrito en el Capítulo 3, ya que,

en general, las películas de almidón acetilado resultaron alrededor de 88% menos permeables al vapor de agua que las formuladas con almidón nativo.

No se observó efecto significativo ($p > 0.05$) del pH sobre la permeabilidad al vapor de agua de las películas activas.

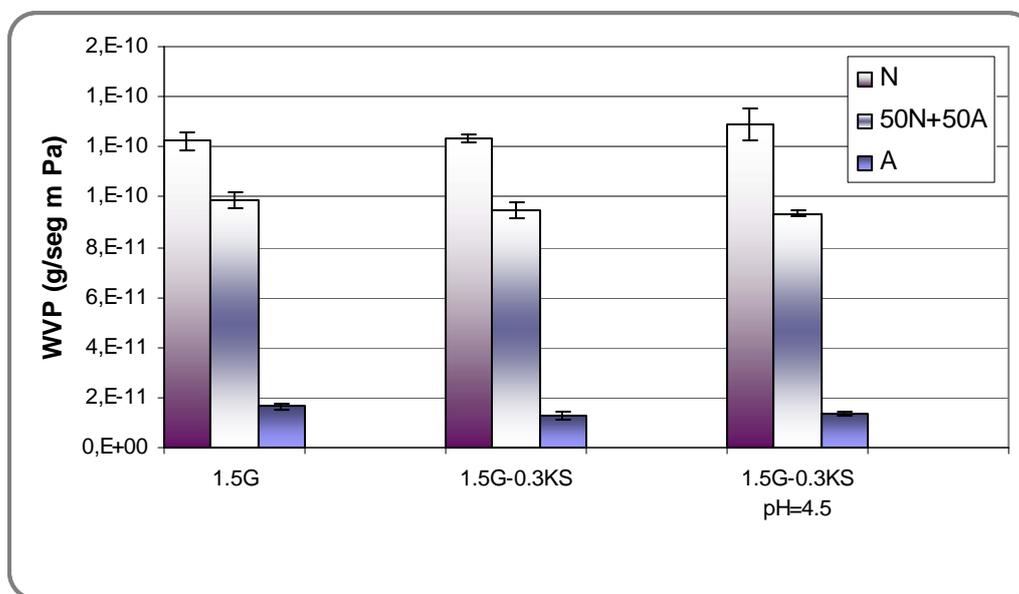


Figura 6.16. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5 % de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), sin y con pH ajustado a 4.5.

Los resultados de permeabilidad al CO_2 y O_2 para las películas a base de almidón con sorbato desarrolladas en el presente trabajo se presentan en la Tabla 6.10, como así también los valores correspondientes a las películas control. Se puede observar que si bien la incorporación de sorbato de potasio a las matrices poliméricas aumentó significativamente ($p < 0.05$) los valores de permeabilidad a los gases de las mismas, las matrices desarrolladas mantienen su carácter de permeación selectiva al CO_2 y al O_2 . Esta tendencia también fue reportada por Shen y colaboradores (2010) para la permeabilidad al oxígeno de películas a base de almidón de batata con sorbato de potasio. Según Müller y Krochta (1997) la permeabilidad a los gases depende fundamentalmente de la estructura de la matriz polimérica. Así, las observaciones al SEM que indican una estructura más irregular concuerdan con los resultados de permeabilidad a los gases (Tabla 6.10). Arvanitoyannis y Biliaderis (1999) indicaron que la incorporación de sorbato, por su acción plastificante, debilita las fuerzas intermoleculares entre las cadenas poliméricas de almidón, facilita su movilidad e

incrementa el volumen libre disponible a través del cual difunden los gases. Además, en los polímeros semicristalinos como el almidón, parte del volumen está ocupado por agregados de cadenas de polímeros ordenados en arreglos cristalinos, los cuales son considerados impermeables a los gases y vapores. Por lo tanto, la disminución del grado de cristalinidad de las películas por incorporación del sorbato se correlaciona con el aumento de la permeabilidad a los gases observado. Además, el uso de almidón acetilado disminuyó los valores de permeabilidad obtenidos, como en el caso de las películas control. Ésto se atribuye, como se describió en el Capítulo 4, a que los grupos acetilos afectan la solubilidad de los gases permeantes y consecuentemente la permeabilidad de los mismos a través de las películas (Müller y Krochta, 1997). Como el ajuste del pH de la suspensión no modificó la estructura de las matrices con sorbato (Figura 6.8 y 6.9), se espera que la permeabilidad a los gases no se vea afectada.

Tabla 6.10. Permeabilidad al O₂ y al CO₂ de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y un mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5% p/p de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS).

<i>Composición de la película</i>	<i>Permeabilidad al O₂ x 10¹⁰</i>	<i>Permeabilidad al CO₂ x 10⁹</i>	<i>Coefficiente de selectividad (β)</i>
	<i>(cm³/m seg Pa)</i>	<i>(cm³/m seg Pa)</i>	<i>P_{CO2}/P_{O2}</i>
<i>N-1.5G</i>	3.97±0.05	5.37±0.27	13.51
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	6.36±0.12	8.30±0.88	13.10
<i>50N+50A-1.5G</i>	3.40±0.04	4.72±0.27	13.87
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	5.86±0.17	7.81±0.56	13.33
<i>A-1.5G</i>	3.12±0.05	4.03±0.02	12.92
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	5.50±0.10	7.62±0.12	13.85

7. Propiedades mecánicas

El efecto de la incorporación de sorbato de potasio sobre los perfiles mecánicos de las películas ensayadas se muestra en la Figura 6.17. El agregado de antimicrobiano modificó las curvas esfuerzo-deformación de las películas, comportándose como materiales dúctiles y muy flexibles (Figura 6.17) ya que los valores de esfuerzo de tensión disminuyeron mientras que las elongaciones a la ruptura aumentaron muy significativamente ($p < 0.01$). El aumento en la ductilidad de las matrices se muestra también en la Tabla 6.11. Además, las películas de almidón acetilado resultaron 14%

más rígidas (menos flexibles) que las de almidón nativo, manteniéndose la relación en las películas aditivadas.

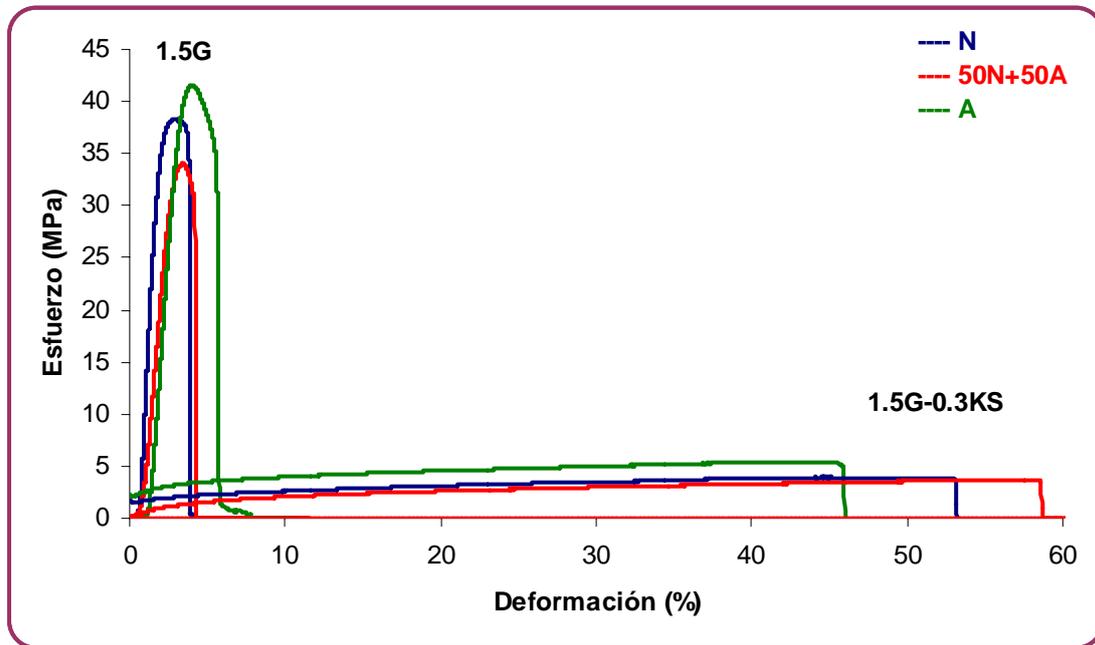


Figura 6.17. Perfiles mecánicos de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5 % de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS).

Cuando se incorpora el antimicrobiano se producen modificaciones estructurales en la red de almidón que determinan que bajo un esfuerzo los movimientos de las cadenas poliméricas estén facilitados (Flores y col. 2007). Este efecto del sorbato de potasio sobre las propiedades mecánicas de películas a base de diferentes almidones también fue reportado por otros autores (Shen y col., 2010; Flores y col., 2007).

Como se informó con anterioridad, la incorporación de sorbato de potasio en las películas estudiadas produjo una disminución en el grado de cristalinidad y un aumento en el contenido de humedad de las mismas (Figura 6.13 y Tabla 6.8). Así, los resultados obtenidos de DRX y de humedad de estos materiales muestran una estrecha correlación con las propiedades mecánicas informadas.

El ajuste del pH no modificó significativamente ($p > 0.05$) el comportamiento mecánico de las películas activas. Por ejemplo, las películas de almidón de maíz cuyo pH se ajustó a 4.5 con ácido cítrico, presentaron un esfuerzo de 4.30 ± 0.01 MPa y una deformación porcentual de $54.45 \pm 0.06\%$.

Tabla 6.11. Propiedades mecánicas de películas de almidón de maíz nativo (N), acetilado (A) y una mezcla de ambos en iguales proporciones (50N+50A), con 1.5 % de glicerol (1.5G) y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS).

<i>Composición de la película</i>	<i>Esfuerzo (MPa)</i>	<i>Deformación (%)</i>
<i>N-1.5G</i>	34.57±1.56	4.15±0.30
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	4.29±0.29	53.07±0.06
<i>50N+50A-1.5G</i>	38.29±1.50	3.95±0.42
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	4.36±0.26	57.99±0.29
<i>A-1.5G</i>	41.85±2.44	3.58±0.46
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	5.13±0.10	45.81±0.06

8. Análisis termo-mecánico

Los patrones dinámico-mecánicos de las películas activas presentaron, al igual que las películas control, dos relajaciones (Figura 6.18). En general, la señal correspondiente a la relajación de la fase rica en almidón resultó poco definida; así, la detección de los cambios asociados fue difícil, dependiendo de la formulación.

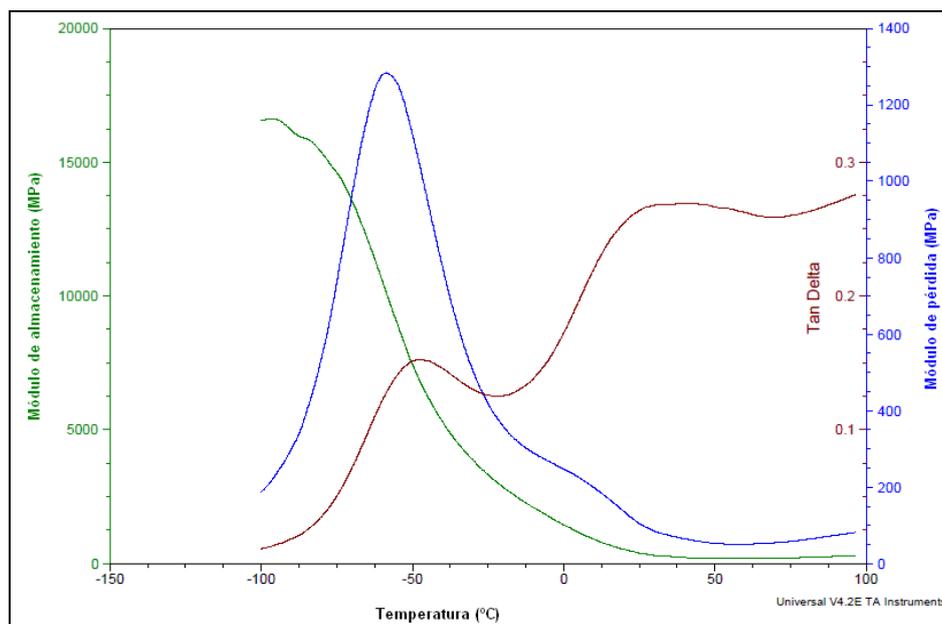


Figura 6.18. Evolución isocrónica del módulo de almacenamiento (E'), de pérdida (E'') y factor de pérdida ($\tan \delta$) en función de la temperatura de películas de almidón de maíz acetilado, con 1.5% p/p de glicerol y 0.3% p/p de sorbato de potasio.

En la Tabla 6.12 se presentan los valores de las temperaturas de relajación de la fase rica en glicerol evaluadas a través del máximo de la curva de $\tan \delta$. Estos valores variaron entre -45 y -56 °C, dependiendo de la formulación, siendo mayores que los

informados para películas de almidón de mandioca con concentraciones de sorbato de potasio de 0.1 a 0.3% (Famá y col., 2006).

Tabla 6.12. Temperaturas de relajación asociadas a la transición vítrea de la fase rica en glicerol de películas de almidón de maíz con 1.5% p/p de glicerol y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS) determinadas por DMA (10 Hz).

<i>Composición de la película</i>	<i>Temperatura de relajación de la fase rica en glicerol evaluada a través del máximo de $\tan \delta$ (°C)</i>
<i>N-1.5G</i>	-52.24±0.30
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	-55.34±0.78
<i>N-1.5G-0.3KS-pH=4.5</i>	-55.92±0.56
<i>50N+50A-1.5G</i>	-45.03±0.42
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	-46.03±0.42
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS-pH=4.5</i>	-47.60±0.49
<i>A-1.5G</i>	-48.78±1.63
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	-50.11±0.91
<i>A-1.5G-0.3KS-pH=4.5</i>	-49.23±0.51

Como era de esperar la incorporación de sorbato de potasio disminuyó significativamente ($p < 0.05$) estas temperaturas de relajación, debido principalmente a su acción plastificante. Además, este corrimiento se correlaciona con el aumento del contenido de humedad ya que el agua actúa como diluyente y plastificante, disminuyendo así la temperatura de transición vítrea (Famá y col., 2006; Sothornvit y Krochta, 2005).

El ajuste del pH de las suspensiones filmogénicas no causó variaciones significativas ($p > 0.05$) en la temperatura de relajación de la zona rica en glicerol (Tabla 6.12 y Figura 6.19). Esta tendencia refuerza los resultados obtenidos a partir de los ensayos mecánicos. Famá y colaboradores (2006) informaron que el ajuste del pH de 6.7 a 5 de las formulaciones a base de almidón de mandioca no afectó la temperatura de relajación de la zona rica en glicerol.

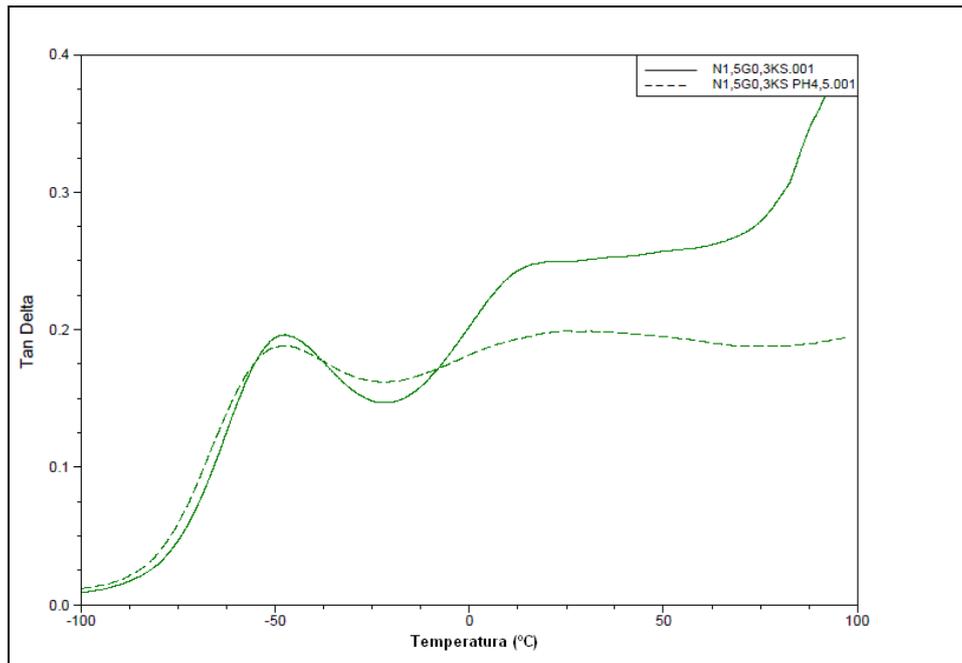


Figura 6.19. Evolución isocrónica del factor de pérdida ($\tan \delta$) en función de la temperatura de películas de almidón de maíz nativo, con 1.5 %p/p (1.5G) de glicerol y 0.3% p/p de sorbato de potasio (0.3KS), sin y con pH ajustado a 4.5.

PARTE III

ESTUDIO DE LA LIBERACIÓN DEL AGENTE ANTIMICROBIANO

El **objetivo** de la tercer parte de este capítulo fue evaluar la difusión del sorbato de potasio desde las películas activas hacia un medio semisólido y proponer un modelo matemático para el proceso difusivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Difusión del sorbato de potasio

La efectividad de las matrices poliméricas para retener el agente antimicrobiano se evaluó a través de la difusión del agente activo en un medio semisólido (gel de agar). Además, se realizaron ensayos de difusión del aditivo desde una solución de sorbato de potasio hacia el medio semisólido con el fin de comparar la efectividad del preservador incorporado a una matriz polimérica y la forma tradicional de aplicación del mismo por inmersión (ó spray) en la superficie del alimento.

Películas empleadas

Se utilizaron películas de almidón de maíz nativo, acetilado y una mezcla de ambos en iguales proporciones, plastificadas con 1.5% de glicerol y aditivadas con 0.3% de sorbato de potasio. La preparación y las condiciones de secado se describieron previamente.

Geles de agar

Se preparó una solución acuosa de agar (Parafarm, Argentina) al 2% p/p que se llevó a ebullición para facilitar la disolución del mismo. La suspensión caliente se moldeó en cilindros de 2 cm de altura y 2.5 cm de diámetro y se dejó enfriar para que solidificara. El volumen del cilindro de gel de agar obtenido resultó de $9.80 \times 10^{-6} \text{ m}^3$.

Solución de sorbato de potasio

Se preparó una solución de sorbato de potasio de concentración 1.31% p/v (87.2 moles/m³). Esta concentración utilizada se determinó a partir de la cantidad promedio de sorbato de potasio que contenía cada disco de película, considerando que sobre el gel

de agar se colocarían 250 μL y que las cantidades de aditivo contenido en el disco de película y en dicho volumen de solución deberían ser similares.

Preparación de las muestras

Se prepararon tres muestras diferentes para cada tiempo de muestreo:

1) Geles con película

Se cortaron discos de película del mismo diámetro de los geles de agar (2.5 cm), se pesaron y se depositaron sobre los mismos.

2) Geles con solución de sorbato de potasio

Se depositaron sobre los geles de agar 250 μL de solución de sorbato de potasio al 1.31% p/v con una pipeta automática. Dicho volumen de solución contenían 3.27×10^{-3} g y 2.18×10^{-5} moles de sorbato de potasio.

3) Geles testigo

Se utilizó un gel sin película ni solución que sirvió de testigo (blanco) para la determinación espectrofotométrica de la concentración de sorbato difundida.

Los geles se almacenaron a 4 °C y a diferentes intervalos de tiempo se tomaron muestras para evaluar la difusión de sorbato. Los tiempos ensayados fueron los siguientes: 0.17, 0.33, 0.5, 0.83, 1, 1.16, 1.5, 2, 2.42, 4.32, 6, 12, 24, 36, 48 y 60 hs.

Determinación de la concentración sorbato difundida

La determinación de la concentración de sorbato de potasio en los geles de agar se realizó según modificaciones del método oficial para determinar ácido sórbico (AOAC, 1977). En el caso de los geles que tenían la película depositada sobre su superficie, la misma se retiró y se registró su peso para calcular el hinchamiento porcentual de la película por ganancia de humedad.

Cada cilindro de gel de agar se cortó en cuatro rodajas iguales de 0.5 cm de espesor, cuyos volúmenes resultaron ser 2.45×10^{-6} m³ y se registró el peso de cada una de ellas. Cada rodaja se disolvió en 40 mL de agua destilada, mediante un calentamiento suave. Se tomaron 2.5 mL de esta solución, se agregaron 625 μL de HCl 0.1 N, para asegurar que el antimicrobiano se encuentre en su forma no disociada y se llevó a 100 mL con agua destilada en matraz aforado. Se midió la absorbancia de la solución obtenida a una longitud de onda de 260 nm, utilizando agua destilada como referencia y celdas de

cuarzo. Además, los geles de agar testigo se sometieron al mismo tratamiento que las muestras, para considerar la absorción de luz de la matriz de agar.

La curva de calibración que se utilizó fue la misma que se construyó para determinar el contenido de sorbato de potasio de las películas desarrolladas.

Modelado matemático del proceso de difusión de sorbato de potasio

Se analizó en forma comparativa la difusión de sorbato de potasio desde un medio M_1 constituido por: a) una solución líquida de sorbato de potasio y b) una película de almidón aditivada con sorbato de potasio. En ambos casos la difusión se producía hacia un medio M_2 en contacto con M_1 (Figura 6.20). El medio M_2 correspondía a un gel de agar representando un sistema modelo de alimento de alto a_w .

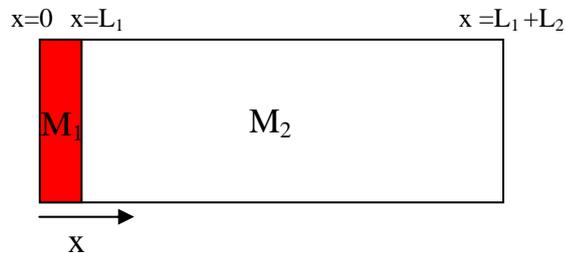


Figura 6.20. Esquema del proceso de difusión de sorbato de potasio desde M_1 (solución ó película activa) hacia M_2 (gel de agar).

Para realizar el modelado matemático del proceso difusivo se empleó la segunda Ley de Fick. La ecuación de difusión unidireccional en estado no estacionario se puede escribir de la siguiente manera:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad [6.1]$$

donde C corresponde a la concentración del sorbato de potasio en el medio, t el tiempo, x la posición y D el coeficiente de difusión del sorbato en el medio.

Si se considera que el coeficiente de difusión D es constante en cada medio resultan las siguientes ecuaciones:

- En el medio M_1 donde x varía entre 0 y L_1 :

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = D_1 \frac{\partial^2 C_1}{\partial x^2} \quad [6.2]$$

- En el medio M_2 donde x varía entre L_1 y L_2 :

$$\frac{\partial C_2}{\partial t} = D_2 \frac{\partial^2 C_2}{\partial x^2} \quad [6.3]$$

donde C_1 son las concentraciones de sorbato de potasio en la solución o en la película y C_2 son las concentraciones del aditivo en el gel de agar.

Las condiciones iniciales a $t=0$ fueron las siguientes:

$$C(x,0) = C_0 \text{ en } 0 \leq x \leq L_1 \quad [6.4]$$

$$C(x,0) = 0 \text{ en } L_1 \leq x \leq L_2 \quad [6.5]$$

Las condiciones de contorno a $t>0$ fueron:

- Continuidad de los flujos de materia:

$$D_1 \frac{\partial C_1}{\partial x} = D_2 \frac{\partial C_2}{\partial x} \quad [6.6]$$

- Equilibrio en la interfase en $x=L_1$

$$C_2(L_1,t) = K_{12} C_1(L_1,t) \quad [6.7]$$

- Flujo nulo en $x = 0$

$$\frac{\partial C_1}{\partial x} = 0 \quad [6.8]$$

- Flujo nulo en $x = L_1+L_2$

$$\frac{\partial C_2}{\partial x} = 0 \quad [6.9]$$

Para modelar los resultados experimentales se utilizó un programa COMSOL Multiphysics Finite Element Analysis Simulation Software (USA, 2007) que resuelve las ecuaciones diferenciales a derivadas parciales utilizando el método de elementos finitos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 6.21 muestra los resultados experimentales para la difusión del sorbato de potasio desde una solución y desde una matriz polimérica a base de almidón de maíz nativo hacia un medio semisólido de alto a_w (gel de agar). Cuando se testearon las películas activas se observó que a las 36 horas difundió el 80% de la masa de sorbato contenida en la matriz, alcanzándose a las 60 horas el 91% de liberación del aditivo. En el caso de difusión del sorbato de potasio desde la solución se pudo observar que después de 36 horas el 98.5% de la masa del aditivo difundió hacia el gel de agar. Así, los resultados obtenidos indican que, como era de esperar, las matrices poliméricas presentaron una mayor capacidad de retención del antimicrobiano.

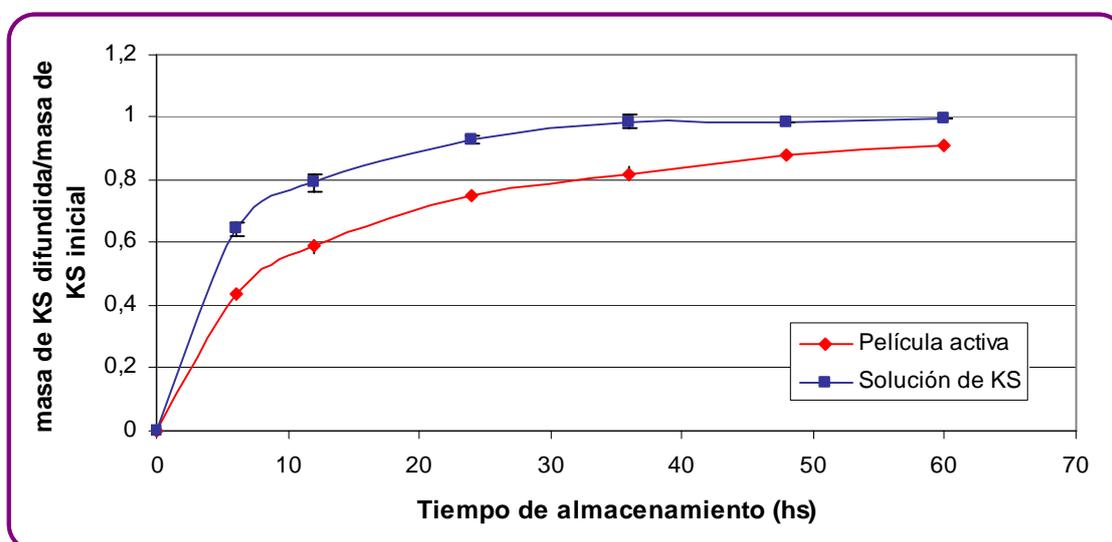


Figura 6.21. Comparación de la relación masa de sorbato de potasio difundida en el gel de agar / masa inicial de sorbato (contenida en solución o en una película activa de almidón) en función del tiempo.

Los valores experimentales de concentración de sorbato de potasio en las distintas secciones del gel de agar, para el caso de la difusión del aditivo desde la solución se muestran en la Figura 6.22. Se observa que a medida que transcurre el tiempo, el aditivo difunde hacia el interior del gel, así en el caso de la rodaja que se encontraba en contacto con la solución de sorbato (rodaja 1) la concentración del aditivo disminuyó 38% al máximo tiempo de difusión ensayado. Ésto indica que al difundir el sorbato hacia el interior del gel de agar, la acción antimicrobiana en la zona cercana a la superficie disminuye rápidamente. Una tendencia similar fue descrita por varios autores (Var y col. 2006; Reys y col. 2002; Quattara y col. 2000). Por lo tanto, si la

aplicación del aditivo se realiza por inmersión o spray será necesario utilizar una solución cuya concentración sea lo suficientemente elevada para asegurar su acción antimicrobiana. Así, en los ensayos realizados para lograr una concentración de 1.86 mol/m^3 en la superficie del gel a las 60 hs, fue necesario aplicar una solución de 87.2 mol/m^3 .

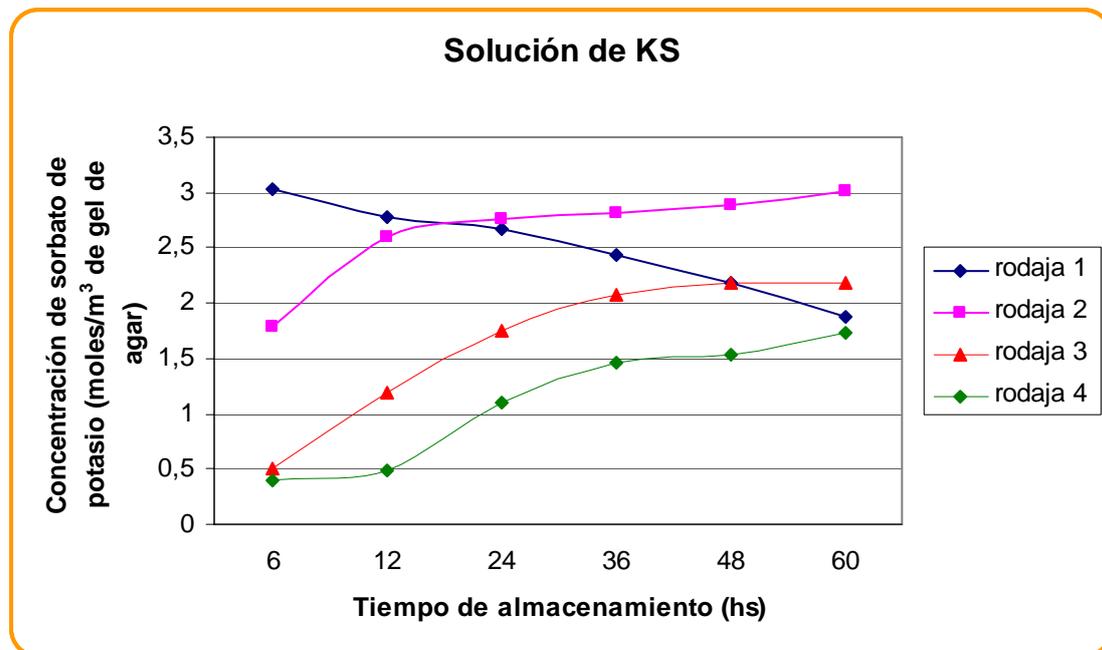


Figura 6.22. Perfiles experimentales de concentración de sorbato de potasio en el gel de agar para el caso de difusión del aditivo desde una solución.

La utilidad del modelo matemático consistió en la posibilidad de predecir los parámetros difusivos con el propósito de proveer información a cerca de los mecanismos de control de liberación del aditivo.

La Figura 6.23 muestra las simulaciones obtenidas para el caso de la difusión del antimicrobiano desde la solución hacia el gel de agar mediante la resolución de las ecuaciones diferenciales de la segunda ley de Fick. Se consideró que la concentración inicial de sorbato en la solución era de 87.2 mol/m^3 y que los coeficientes de difusión del sorbato en la solución y en el gel de agar eran 2×10^{-9} y $6 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, respectivamente. Con estos coeficientes de difusión se obtuvo un modelo teórico que permitió predecir con buena precisión los perfiles de concentración de sorbato así como también los valores asintóticos. Si bien, el modelo predice la concentración de sorbato en distintas posiciones del líquido (Figura 6.24) y del gel, la validación del mismo se

realizó con los datos experimentales correspondientes al gel. Los valores asintóticos predichos por el modelo resultaron similares a los experimentales, (Figura 6.22).

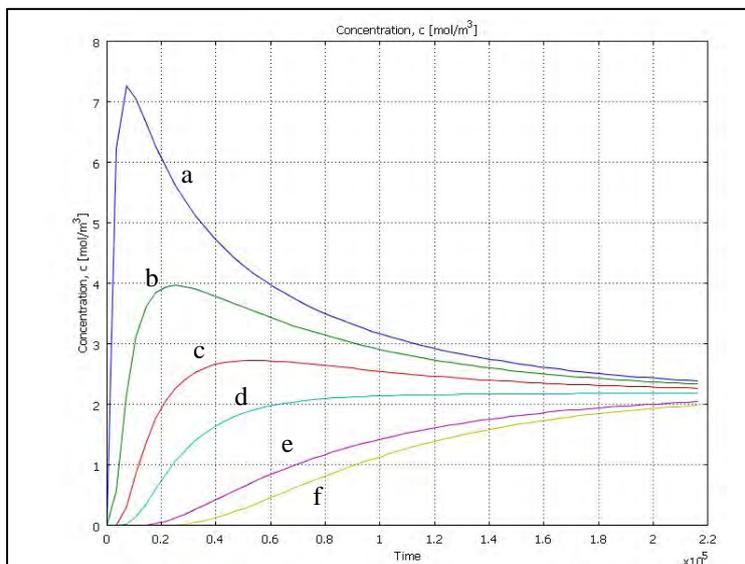


Figura 6.23. Simulaciones de las concentraciones de sorbato en el gel a partir de la difusión desde una solución: las curvas a y b corresponden a la rodaja 1; c y d a la rodaja 2; e a la rodaja 3 y f a la rodaja 4. El tiempo está expresado en segundos.

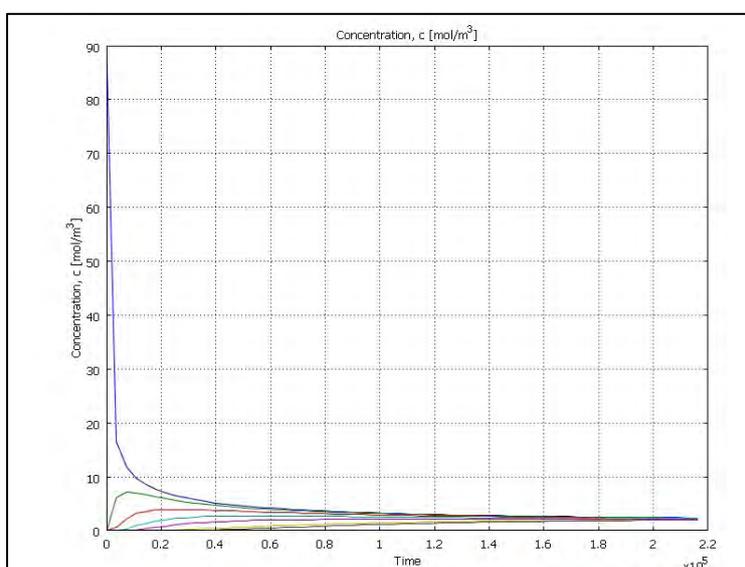


Figura 6.24. Perfiles de concentración de sorbato en el líquido y en el gel. La curva azul corresponde a la difusión en el líquido (a 0.0004m de la interfase) y el resto de las curvas a la difusión en el gel a diferentes posiciones (— 0.0175 m; — 0.015 m; — 0.0125 m; — 0.010 m; — 0.005 m). El tiempo está expresado en segundos.

La comparación de los coeficientes de difusión empleados con valores de literatura resulta dificultosa ya que dependen de las características de los medios líquidos

(particularmente la concentración de aditivo y la viscosidad de la misma) así como también la estructura y contenido de agua del medio sólido hacia el cual difunde. Varios autores han informado la difusividad del sorbato de potasio en diferentes alimentos (Choi y col., 2005; Han y Floros, 1998; Giannakopoulos y Guilbert, 1986). A modo de ejemplo se puede mencionar que Ulloa y col. (2009) informaron coeficientes de difusión de sorbato de 3.9×10^{-9} a $8.3 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ en rodajas de mango desde una solución a base de jarabe de sacarosa.

Los valores experimentales de concentración de sorbato de potasio en las distintas secciones del gel de agar para el caso de la difusión del aditivo desde las películas activas se muestran en la Figura 6.25. A través de los perfiles experimentales puede observarse que la concentración de sorbato en la rodaja en contacto con la película (rodaja 1) sólo disminuyó el 9%, manteniéndose prácticamente constante alrededor de $2.25 \text{ mol}/\text{m}^3$. Ésto demuestra la eficiencia de las películas activas para mantener su acción antimicrobiana en la superficie del alimento, comparada con la aplicación del aditivo por inmersión o spray.

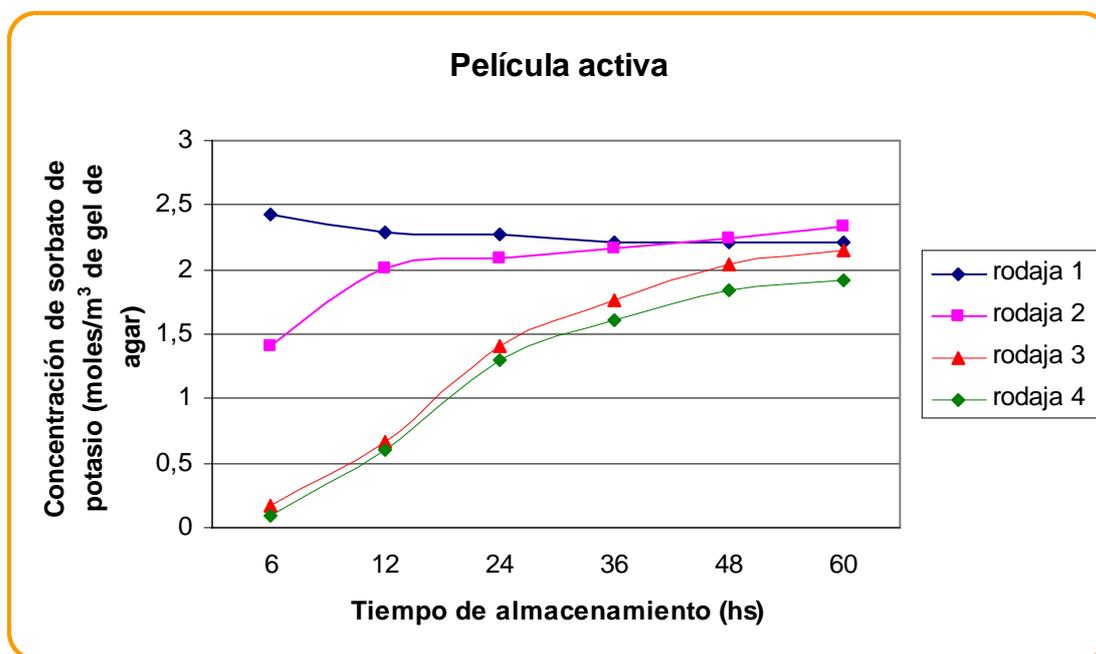


Figura 6.25. Perfiles experimentales de concentración de sorbato de potasio en el gel de agar para el caso de difusión del aditivo desde una película de almidón de maíz.

La mayoría de los trabajos hallados en la literatura describen y modelan el proceso difusivo de un aditivo desde la película hacia un medio líquido (Flores y col., 2007; Ozdemir y Floros, 2001; Redl y col, 1996; Vojdani y Torres, 1989; Crank, 1975).

Además, el modelado del proceso difusivo desde una matriz hidrofílica resulta de gran interés para la industria farmacéutica ya que estos materiales se utilizan para la liberación controlada de drogas (Siepmann y Siepmann 2008; Peppas y col., 2000). En el presente trabajo de Tesis se desarrolló un modelo teórico que contempla el proceso difusivo desde la película hacia un medio semisólido, situación más compleja pero cercana a la realidad para alimentos de alto a_w .

La Figura 6.26 muestra la simulación de la evolución de la concentración sorbato en el gel de agar cuando el antimicrobiano difunde desde las películas de almidón.

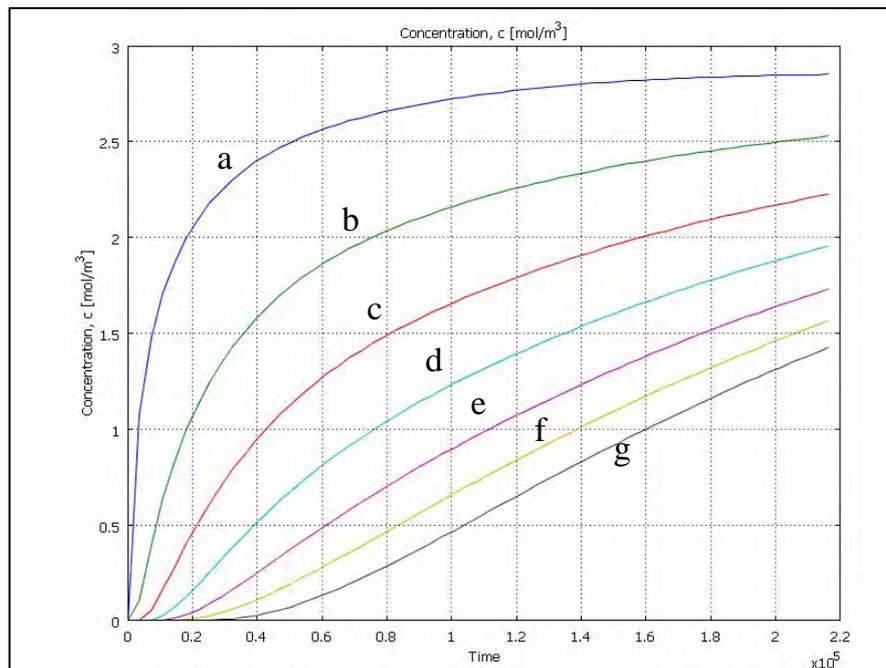


Figura 6.26. Simulaciones de las concentraciones de sorbato en el gel a partir de la difusión desde una película activa de almidón: las curvas a y b corresponden a la rodaja 1; c y d a la rodaja 2; e y f a la rodaja 3 y g a la rodaja 4. El tiempo está expresado en segundos.

Para las simulaciones computacionales se consideró que la concentración promedio del sorbato de potasio en la película fue de 470 mol/m^3 y los coeficientes de difusión del aditivo en la película y en el gel de agar fueron 0.3×10^{-13} y $6 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, respectivamente. El coeficiente de difusión del sorbato en el gel de agar empleado fue el mismo que para el modelo de difusión desde la solución. Por otra parte, se ajustó el valor del coeficiente de difusión del sorbato en la película que permitía predecir los perfiles de concentración. Como en el caso anterior la validación del modelo se realizó

con los datos experimentales correspondientes al gel, observándose que los valores asintóticos predichos resultaron similares y comparables a los experimentales.

Además, cabe destacar que la utilidad del modelo radica en que permite predecir como varía la concentración del aditivo a través de la película aunque experimentalmente sólo pueda determinarse la concentración promedio (Figura 6.27).

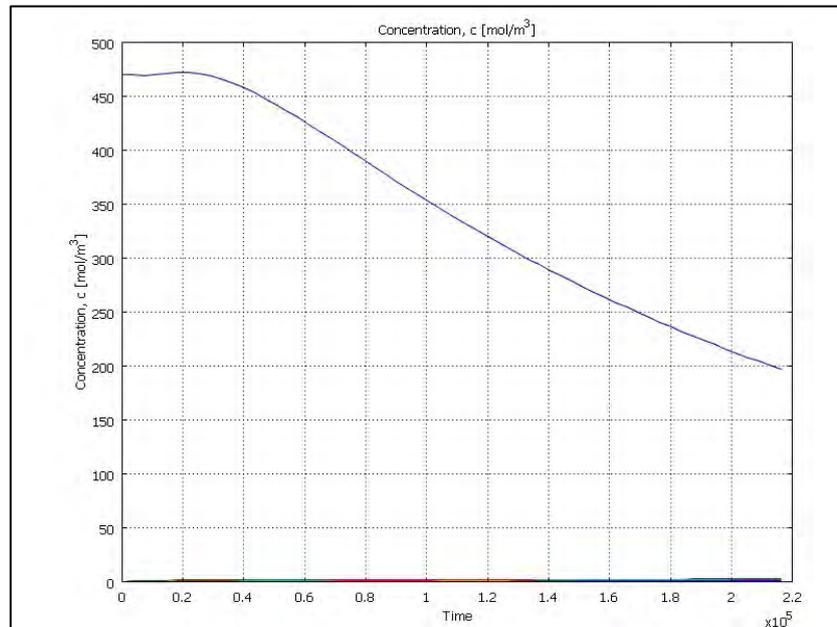


Figura 6.27. Perfiles de concentración de sorbato en la película. La curva azul corresponde a una posición de $10\mu\text{m}$ dentro de la película (a $110\mu\text{m}$ de la interfase), el tiempo está expresado en segundos.

En la literatura existe una amplia variación entre los coeficientes de difusión informados de sorbato de potasio desde películas. Choi y colaboradores (2005) reportaron un valor de $2.6 \times 10^{-13} \text{ m}^2/\text{s}$ para películas de κ -carragenano. Redl y colaboradores (1996) obtuvieron coeficientes de difusión para películas de gluten y sistemas bicapa con cera de abeja de 7.6×10^{-12} y $2.7 \times 10^{-16} \text{ m}^2/\text{s}$, respectivamente. Para películas de proteína de suero se informaron valores entre 4.1 y $9.3 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$, dependiendo de la formulación (Hasan y col., 2006).

Si bien se observó que el modelo teórico ajustó satisfactoriamente los datos experimentales, las diferencias entre los valores experimentales y los predichos podrían atribuirse a que el modelo propuesto considera que el coeficiente de difusión del sorbato en la película se mantiene constante. Fajardo y colaboradores (2010) informaron que se observan desviaciones de la ley de Fick debido al hinchamiento de las matrices hidrofílicas durante el proceso difusivo. Este efecto fue muy importante en las películas

de quitosano, para las cuales se observó un hinchamiento de alrededor del 1015% a tiempos cortos de inmersión en un medio líquido (Fajardo y col, 2010, Baskar y col, 2009; Azevedo y col., 2006).

En el caso de las películas a base de almidón, experimentalmente se determinó que las mismas se hinchan durante el ensayo difusivo (Figura 6.28), lo que indicaría que la matriz, a través de la cual difunde el aditivo, presenta características variables. Buonocore y colaboradores (2003) han desarrollado un modelo complejo que describe la cinética de liberación de diferentes antimicrobianos (lisozima, nisina y benzoato de sodio) desde una matriz altamente hidrofílica hacia un medio acuoso. Así, en investigaciones futuras será necesario introducir en el modelo teórico un coeficiente de difusión de sorbato variable en la película, para tener en cuenta el hinchamiento de la matriz, hacia un medio sólido de alto a_w .

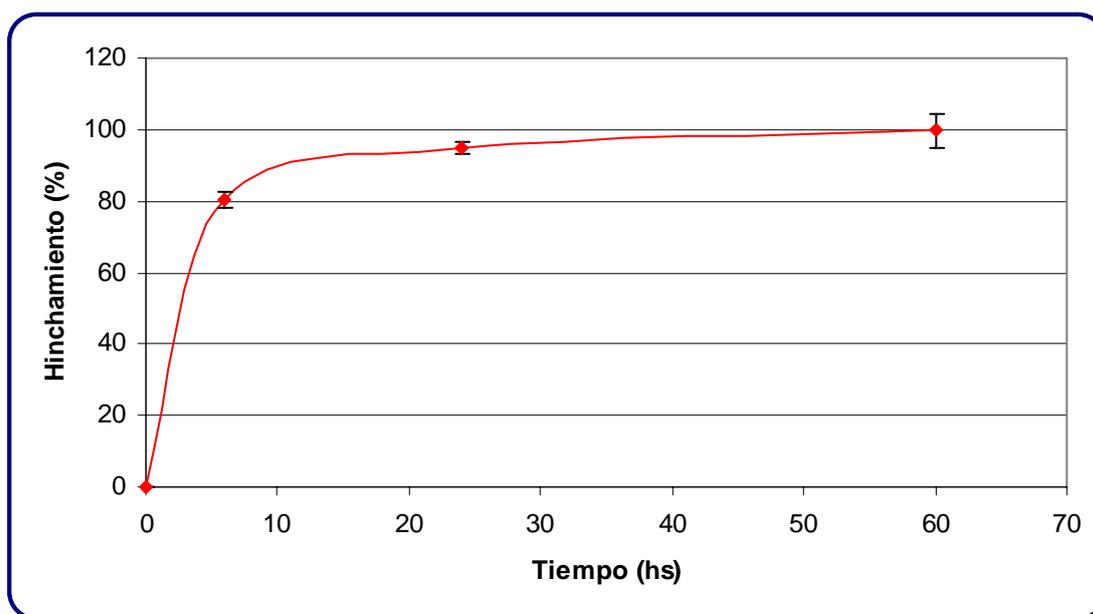


Figura 6.28. Hinchamiento de películas activas de almidón de maíz nativo en contacto con geles de agar de alto a_w durante el ensayo difusivo.

Para evaluar el efecto de la formulación de las películas en el proceso difusivo del sorbato de potasio hacia el medio semisólido, se midió la concentración del aditivo en el gel de agar a las 60 hs de ensayo; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.13. Se observó que el tipo de almidón empleado para la formulación de las películas no afectó los valores asintóticos de concentración de sorbato en el gel. Además, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las formulaciones con y sin el ajuste del pH. Choi y col. (2005) estudiaron la dependencia de los coeficientes de

difusión de sorbato desde películas de κ -carragenano con el pH de la solución hacia la que difunde el aditivo, no observando diferencias significativas. Además, Quattara y col. (2000) reportaron una tendencia similar para el caso de las difusividades de ácido acético y propiónico desde películas a base de quitosano.

Tabla 6.13. Concentración de sorbato de potasio en el gel de agar luego de 60 hs de contacto con películas activas a base de almidón de maíz.

<i>Composición de la película</i>	<i>Concentración de sorbato de potasio en el gel de agar (mol/m³)</i>	
	<i>pH sin ajustar</i>	<i>pH=4.5</i>
<i>N-1.5G-0.3KS</i>	8.61±0.15	8.44±0.57
<i>50N+50A-1.5G-0.3KS</i>	8.57±0.20	8.44±0.01
<i>A-1.5G-0.3KS</i>	8.50±0.70	8.32±0.05

N: almidón de maíz nativo – **A:** almidón de maíz acetilado – **50N+50A:** mezcla de almidón nativo y acetilado en iguales proporciones – **1.5G:** 1.5% p/p de glicerol – **0.3KS:** 0.3% p/p de sorbato de potasio.

En conclusión, se pudieron modelar matemáticamente los datos de difusión de un preservador químico como el sorbato de potasio tanto desde una solución como desde una película de almidón, hacia un gel que representa un sistema modelo de alimento de alto a_w . El modelo planteado supuso difusión no estacionaria en ambos medios, con condición de contorno de continuidad en la interfase. Solo requirió ser alimentado con las dimensiones del sistema y las concentraciones iniciales de sorbato en la solución o en la película, según el caso, ajustándose los coeficientes de difusión en los diferentes medios. Con las simulaciones numéricas se pudieron predecir las concentraciones alcanzadas en las distintas secciones del gel. Este modelo matemático resulta una herramienta útil para poder simular procesos de difusión desde soluciones formuladas por ejemplo, con otras concentraciones del preservador y/o para distintas dimensiones del gel.

CONCLUSIONES

En este trabajo de Tesis se desarrollaron y caracterizaron películas biodegradables a partir de almidones nativos de diferente origen botánico (maíz, ahípa y mandioca) y de almidones de maíz químicamente modificados (acetilado, acetilado entrecruzado, hidroxipropilado entrecruzado y modificado vía ácida).

1. Caracterización de los almidones

Se realizó un análisis integral de las propiedades fisicoquímicas, microestructurales y funcionales de estos almidones utilizando diferentes técnicas complementarias con el fin de proponer posibles aplicaciones industriales de los mismos, especialmente en la formulación de alimentos.

1.1 Almidones nativos

El almidón de maíz estudiado en este trabajo de Tesis presentó un contenido de amilosa de 23.86%, cuyos gránulos exhibieron un grado de cristalinidad de 19.20%. Sus suspensiones presentaron una sola transición endotérmica alrededor de los 72 °C, correspondiente al proceso de gelatinización, indicando que puede utilizarse en productos alimenticios cuya elaboración requiera de un tratamiento térmico a altas temperaturas. Este almidón puede emplearse como agente espesante en la formulación de alimentos de apariencia opaca debido a la capacidad de hinchamiento de sus gránulos en suspensión a medida que ésta se calienta y a la baja claridad de sus pastas (1.27%). El estudio reológico de las suspensiones gelatinizadas demostró que este almidón puede actuar como ligante o aglutinante de una amplia variedad de ingredientes, además de otorgar consistencia a diversos productos alimenticios. Como es sabido el almidón de maíz nativo posee características y propiedades funcionales que lo hacen adecuado para la formulación de diferentes productos, con la ventaja adicional de su amplia disponibilidad, bajo costo y fácil manipulación. A pesar de esta amplia funcionalidad, el almidón de maíz nativo presenta la limitación de no ser adecuado para la formulación de productos refrigerados ya que sus pastas presentaron tendencia a la retrogradación. Por otra parte, tampoco se recomienda su uso para productos congelados ya que sus pastas no presentaron buena estabilidad durante el proceso de congelación-descongelación, generando exudado por sinéresis y estructura tipo esponja.

Los almidones de ahípa y mandioca se obtuvieron a escala de laboratorio, a partir de un proceso de extracción optimizado. Esta técnica resultó eficiente ya que permitió obtener muestras representativas de ambos almidones con buenos rendimientos (ahípa: 56.54 y

mandioca: 80.88%), sin niveles detectables de proteínas asociadas. Además, observaciones al SEM mostraron que este procedimiento no causó daño en los gránulos. Las ventajas de este método son su bajo costo y su simplicidad, por lo que podría ser implementado por cooperativas agrícolas, contribuyendo de esta manera al desarrollo de regiones económicamente comprometidas. Estos almidones exhibieron bajos contenidos de amilosa (ahipa: 10.75 y mandioca: 15.79%), por lo que podrían considerarse aditivos alternativos al almidón de maíz para la industria alimentaria debido a su alta digestibilidad y capacidad para desarrollar pastas más estables. A partir del estudio del proceso de gelatinización, se determinó que los almidones de las raíces tuberosas presentaron una mejor aptitud para la cocción ya que sus temperaturas de gelatinización resultaron más bajas (ahipa: 67.18 y mandioca: 69.90 °C) que las del almidón de maíz. Los gránulos de estos almidones también presentaron buena capacidad de hinchamiento pudiendo emplearse así como agentes espesantes para productos de apariencia brillante ya que sus pastas resultaron más claras (ahipa: 7.95 y mandioca: 15.04%) que las de almidón de maíz. El almidón de mandioca sería apto para la formulación de productos cuya elaboración no requiera condiciones de procesamiento drásticas ya que, si bien sus pastas presentaron valores altos de viscosidad, el elevado índice de tixotropía indicó que son susceptibles a la aplicación de esfuerzos de corte en función del tiempo. Una de las principales ventajas de estos almidones es la baja tendencia a la retrogradación que presentaron sus pastas cuando se almacenaron bajo condiciones de refrigeración. Sin embargo, no tuvieron buena estabilidad frente al proceso de congelación-descongelación, haciéndolos poco recomendables en la formulación de productos congelados.

En conclusión, diferentes fuentes botánicas proveen almidones nativos con propiedades funcionales características que permiten el empleo de los mismos en productos alimenticios con requerimientos de procesamiento específicos.

1.2 Almidones químicamente modificados de maíz

Los almidones acetilado, acetilado entrecruzado e hidroxipropilado entrecruzado empleados en este trabajo de Tesis presentaron grados de sustitución de 2.20, 1.89 y 0.21%, respectivamente. Estos valores se corresponden con un bajo grado de modificación e indican que durante los tratamientos se preservó la estructura de los gránulos permitiendo obtener derivados compatibles para la formulación de productos alimenticios; además de cumplir con los requerimientos del CAA. Estos resultados se

reforzaron con observaciones morfológicas al SEM que demostraron que ninguna de estas modificaciones químicas empleadas causó cambios en la forma y apariencia de los gránulos de almidón.

La sustitución y modificaciones duales (sustitución+entrecruzamiento) afectaron algunas características y propiedades funcionales del almidón de maíz. Estos tratamientos disminuyeron el contenido de amilosa, confiriéndoles así la capacidad de desarrollar pastas más estables con baja tendencia a la retrogradación. Las temperaturas de gelatinización de sus suspensiones resultaron menores que las del almidón nativo. Por otra parte, resultaron más apropiados como agentes espesantes que el almidón nativo para productos que requieran una apariencia brillante, tales como productos de confitería, debido a la mayor claridad de sus pastas. Estos almidones modificados presentaron menor tendencia a la retrogradación que el almidón nativo; además, los derivados acetilado e hidroxipropilado entrecruzado presentaron buena estabilidad al proceso de congelación-descongelación, convirtiéndolos así en alternativas viables para la formulación de alimentos refrigerados o congelados.

La hidrólisis ácida del almidón nativo permitió obtener un almidón modificado con un contenido de amilosa similar al del nativo. A partir de las observaciones al SEM se demostró que el tratamiento ácido se realizó bajo condiciones suaves y controladas ya que no se observaron daños ni cambios en la morfología de los gránulos. La modificación vía ácida disminuyó la capacidad de hinchamiento de los gránulos, presentando las suspensiones gelatinizadas un comportamiento Newtoniano.

La modificación química de un almidón nativo permite mejorar y/o diseñar sus propiedades, convirtiéndolos en materias primas potencialmente útiles con fines particulares.

2. Películas de almidones nativos y químicamente modificados de maíz

Las suspensiones filmogénicas de los tres almidones nativos estudiados fueron capaces de formar películas homogéneas que se removieron fácilmente de los moldes.

El almidón hidrolizado de maíz no presentó capacidad formadora de películas. Si bien las suspensiones filmogénicas de los almidones sustituidos y dualmente modificados formaron películas, se seleccionó el acetilado ya que los materiales desarrollados presentaron mejor apariencia e integridad.

2.1 Optimización de las formulaciones

La concentración óptima de almidón en la suspensión gelatinizada para la obtención de películas se determinó a partir del análisis de la permeabilidad al vapor de agua (WVP), siendo la misma 5% p/p, independientemente del tipo de almidón empleado. Para mejorar las propiedades de barrera y el comportamiento mecánico de las películas se analizó el efecto de la incorporación de glicerol como plastificante y se optimizó su concentración a partir de las propiedades de barrera al vapor de agua y el comportamiento mecánico de las películas. Las películas a base de los tres almidones nativos y el de maíz acetilado, plastificadas con 1.5g de glicerol/100 g de suspensión filmogénica, presentaron la menor WVP y buena flexibilidad. El uso de almidón acetilado en la formulación mejoró las propiedades de barrera de estos materiales. De los almidones nativos utilizados se seleccionó al almidón nativo de maíz por su bajo costo y su gran disponibilidad.

3. Películas a base de mezclas de almidón de maíz nativo y acetilado

Se obtuvieron y caracterizaron películas a partir de diferentes mezclas a base de almidón de maíz nativo y acetilado.

3.1 Optimización de las formulaciones

La concentración óptima de plastificante para las formulaciones a base de las mezclas de almidones también resultó ser 1.5%, ya que aseguró bajos valores de WVP y buen desempeño mecánico. Para seleccionar la mezcla más adecuada se consideraron las propiedades de barrera al vapor de agua y el costo de las materias primas, siendo la mezcla en iguales proporciones la que presentó mejor relación costo- beneficio.

4. Caracterización de las matrices

Se caracterizaron películas formuladas a partir de almidón de maíz nativo, acetilado y la mezcla de ambos en iguales proporciones y se estudió la influencia de la composición sobre las propiedades fisicoquímicas, microestructurales y de barrera.

La adición de glicerol incrementó la humedad de las películas debido al carácter hidrofílico del mismo, mientras que el tipo de almidón empleado no modificó los contenidos de humedad.

Para evaluar la hidrofiliidad de las películas expuestas a diferentes humedades relativas se obtuvieron las isotermas de sorción, las que se clasificaron como Tipo II, según BET.

Los datos obtenidos fueron ajustados empleando diferentes modelos matemáticos aplicados comúnmente a productos de almidón y el modelo que mejor ajustó los datos experimentales dependió de la formulación. Respecto al modelo de GAB, el agregado de glicerol a la formulación aumentó el contenido de agua de la monocapa (X_m) y disminuyó el parámetro C, relacionado con el calor de sorción.

La solubilidad en agua de las películas aumentó con la temperatura y con la adición de plastificante. Las películas de almidón acetilado presentaron la menor solubilidad, debido a la naturaleza hidrofóbica del sustituyente.

Se realizaron ensayos de digestibilidad de las películas, ya que éstas resultan comestibles, debido al status GRAS de sus componentes. En los ensayos de simulación gástrica se observó que la solubilidad fue mayor que en medio acuoso y que el agregado de plastificante permitió una mayor digestibilidad.

La observación microestructural al SEM mostró que las películas sin plastificar exhibieron estructuras multicapas y que el agregado de plastificante permitió el desarrollo de una estructura más homogénea. La topografía y la homogeneidad de las superficies se evaluaron por AFM. La presencia de estructuras granulares remanentes del almidón, irregularmente espaciadas, le confirieron a las superficies cierto grado de rugosidad que disminuyó tanto con el uso de almidón acetilado como con la incorporación de glicerol en las formulaciones.

Todas las películas resultaron ser materiales semicristalinos, disminuyendo su grado de cristalinidad con el agregado de plastificante y de almidón acetilado a la matriz polimérica. Además, las películas plastificadas presentaron estructuras semicristalinas más estables durante el almacenamiento.

La espectroscopía FTIR demostró la compatibilidad química entre los componentes de las formulaciones. Los espectros FTIR de las películas presentaron las señales típicas correspondientes a los principales grupos funcionales del almidón. Además, las formulaciones que incluían almidón acetilado presentaron el pico característico del grupo sustituyente. En las películas con plastificante se observó el pico del glicerol a 1458 cm^{-1} y el ensanchamiento del pico ubicado en 3440 cm^{-1} .

Las temperaturas de relajación de las películas se determinaron por DMA, mientras que las temperaturas de transición vítrea por DSC. Las películas plastificadas resultaron sistemas parcialmente miscibles mostrando dos relajaciones, una alrededor de $-50\text{ }^\circ\text{C}$, asociada a la transición vítrea de la fase rica en plastificante, y otra alrededor de $60\text{ }^\circ\text{C}$, atribuida a la fase rica en almidón. Los patrones dinámico-mecánicos de las películas

sin plastificar exhibieron una sola relajación, en comparación con las plastificadas, cuyas temperaturas de relajación fueron independientes del tipo de almidón. La incorporación de glicerol disminuyó las temperaturas de relajación de la fase rica en almidón. Los valores de Tg obtenidos por DSC fueron similares a las temperaturas de relajación determinadas por DMA para las películas sin plastificar. Para las películas plastificadas fue necesario utilizar la técnica MTDSC, siendo los valores de Tg 30 % más bajos que los de las películas sin plastificar.

Las propiedades de barrera de las películas se consideran críticas en el diseño de envases para alimentos. El tipo de almidón base afectó las permeabilidades a los gases de las películas plastificadas, obteniéndose los valores más bajos para las de almidón acetilado. Las películas presentaron permeabilidad diferencial (permeabilidad al O₂ menor que al CO₂), por lo que resultaron barreras selectivas a los gases.

Respecto a las propiedades ópticas, la incorporación del almidón acetilado aumentó la transparencia de las películas, mientras que el plastificante la disminuyó. Los bajos valores de diferencia de color registrados indicaron que estos materiales son prácticamente incoloros, siendo esta característica útil en el caso de envases donde la visibilidad del producto condiciona su aceptabilidad.

Si bien todas las películas desarrolladas presentaron capacidad de termosellado el comportamiento mecánico y las propiedades de barrera determinaron que sólo las películas plastificadas son aptas para el desarrollo de envases. Además, el uso de almidón acetilado en las formulaciones aumentó la resistencia del cierre.

También se evaluó la biodegradabilidad de las películas plastificadas bajo condiciones que simulaban ambientes naturales, observándose a los 48 días la desintegración del material. De las condiciones ensayadas, la que presentó la mayor tasa de biodegradación de estos materiales fue la combinación de riego y exposición a la luz solar.

5. Películas por extrusión

Fue posible obtener películas biodegradables por el método de extrusión y soplado a partir de almidón termoplástico de maíz nativo, acetilado y mezclas de ambos.

Se seleccionó un proceso de doble pelletización ya que el material obtenido resultaba más homogéneo y se optimizaron las condiciones del proceso de soplado con el fin de obtener películas libres de burbujas y con la mínima variación posible del espesor.

Estas películas resultaron menos homogéneas en cuanto al espesor que las obtenidas por moldeo debido a las condiciones de procesamiento. El efecto de la composición en el

contenido de humedad, las propiedades mecánicas y de barrera de las películas extrudadas resultaron similares a las obtenidas por moldeo. Las películas por extrusión también presentaron permeabilidad diferencial a los gases, con coeficientes de selectividad similares a los de las películas obtenidas por moldeo.

El análisis dinámico-mecánico de los materiales mostró el efecto ampliamente conocido de la concentración de glicerol sobre las temperaturas de relajación asociadas a la T_g .

Las isotermas de sorción indicaron que las películas obtenidas fueron estables hasta $a_w \approx 0.7$. Se observó la influencia de la concentración de glicerol en el contenido de agua de la monocapa (X_m), mientras que dichos valores no fueron afectados por el tipo de almidón empleado.

6. Películas activas de almidón de maíz

A partir de las formulaciones a base de almidón de maíz nativo, acetilado y la mezcla de ambos en iguales proporciones, se desarrollaron y caracterizaron películas con agregado de sorbato de potasio, con el fin de obtener envases activos para alimentos. Además, se evaluó también el efecto del ajuste del pH de la formulación a 4.5.

Se cuantificó espectrofotométricamente el contenido de sorbato en las películas desarrolladas, observándose que éste disminuye durante el almacenamiento debido a su oxidación degradativa, resultando además más amarillentas y menos transparentes. La concentración mínima inhibitoria de sorbato de potasio en muestras de queso fresco resultó ser 0.3% p/p, independientemente del tipo de almidón base y del pH de la suspensión filmogénica.

Todas las formulaciones inhibieron el desarrollo de *Cándida spp.*, siendo este efecto más marcado cuando se ajustó el pH de las suspensiones. Sin embargo, para el caso de *Penicillium spp.* sólo se observó inhibición empleando películas obtenidas a partir de suspensiones con pH ajustado. También se evaluó la acción inhibitoria de las películas activas sobre *S. aureus* y *Salmonella spp.*, bacterias patógenas responsables de enfermedades transmitidas por alimentos. Para ambas bacterias las formulaciones que contenían almidón nativo inhibieron su desarrollo, observándose nuevamente el efecto positivo del ajuste del pH. Sin embargo, para las películas de almidón acetilado sólo se observó inhibición en la zona de contacto entre la película y el medio de cultivo.

Las películas activas desarrolladas fueron efectivas para extender la vida útil de muestras de queso fresco refrigerado hasta los 17 días, independientemente del pH de la formulación.

El agregado de sorbato aumentó las propiedades de barrera al UV de estos materiales. Algunas de las modificaciones observadas en las películas activas se atribuyen a la acción plastificante del sorbato. Así, disminuyó la rugosidad de las superficies, el grado de cristalinidad y la temperatura de la relajación de la zona rica en glicerol; mientras que aumentó el contenido de humedad, la solubilidad, la ductilidad y flexibilidad del material. Además, la adición de sorbato no afectó la permeabilidad al vapor de agua, mientras que aumentó la permeabilidad a los gases, manteniendo la selectividad del material. Los espectros de FTIR mostraron las señales características correspondientes al aditivo, indicando además la compatibilidad del mismo con la matriz polimérica.

El ajuste del pH de la formulación sólo aumentó la capacidad de barrera al UV y la intensidad del pico diferencial del grupo acetilo (1730cm^{-1}) en los espectros FTIR.

Finalmente, se evaluó la liberación del agente activo desde películas a base de almidón hacia un medio semisólido y se comparó su efectividad con la aplicación del preservador por inmersión o spray. Se demostró que la inclusión del sorbato en la matriz polimérica permitió mantener una alta concentración del antimicrobiano en la superficie del producto, donde su acción es requerida. La cinética de liberación del aditivo no fue afectada ni por el tipo de almidón empleado ni por el ajuste del pH de la formulación. Además, se modelaron matemáticamente los datos experimentales de difusión del sorbato de potasio desde una solución o una película de almidón, hacia un medio semisólido que simula un alimento de alto a_w , ajustándose los coeficientes de difusión en los diferentes medios. Así, el modelo permitió predecir como varió la concentración del aditivo a través de la película y en las distintas secciones del gel, como así también los valores asintóticos. El modelo matemático desarrollado es simple y su resolución numérica permite simular procesos difusivos de diferentes aditivos incorporados a matrices poliméricas, teniendo en cuenta solamente la concentración del preservador, las dimensiones de la película y del medio semisólido.

Se puede concluir que a partir de almidón de maíz nativo, acetilado y sus mezclas se pueden obtener películas biodegradables, tanto por el método de moldeo como de extrusión y soplado. Estos materiales presentan adecuadas propiedades de barrera al vapor de agua, permeabilidad diferencial a los gases, buena flexibilidad y resistencia mecánica. A partir de éstos se pueden desarrollar envases ya que poseen capacidad de termosellado e incorporando aditivos se obtienen matrices con funcionalidades específicas.

**REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

- Adebowale, K.O. y Lawal, O.S. (2003). Functional properties and retrogradation behaviour of native and chemically modified starch of mucuna bean (*Mucuna pruriens*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1541-1546.
- Adhikari, B. y Jindal, V.K. (2001). An empirical approach to correlate power law fluid parameters obtained from low shear rate rotational viscometers and tube flow viscometers. *Japan Journal of Food Engineering*, 2(1), 27-33.
- Al-Muhtaseb, A.H.; McMinn, W.A.M. y Magee, T.R.A. (2002). Equilibrium moisture contents and heat of sorption of starch powder, *Proceedings of the 13th IDS'2002, Beijing, China*, 1563-1571.
- Alves, L.A.; Vitolo, M.; Felipe, M.G. y Silva, J.B. (2002). Xylose reductase and xylitol dehydrogenase activities of *Candida guilliermondii* as a function of different treatments of sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate employing experimental design. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98, 403-413.
- Alves., M.M.; Picavet, M.A.; Pereira, M.A.; Cavaleiro, A.J. y Sousa, D.Z. (2007). Novel anaerobic reactor for the removal of long chain fatty acids from fat containing wastewater. WO 2007058557.
- American Society for Testing and Materials-ASTM. Standard test method for seal strength of flexible barrier materials, F88-00. (2001). *Annual Book of ASTM*. Philadelphia, PA.
- American Society for Testing and Materials-ASTM. Standard test methods for water vapor transmission of material. E96-95. (1995). *Annual Book of ASTM Standards*. Philadelphia, PA.
- American Society for Testing and Materials-ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, D882-91. (1996). *Annual Book of ASTM*. Philadelphia, PA.
- Angellier, H.; Molina-Boisseau, S. Dole, P. y Dufresne, A. (2006). Thermoplastic starch-waxy maize nanocrystals nanocomposites. *Biomacromolecules*, 7, 531-539.
- AOAC. Official Method 974.08. Sorbic Acid in Wines Spectrophotometric Method. Final Action (1977). Catalá, R.; Gavara, R. (2001). Nuevos envases: de la protección pasiva a la defensa activa de los alimentos envasados. *Arbor CLXVIII*, 661, 109-127.
- Arvanitoyannis, I. y Biliaderis, C.G. (1999). Physical properties of polyol-plasticized edible blends made of methyl cellulose and soluble starch. *Carbohydrate Polymers*, 38, 47-58.
- Arvanitoyannis, I.; Nakayama, A. y Aiba, S. (1998). Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatine and plasticized by polyols and water. *Carbohydrate Polymers*, 36, 105-119.

- Aryee, F.; Oduro, I.; Ellis, W. y Afuakwa, J. (2006). The physicochemical properties of flour samples from the roots of 31 varieties of cassava. *Food Control*, 17(11), 916-922.
- Avérous L. y Boquillon N. (2004). Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. *Carbohydrate Polymers*, 56(2), 111-122.
- Avérous, L. y Frigant, C. (2001). Association between plasticized starch and polyesters: processing and performances of injected biodegradable systems, *Polymer Engineering & Science*, 41(5), 727-734.
- Azevedo, E.P.; Saldanha, T.D.; Navarro, M.V.; Medeiros, A.C.; Ginani, M.F. y Raffin, F.N. (2006). Mechanical properties and release studies of chitosan Films impregnated with silver sulfadiazine. *Journal of Applied Polymer Science*, 102(4), 3462–3470.
- Bader, H.G y Göritz, D. (1994). Investigation on High Amylose Corn Starch Films. *Starch/Stärke*, 46(6), 229-232.
- barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. *Food Hydrocolloids*, 22(3), 373-386.
- Baskar, D. y Sampath Kumar, T.S. (2009). Effect of deacetylation time on the preparation, properties and swelling behavior of chitosan films. *Carbohydrate Polymers*, 78(4), 767–772.
- Bastioli, C. (2001). Global status- production of biobased packaging. *Starch/Stärke*, 53(8), 351-355.
- Belitz, H.D y Grosch, W. (1997). Cereales y Derivados. En: *Química de los Alimentos*, Belitz, H.D y Grosch, W. (eds). Acribia, Zaragoza.
- Bello-Pérez, L.A. (1995). Amilopectina-Characterización molecular y funcional. Tesis Doctoral, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato, Guanajuato, México.
- Bello-Pérez, L.A.; Osorio-Díaz, P.; Agama-Acevedo, E.; Nuñez-Santiago, C. y Paredes-López, O. (2002). Chemical, physicochemical and rheological of masas and nixtamalized corn flours. *Agrociencia* 2002, 36, 319-328.
- 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.
- Betancur-Ancona, D.; Chel-Guerrero, L.; Camelo-Maros, R.I. y Davila-Ortiz, G. (2001). Physicochemical and functional characterization of baby lima bean (*Phaseolus lunatus*) starch. *Starch/Stärke*, 53(5), 219-226.

- Bikiaris, D.; Pavlidou, E.; Prinos, J.; Aburto, J.; Alric, I.; Borredon, E. y Panayiotou C. (1998). Biodegradation of octanoacted starch and its blends with LDPE. *Polymer Degradation and Stability*, 60, 437-447.
- Biliaderis, C. (1992). Structures and phase transitions of starch in food systems. *Food Technology*, 98-109145.
- Biliaderis, C.; Lazaridou, A. y Arvanitoyannis, I. (1999). Glass transition and physical properties of polyol-plasticised pullulan-starch blends at low moisture. *Carbohydrate Polymers*, 40, 29-47.
- Biliaderis, C.; Page, C.; Maurice, T. y Juliano, B. (1986). Thermal characterization of rice starches: a polymeric approach to phase transitions of granular starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 6-14.
- Bonacucina, G.; Di Martino, P.; Piombetti, M.; Colombo, A.; Roversi, F. y Palmieri, G.F. (2006). Effect of plasticizers on properties of pregelatinised starch acetate (Amprac 01) free films. *International Journal of Pharmaceutics*, 313, 72-77.
- Brody, A. y Marsh, K. (1997). *Wiley Encyclopedia of Packaging Technology*. John Wiley y Sons, New York.
- Brunauer, S.; Emmett, P.H. y Teller, E. (1938). Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *Journal of American Chemical Society*, 60, 309-319.
- Buonocore, G.G.; Del Nobile, M.A.; Panizza, A.; Bove, S.; Battaglia G. y Nicolais, L. (2003). Modeling the lysozyme release kinetics from antimicrobial films intended for food packaging applications. *Journal of Food Science*, 68(4), 1365-1370.
- Burrell, M. (2003). Starch – The need for improved quality or quantity. *Journal of Experimental Botany*, 54, 451-456.
- Cagri, A.; Ustunol, Z. y Ryser, E.T. (2001). Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Science*, 66(6), 865-870.
- Castro, J.V.; Conte, R.N.B.; Carvalho, C.R.L. y Rossetto, C.J. (2003). Effects of postharvest treatments and film packaging on quality of 'haden 2h' mangoes. III International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits.
- Chana-Thaworn, J.; Chanthachum, S. y Wittay, T. (2011). Properties and antimicrobial activity of edible films incorporated with kiam wood (*Cotyleobium lanceotatum*) extract. *Food Science and Technology*, 44(1), 284-292.
- Chang, Y.P.; Cheah, P.B. y Seow, C.C. (2000). Plasticizing-anti-plasticizing effects of water on physical properties of tapioca starch films in the glassy state. *Journal of Food Science*, 65, 445-451.

- Chartoff, R. (1981) Thermoplastic polymers. En: Thermal characterization of polymeric materials, Turi, E.A. (ed). London, USA: Academic Press.
- Chen, J. y Jane, J. (1994). Preparation of granular cold-water-soluble Starches Prepared by alcoholic-alkaline Treatment. *Cereal Chemistry*, 71, 618-622.
- Chen, K.; Li, D.; Wang, I.; Özkan, N.; Chen, X. y Mao, Z. (2007). Dynamic viscoelastic properties of rice kernels studied by dynamic mechanical analyzer. *International Journal of Food Engineering*, 3(2), 1-14.
- Cherian, G.; Gennadios, A.; Weller, C. y Chinachoti, P. (1995). Thermo-mechanical behavior of wheat gluten films: effect of sucrose, glycerin, and sorbitol. *Cereal Chemistry*, 72, 1-6.
- Chirife, J.; Timmermann, E.O. Iglesias, H.A. y Boquet, R. (1992). Some features of the parameter k of the GAB equation as applied to sorption isotherms of selected food materials. *Journal of Food Engineering*, 15, 75-82.
- Cho, S.; Ullsten, H.; Gällstedt, M. y Hedenqvist, M. (2007). Heat-Sealing properties of compression-molded wheat gluten films. *Journal of Biobased Material and Bioenergy*, 1, 56-63.
- Choi, J.H.; Choi, W.Y.; Cha, D.S.; Chinnan, M.J.; Park, H.J.; Lee D.S. y Park, J.M. (2005). Diffusivity of potassium sorbate in κ -carrageenan based antimicrobial film. *Food Science and Technology*, 38(4), 417-423.
- Coupland, J.N.; Shaw, N.B.; Monahan, F.J.; O'Riordan, D. y O'Sullivan, M. (2000). Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. *Journal of Food Engineering*, 43(1), 25-30.
- Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion* (2nd ed). Oxford, UK: Oxford University Press.
- Curvelo, A.A.; Carvalho, A.J. y Agnelli, J.A. (2001). Thermoplastic starch-cellulosic fibers composites: preliminary results, *Carbohydrate Polymers*, 45(2), 183-188.
- Da Roz, A.; Carvalho, A.; Gandini, A. y Curvelo, A. (2006). The effects of plasticizers on thermoplastic starch compositions obtained by melt processing. *Carbohydrate Polymers*, 63, 417-424.
- De Graaf, A.R.; Karman, A.P. y Janssen, L.P. (2003). Material properties and glass transition temperature of different thermoplastic starches after extrusion process. *Starch/Stärke*, 55(2), 80-86.
- De Meuter, P.; Rahier, H. y Van Mele, B. (1999). The use of modulated temperature differential scanning calorimetry for the characterisation of food systems. *International Journal of Pharmaceutics*, 192, 77-84.

- Demirgöz, D.; Elvira, C. y Mano, J. (2000). Chemical modification of starch based biodegradable polymeric blends: effects on water uptake, degradation behaviour and mechanical properties. *Polymer Degradation and Stability*, 70, 161-170.
- Dole, P.; Joly, C.; Espuche, E.; Alric, I. y Gontard, N. (2004). Gas transport properties of starch based films. *Carbohydrate Polymers*, 58(3), 335-343.
- Dragunski, D.C. y Pawlicka, A. (2001). Preparation and characterization of starch grafted with toluene poly(propylene oxide) diisocyanate. *Materials Research*, 4(2).
- Eklund, T. (1983) The antimicrobial effect of dissociated and undissociated sorbic acid at different pH levels. *Journal of Applied Bacteriology*, 54, 383-389.
- Embuscado, M. y Huber, K. *Edible films and Coatings for food Applications*. Springer, London New York. (2009).
- Fajardo, P.; Martins, J.T.; Fuciños, C.; Pastrana, L.; Teixeira, J.A. y Vicente, A.A. (2010). Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese. *Journal of Food Engineering*, 101, 349-356.
- Famá, L. ; Flores, S. ; Gerschenson, L. y Goyanes, S. (2006). Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures. *Carbohydrate Polymers*, 66, 8-15.
- Famá, L.; Goyanes, S. y Gerschenson, L. (2007). Influence of storage time at room temperature on the physicochemical properties of cassava starch films. *Carbohydrate Polymers*, 70, 265-273.
- Famá, L.; Rojas, A.M.; Goyanes, S. y Gerschenson, L. (2005). Mechanical properties of tapioca-starch edible films containing sorbates, *LWT-Food Science and Technology*, 38(6), 631-639.
- Fang, J.M.; Fowler, P.A.; Escrig, C.; Gonzalez, R.; Costa, J.A. y Chamudis, L. (2005). Development of biodegradable laminate films derived from naturally occurring carbohydrate polymers. *Carbohydrate Polymers*, 60(1), 39-42.
- Fang, J.M.; Fowler, P.A.; Tomkinson, J. y Hill, C.A. (2002). The preparation and characterization of a series of chemically modified potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 47, 245-252.
- Farhat, I.A.; Protzmann, J.; Becker, A.; Vallès-Pàmies, B.; Neale, R. y Hill, S.E. (2001). Effect of the Extent of Conversion and Retrogradation on the Digestibility of Potato Starch. *Starch/Stärke*, 53(5), 431-436.
- Fassola, H.E.; Pachas, A.N.; Rohatsch, P.E.; Rodríguez, D.N. y Leidi, E.O. (2006). Valorización y recuperación de la ajipa como cultivo alternativo para sistemas agrícolas

- sostenibles. 52° Congreso Internacional de Americanistas, Pueblos y Culturas de América, 17-21/7/06, Sevilla.
- Ferrero, C.; Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (1993). Stability of frozen starch pastes: effect of freezing, storage and xanthan gum addition. *Journal of Food Processing and Preservation*, 17, 191-211.
- Finkenstadt, V.L. y Willett, J.L. (2004). A direct current resistance technique for determining moisture content in native starches and starch-based plasticized materials. *Carbohydrate Polymers*, 55(2), 149-154.
- Flores, S.K.; Costa, D.; Yamashita, F.; Gerschenson, L.N. y Grossmann M.V. (2010). Mixture design for evaluation of potassium sorbate and xanthan gum effect on properties of tapioca starch films obtained by extrusion. *Materials Science and Engineering*, 30(1), 196-202.
- Flores, S.K.; Famá, L.; Rojas, A.M.; Goyanes, S. y Gerschenson, L. (2007). Physical properties of tapioca-starch edible Films: influence of filmmaking and potassium sorbate. *Food Research International*, 40, 257-265.
- Follain, N.; Joly, C.; Dole, P y Bliard, C. (2005). Properties of starch based blends. Part 2. Influence of poly vinyl alcohol addition and photocrosslinking on starch based materials mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, 60(2), 185-192.
- Forsell, P.; Hulleman, S.H.; Myllärinen, P.J.; Moates, G.K. y Parker, R. (1999). Ageing of rubbery thermoplastic barley and oat starches *Carbohydrate Polymers*, 39, 43-51.
- Forsell, P.; Lahtinen, R.; Lahelin, M. y Myllärinen, P. (2002). Oxygen permeability of amylose and amylopectin film. *Carbohydrate Polymers*, 47(2), 125-129.
- Forsyth, J.L.; Ring, S.G. y Noel, T.R. (2002). Characterization of Starch from Tubers of Yam Bean (*Pachyrhizus ahipa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 361–367.
- Frigant, C.; Rinaudo, M.; Gontard, N.; Guilbert, S. y Derradji, A.H. (1998). A biodegradable starch based coating to waterproof hydrophilic materials. *Starch/Stärke*, 50(7), 292-296.
- García, M.A., Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (2000). Microstructural Characterization of Plasticized Starch-Based Film, *Starch/Stärke*, 52(4), 118-124.
- García, M.A.; Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (1998). Plasticized Starch-Based Coatings To Improve Strawberry (*Fragaria × Ananassa*) Quality and Stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3758–3767.
- García, M.A.; Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (1999). Edible starch films and coatings characterization: scanning electron microscopy, water vapor transmission and gas permeabilities. *Scanning* 21(5), 348–353.

- García, N.; Famá, L.; Dufresne, A.; Aranguren, M. y Goyanes, S. (2009). A comparison between the properties of tuber and cereal starches. *Food Research International*, 42, 976-982.
- García, R. y Pérez, R. (2002). Dynamic atomic force microscopy methods. *Surface Science Reports*, 47, 197-301.
- Gaspar, M.; Benko, Z.; Dogossy, G.; Reczey, K. y Czigany, T. (2005). Reducing water absorption in compostable starch-based plastics. *Polymer Degradation and Stability*, 90(3), 563-569.
- Gaudin, S.; Lourdin, D.; Le Botlan, D.; Ilari, J.L. y Colonna, I. (1999). Plasticisation and mobility in starch-sorbitol films. *Journal of Cereal Science*, 29, 273-284.
- Geng, Z.; Zongdao, C. y Yimin, W. (2007). Physicochemical properties of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) and kudzu (*pueraria hirsute* matsum.) starches, *International Journal of Food Science and Technology*, 42(12), 1449–1455.
- Gerschenson, L.N. y Campos, C.A. (1995). Sorbic acid stability during processing and storage of high moisture foods. En: Barbosa Canovas, G. y Welti Chanes, J. (eds). *Food Preservation by Moisture Control*, Technomic Publishing, 761–790, Lancaster, USA.
- Giannakopoulos, A. y Guilbert, S. (1986). Sorbic acid diffusivity in relation to the composition of high and intermediate moisture model gels and foods. *International Journal of Food Science & Technology*, 21(4), 477–485.
- Gliemmo, M.F.; Campos, C.A. y Gerschenson, L.N. (2004). Effect of sweet humectants on stability and antimicrobial activity of sorbates. *Journal of Food Science*, 69(2), 39–44.
- Gontard, N.; Guilbert, S. y Cuq, B. (1992). Edible Wheat Gluten Films: Influence of the main Process Variables on Film Properties Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Science*, 57(1), 190-199.
- González, Z. y Pérez, E. (2002). Effect of acetylation on some properties of rice starch. *Starch/Stärke*, 54(3–4), 148–154.
- Grau, A. (1997). Ahipa, la legumbre tuberosa de los Andes. *Ciencia Hoy*, 7(42). Disponible en <http://www.ciencia-hoy.retina.ar/hoy42/ahipa2.htm>.
- Guan, Y.; Liu, X.; Zhang, Y. y Yao, K. (1998). Study of phase behavior on chitosan/viscose rayon blend film. *Journal of Applied Polymer Science*, 67(12), 1965–1972.
- Guerra-Della Valle, D.; Bello-Pérez, L.A.; González-Soto, R.A.; Solorza-Feria, J. y Árambula-Villa, G. (2008). Effect of reaction time on the acetylation of plantain starch. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 7(3), 283-291.

- Han, J.H. y Floros, J.D. (1998). Simulating diffusion model and determining diffusivity of potassium sorbate through plastics to develop antimicrobial packaging films. *Journal of Food Processing and Preservation*, 22(2), 107–122.
- Han, J.H. y Gennadios, A. (2005). Edible films and coatings: a review. En: *Innovations in food packagings*, Han, J.H. (ed.). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
- Hasan, S.; Deniz, S. y Murat, O. (2006). A Mathematical Model for Potassium Sorbate Diffusion Through Whey Protein Films. *Drying Technology: An International Journal*, 24(1), 21-29. Hasta acá
- Henning, S.; Metz, R. y Hammes, W.P. (1986). Studies on the mode of action of nisin. *International Journal of Food Microbiology*, 3(3), 121-134.
- Hermans, P.H. y Weidinger, A. (1948). Quantitative X-ray investigations on the crystallinity of cellulose fibres. A background analysis. *Journal of Applied Physics*, 19, 491–506.
- Hongsprabhas, P. y Israkarn, K. (2008). New insights on the characteristics of starch network. *Food Research International*, 41, 998-1006.
- Huang, D.P. y Rooney, L.W. (2001). Starches for snack foods. En: *Snack foods processing*, Lusas, E.W. y Rooney, L.W. (eds). Lancaster, Pennsylvania. Technomic Publishing Company, Inc.
- Huang, Z.Q.; Lu, J.P.; Li, X.H. y Tong, Z.F. (2007). Effect of mechanical activation on physicochemical properties and structure of cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 68(1), 128-135.
- Huang, C. (2009). Physicochemical, pasting and thermal properties of tuber starches as modified by guar gum and locust bean gum. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 50–57.
- Hung, P.V. y Morita, N. (2005). Thermal and rheological properties of dough and bread as affected by various cross-linked corn starch substitutions, *Starch/Stärke*, 57, 540–546.
- Iglesias, H.A.; Chirife, J. 1982. *Handbook of food isotherms*. Academic Press, Inc. New York.
- Ishigaki, T.; Sugano, W.; Nakanishi, A.; Tateda, M.; Ike, M. y Fijita, M. (2004). The degradability of biodegradable plastics in aerobic and anaerobic waste landfill model reactors. *Chemosphere*, 54, 225-233.
- Jacquet, C.; Saint Clement, C.; Brouille, F.; Catimel, B. y Rocourt, J. (1998). La listériose humaine en France en 1997 - Donnée de référence des listeria. En: *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire. Données de Centre National de Référence des Listeria*.
- Jae, H.J.; Lee, M. y Oh, J. (1994). Physicochemical properties of phosphorylated rice starch. *Kor. Soc. Food Nutr.*, 23, 244-250.

- Jeong, J.H.; Bae, J.S. y Oh, M.J. (1993). Physico-chemical properties of acetylated rice starches, *Korean Journal of Food Science and Technology*, 25, 123–129.
- Jiang, W.; Qiao, X. y Sun, K. (2006). Mechanical and thermal properties of thermoplastic acetylated starch/poly (ethylene-co-vinyl alcohol) blends. *Carbohydrate Polymers*, 65, 139–143.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. (2001). En: Compendium of food additive specifications. Hydroxypropyl starch, INS No. 1440. FAO Food and Nutrition Paper, 52, Add. 9. Genova.
- Jones, D. (1999). Dynamic mechanical analysis of polymeric systems of pharmaceutical and biomedical significance. *International Journal of Pharmaceutics*, 179, 167-178.
- Kacuráková, M. y Wilson, R.H. (2001). Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. *Carbohydrate Polymers*, 44, 291-303.
- Karam, L.B.; Ferrero, C.; Martino, M.N.; Zaritzky, N. E. y Grossmann, M.V.E. (2006). Thermal, microstructural and textural characterisation of gelatinised corn, cassava and yam starch blends. *International Journal of Food Science and Technology* 41(7), 805-812.
- Karam, L.B.; Grossmann, M.V.E.; Silva R.S.; Ferrero, C. y Zaritzky, N.E. (2005). Gel textural characteristics of corn, cassava and yam starch blends: A mixture surface response methodology approach. *Starch/Stärke*, 57(2), 62-70.
- Katz, F.R.; Furcsik, S.L.; Tenbarge, F.L.; Hauber, R.J. y Friedman, R.B. (1993). Behavior of starches derived from varieties of maize containing different genetic mutations: effect of starch type on granular morphology. *Carbohydrate Polymers*, 21, 133-136.
- Kaur, L.; Singh, N. y Singh, J. (2004). Factors influencing the properties of hydroxypropylated potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 55, 211–223.
- Khuri, A.I. y Cornell, J.A. (1987). *Response Surfaces, Designs and Analyses*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
- Kim, H.R.; Hermansson, A.M. y Eriksson, C.E. (1992). Structural characteristics of hydroxypropyl potato starch granules depending on their molar substitution. *Starch/Stärke* 44, 111-116.
- Kirby, A.R.; Gunning, A.P. y Morris V.J. (1998). Imaging polysaccharides by atomic force microscopy. *Biopolymers*, 38, 355–366.
- Kittiwut, T.; Dudsadee, U.; Kuakoon, P. y Yasuhito, T. (2003). A comparative study of edible canna (*Canna edulis*) starch from different cultivars. Part I. Chemical composition and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 53(3), 317-324.

- Kristo, E., Koutsoumanis, K.P. y Biliaderis, C.G. (2008). Thermal, mechanical and water vapor
- Kruiskamp, P.H.; Smits, A.L.; Van Soest, J.J. y Vliegenthart, J.F. (2001). The influence of plasticiser on molecular organisation in dry amylopectin measured by differential scanning calorimetry and solid state nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 26, 90-93.
- Lacroix, M. (2009). Mechanical and permeability properties of edible films and coatings for food and pharmaceutical applications. En: *Edible Films and Coatings for Food Applications*, Embuscado, M.E. y Huber, K.C. (eds.), Springer, New York, USA.
- Lafargue, D.; Lourdin, D. y Doublier, J.L. (2007). Film-forming properties of a modified starch/(j-carrageenan mixture in relation to its rheological behaviour. *Carbohydrate Polymers*, 70(1), 101–111.
- Lawal, O.S. (2004). Succinyl and acetyl Starch derivatives of a hybrid maize. Physicochemical characteristic and retrogradation properties monitored by DSC. *Carbohydrate Research*, 339, 2673-2682.
- Lazaridou, A. y Biliaderis, C. (2002). Thermophysical properties of chitosan. Chitosan-starch and chitosan-pullulan films near the glass transition. *Carbohydrate Polymers*, 48, 179 – 190.
- Leonel, M.; Sarmiento, S.B.; Cereda, M.P. y Camara, F.L. (2003). Extração e caracterização de amido de jacatupé (*Pachyrhizus ahipa*). *Ciencia e Tecnologia Alimentaria Campinas*, 23, 362–365.
- Li, Y.H.; Liu, B.; Zhao, Z.B. y Bai, F.W. (2006) Optimized culture medium and fermentation conditions for lipid production by *Rhodospiridium toruloides*. *Chinese Journal of Biotechnology*, 22(4), 650–656.
- Liu, H.; Ramsden, L. y Corke, H. (1999). Physical properties and enzymatic digestibility of hydroxypropylated ae, wx and normal maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 40, 175-182.
- Liu, Z. (2005). Edible films and coatings from starches. En: *Innovations in food packaging*, Jung H. Han (ed). Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Liu, Z. y Han, J.H. (2005). Film forming characteristics of starches. *Journal of Food Science*, 70(1), 31–36.
- López, O., García, M., Zaritzky, N. (2008). Film forming capacity of chemically modified corn starches. *Carbohydrate Polymers*, 73, 573–581.

- López, O.V.; Lecot, C.J.; Zaritzky, N.E. y García, M.A. (2011). Biodegradable packages development from starch based heat sealable films. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 254-263.
- López, O.V.; Viña, S. Z.; Pachas, N.A.; Sisterna, M.N.; Rohatsch, P.H.; Mugridge, A.; Fassola, H.E. y García, M.A. (2010). Composition and food properties of *Pachyrhizus ahipa* roots and starch. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 223–233.
- Lourdin, D.; Bizot, H. y Colonna, P. (1997). Antiplasticization in starch glycerol films. *Journal of Applied Polymer Science*, 63, 1047-1053.
- Luengwilai, K. y Beckles, D.M. (2009). Starch granules in tomato fruit show a complex pattern of degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8480-8487.
- Ma, X.; Chang, P. ; Yu, J. y Stumborg, M. (2009). Properties of biodegradable citric acid-modified granular starch/thermoplastic pea starch composites. *Carbohydrate Polymers*, 75, 1–8.
- Ma, X.; Yu, J.; He, K. y Wang, N. (2007). The effects of different plasticizers on the properties of thermoplastic starch as solid polymer electrolytes, *Macromolecular Materials and Engineering*, 292(4), 503–510.
- Ma, X. y Xu J. (2004). The plasticizers containing amide groups for thermoplastic starch, *Carbohydrate Polymers*, 57(2), 197-203.
- MacGregor, A.W. y Fincher, G.B. (1993). Carbohydrates of the barley grain. En: *Barley: Chemistry and Technology*, MacGregor, A.W.; Bhatti, R.S. y St. Paul, M.N (eds.).
- Mali, S.; Grossmann, M.; García, M.; Martino, M. y Zaritzky, N. (2002). Microstructural characterization of yam starch films. *Carbohydrate Polymers*, 50, 379–386.
- Mali, S.; Karam, L.B.; Pereira Ramos, L. y Grossmann, M.V.E. (2004). Relationships among the composition and physicochemical properties of starches with the characteristics of their films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7720-7725.
- Mali, S.; Sakanaka, L.S.; Yamashita, F. y Grossmann, M.V.E. (2005). Water Sorption and Mechanical Properties of Cassava Starch Films and their Relation to Plasticizing Effect. *Carbohydrate Polymers*, 60, 283-289.
- Mano, E. y Mendes, L. (1999). *Introdução a Polímeros* (2nd ed.). En: Edgard Blücher (ed). San Pablo, Brasil.
- Mano, J.F.; Koniarova, D.; Reis, R.L. (2003). Thermal Properties of Thermoplastic Starch/Synthetic Polymer Blends with Potential Biomedical Applicability. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 14, 127-135.

- Mater Bi[®]; 2007. <http://www.promotions.org.uk/biodegradableproduc.htm>.
- Mathew, A. y Dufresne, A. (2002). Plasticized waxy maize starch: Effect of polyols and relative humidity on material properties. *Biomacromolecules*, 3, 1101-1108.
- Matos, M.C.; Matos, A. A. y Vieira da Silva, J.B. (1998). Effect of manual and chemical flower
- Mélo, E.A.; Stamford, T.L.; Silva, M.P., Krieger, N. y Stamford, N.P. (2003). Functional properties of yam bean (*Pachyrhizus erosus*) starch. *Bioresource Technology* 89, 103-106.
- Merchán, J.P.; Ballesteros, D.; Jiménez, I.C.; Medina, J.A.; Álvarez, O. (2009). Estudio de la biodegradación aerobia de almidón termoplástico (TPS). Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales; S1(1), 39-44.
- Miles, M.J.; Morris, V.J. y Ring, S.G. (1985 b). Gelation of amylose. *Carbohydrate Research*, 135, 257-269.
- Miles, M.J.; Morris, V.J.; Oxford, P.D. y Ring, S.G. (1985 a). The roles of amylose and amylopectine in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate Research*, 135, 271-281.
- Miller, B.S.; Derby, R.I. y Trimbo, H.B (1973). A pictorial explanation for the increase in viscosity of a heated wheat starch water suspension. *Cereal Chemistry*, 50, 271-275.
- Miller, K.S. y Krochta, J.M. (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 8(7), 228-237.
- Morrison, W. y Laignelet, B. (1983). An improve procedure for determining apparence and total amylose in cereal and other starches. *Journal of Cereal Science*, 1, 9-20.
- Müller, C.M.; Laurindo, J.B. y Yamashita, F. (2009). Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and watervapor barrier of starch-based films. *Food Hydrocolloids*, 23, 1328-1333.
- Myllarinen, P.; Partanen, R.; Seppala, J. y Forssell, P. (2002). Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films. *Carbohydrate Polymers*, 50, 355-361.
- Nashed, G.; Rutgers, P.G. y Sopade, P.A. (2003). The plasticization effect of poliol and water on the gelatinization of wheat starch. *Starch/Stärke*, 55(3-4), 131-137.
- Nataraj, S.; Schomäcker, R.; Kraume, M.; Mishra, I.M. y Drews, A. (2008). Analyses of polysaccharide fouling mechanisms during crossflow membrane filtration. *Journal of Membrane Science*, 308, 152–161.
- Naumann, D. (2000). Infrared spectroscopy in microbiology. En: R.A. Meyer (ed), *Encyclopedia of analytical chemistry*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 102–131.

- Navarro, A.S.; Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (1995). Effect of freezing rate on the rheological behavior of systems based on starch and lipid phase. *Journal of Food Engineering*, 26, 481-495.
- Novamont®. (2007). TPS for Industrial Non-Food Uses. <http://www.biomatnet.org>
- Ogawa, K.; Hirai, I.; Shimasaki, C.; Yoshimura, T.; Ono, S. y Rengakuji, S. (1999). Simple determination of degree of substitution for starch acetate. *Bulletin of the Chemistry Society of Japan*, 72, 2785-2790.
- Olkku, J. y Rha, C. (1978). Gelatinisation of starch and wheat flour starch—A review. *Food Chemistry*, 3(4), 293-317.
- Orhan, Y. y Büyükgüngör, H. (2000). Enhancement of biodegradability of disposable polyethylene in controlled biological soil. *International biodeterioration & biodegradation*, 45, 49-55.
- Orts, J.W.; Geoffrey, A.R.; Nobes, G.A.; Glenn, G.M.; Gray, G.M.; Imam, S. y Chiou, B. (2007). Blends of starch with ethylene vinyl alcohol copolymers: effect of water, glycerol, and amino acids as plasticizers, *Polymers for Advanced Technology*, 18(8), 629-635.
- Osborn, K. y Jenkins, W. (1992). *Plastic films: technology and packaging applications*. Technomic Publishing Co. Inc., PA, USA.
- Ott, M. y Hester, E.E. (1965). Gel formation as related to concentration of amylose and degree of starch swelling. *Cereal Chemistry*, 42, 476-484.
- Ottenhof, M.A. (2003). A multi-technique study of the retrogradation of concentrated starch system. PhD. Thesis. Division of Food Science. University of Nottingham, UK.
- Oxford, P.; Parker, R. y Ring, S. (1989). Effect of water as a diluent on the glass transition behaviour of malto-oligosaccharides, amylase and amylopectin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 11, 91-96.
- Ozdemir, M. y Floros, J.D. (2001). Analysis and modeling of potassium sorbate diffusion through edible whey coating films. *Journal of Food Engineering*, 47(2), 149-155.
- Padgett, T.; Han I.Y. y Dawson, P.L. (1998). Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. *Journal Food Protection*, 61, 1330-1335.
- 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 Polymers*, 58, 475-481.

- Pascat B. (1986) Study of some factors affecting permeability. En: Food packaging and preservation. Theory and Practice. M Mathlouthi (ed). Elsevier Applied Science Pub. London.
- Peppas, N. A.; Bures, P.; Leobandung, W. y Ichikawa, H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 27-46.
- Perdomo, J.; Cova, A.; Sandoval, A.J.; García, L.; Laredo, E. y Müller, A.J. (2009). Glass transition temperatures and water sorption isotherms of cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 76, 305–313.
- Pérez, E.; Breene, W. y Bahanasey, Y. (1998). Variation in the gelatinization profiles of cassava, sagu and arrowroot native starches as measured by different thermal and mechanical methods. *Starch/Stärke*, 50, 70-72.
- Petersson, M. y Standing, M. (2005). Water vapour permeability and mechanical properties of mixed starch-monoglyceride films and effect of film forming conditions. *Food Hydrocolloids*, 19(1), 123–132.
- Piermaria, J.; Bosch, A.; Pinotti, A.; Yantorno, O.; Garcia, M.A. y Abraham, A.G. (2011). Kefiran films plasticized with sugars and polyols: water vapor barrier and mechanical properties in relation to their microstructure analyzed by ATR/FT-IR spectroscopy. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1261-126.
- Piermaria, J.; Pinotti, A.; García, M.A. y Abraham, A.G. (2009). Films based on kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. Development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 23, 684-690.
- Piringer, O. (2000). Permeation of gases, water vapor and volatile organic compounds. En *Plastic Packaging Materials for Food: Barrier Function. Mass Transport, Quality Assurance and Legislation*, Baner A.L. (ed.). Wiley-VCH: Weinheim.
- Piyachomkwan, K.; Chotineeranat, S.; Kijkhunasatian, C.; Tonwitawat, R.; Prammanee, S.; Oates, C.G. y Sriroth, K. (2002). Edible canna (*Canna edulis*) as a complementary starch source to cassava for the starch industry. *Industrial Crops and Products*, 16, 11–21.
- Possart, W. y Deckhoff, S. (1999). Adhesion mechanism in a cyanurate prepolymer on silicon and on aluminium. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 19, 425-434.
- Pranoto, Y., Rakshit, S.K. y Salokhe, V.M. (2005). Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT - Food Science and Technology*, 38, 859-865.

- Quattara, B.; Simard, R.E.; Piette, G.; Begin, A. y Holley, R.A. (2000). Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. *Journal of Food Science*, 65, 768–773.
- Raghavan, D.; Gu, X.; Nguyen, T.; VanLandingham, M. y Karim, A. (2000). Mapping Polymer Heterogeneity Using Atomic Force Microscopy Phase Imaging and Nanoscale Indentation. *Macromolecules*, 33, 2573-2583.
- Reddy, N. y Yang, Y. (2010). Non-traditional lightweight polypropylene composites reinforced with milkweed floss. *Polymer Internacional*, 59(7), 884–890.
- Redl, A.; Gontard, N. y Guilbert, S. (1996). Determination of sorbic acid diffusivity in edible wheat gluten and lipid film. *Journal of Food Science*, 61, 116–120.
- Reps, A.; Drychowski, L.J.; Tomasik, J. y Wi niewska, K. (2002). Natamycin in ripening cheese. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1, 243–247.
- Rhim, J.W. (2004). Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *LWT-Food Science and Technology*, 37(3), 323–330.
- Ring, S.G. y Stainsby, G. (1983). Filler reinforcement of gels. *Prog. Fd. Nutr. Sci.*, 6, 323-329.
- Ring, S.G.; Colonna, P.; Iánsón, K.J.; Kalichevsky, M.T.; Miles, M.J.; Morris, V.J. y Oxford, P.D. (1987). The gelation and crystallization of amylopectin. *Carbohydr. Res.*, 162: 277-293.
- Rivero, S.; García, M. y Pinotti, A. (2010). Correlation between structural, barrier thermal and mechanical properties of plasticized gelatin film. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(2), 369-375.
- Rodríguez-Hernández, A.I.; Tecante, A. y Doublier, J.L. (2001). Viscoelastic behavior of waxy maize starch-gellan mixtures under small amplitude oscillatory shear. En: *Proceedings of the Eighth International Congress on Engineering and Food*, (J. Welty-Chanes, G.V. Barbosa-Cánovas y J.M. Aguilera, eds), 509-513.
- Romero-Bastida, C.A.; Bello-Pérez, L.A.; García, M.A.; Martino, M.N.; Solorza-Feria, J. y Zaritzky, N.E. (2005). Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. *Carbohydrate Polymers*, 60(2), 235-244.
- Roos, Y.H. (1995). *Phase Transitions in Foods*. En: *Food Science and Technology*. Academic Press.
- Saartrat, S.; Puttanlek, C.; Rungsardthong, V. y Uttapap, D. (2005). Paste and gel properties of low-substituted acetylated canna starches. *Carbohydrate Polymers*, 61, 211–221.

- Salgado, P.R.; Molina Ortiz, S.E.; Petruccelli, S. y Mauri, A.N. (2010). Biodegradable sunflower protein films naturally activated with antioxidant compounds. *Food Hydrocolloids*, 24(5), 525-533.
- Salleh, E.; Muhamad, I.I. y Khairuddin, N. (2009). Structural Characterization and Physical Properties of Antimicrobials (AM) Starch-Based Films. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 55, 432-440.
- Sandhu, S.K. y Singh, N. (2007). Some properties of corn starches II. Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chemistry*, 101, 1499–1507.
- Sarantópoulos C.; de Oliveira, L.; Padula, M.; Coltro, L.; Alves, R. y Correa García, E. (2002). Embalagens plásticas flexíveis, Principais polímeros e avaliação de propriedades, Campinas: CETEA/ITAL.
- Seidenstücker, T. y Fritz, H.G. (1999). Compounding procedure, processing behavior and property profiles of polymeric blends on thermoplastic poly (ester-urethanes). *Starch/Stärke*, 51(2-3), 93-102.
- Shamekin, S.; Myllärihen, P.; Poutanen K. y Biosell, P. (2002). Film formation properties of potato starch hydrolysates. *Starch/Stärke*, 54, 20-24.
- Shen, X.L.; Wu, J.M.; Chen, Y. 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.
- Shen, Y. y Wu, P. (2003). Two-dimensional ATR-FTIR spectroscopic investigation on water diffusion in polypropylene film: water bending vibration. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107, 4224–4226.
- Shi, R.; Zhang, Z.Z.; Liu, Q.Y.; Han, Y.M.; Zhang, L.Q. y Chen, D.F. (2007). Characterization of citric acid/glycerol co-plasticized thermoplastic starch prepared by melt blending. *Carbohydrate Polymers*, 69, 748–755.
- Shogren, R.L.; Fanta, G.F. y Doane, W.M. (1993). Development of starch based plastics – A reexamination of selected polymer systems in historical perspective. *Starch/Stärke*, 45, 276–280.
- Siepmann, J. y Siepmann, F. (2008). Mathematical modeling of drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 364, 328-343.
- Singh, J.; Kaur, L. y McCarthy, O.J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids* 21, 1-22.

- Singh, N.; Belton, P.S.; Georget, D.M. (2009). The effects of iodine on kidney bean starch: Films and pasting properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45, 116-119.
- Singh, N.; Chawla, D. y Singh, J. (2004). Influence of acetic anhydride on physicochemical, morphological and thermal properties of corn and potato starch. *Food Chemistry*, 86, 601-608.
- Siroth, K.; Santisopasri, V.; Petchalanuwat, C.; Kurotjanawong, K.; Piyachomkwan, K. y Oates, C.G. (1999). Cassava starch granule structure – function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 38, 161-170.
- Skrabanja, V.; Liljerberg, H.G.; Hedley, C.L.; Kreft, I. y Björck. I.M. (1999). Influence of genotype and processing on the in vitro rate of starch hydrolysis and resistant starch formation in peas (*Pisum sativum* L). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2033-2039.
- Smits, A.L.; Kruiskamp, P.H.; van Soest, J.J. y Vliegthart, J.F. (2003). The influence of various small plasticisers and maltooligosaccharides on the retrogradation of (partly) starch. *Carbohydrate Polymers*, 51(4), 417–424.
- Sobral, P.; Menegalli F.; Hubinger, M. y Roques, M. (2001). Mechanical, water vapour barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15, 423 – 432.
- Sodhi, N.S. y Singh, N. (2005). Characteristics of acetylated starches prepared using starches separated from different rice starch. *Journal of Food Engineering*, 70, 117–127.
- Sofos, J.N. y Busta, F.F. (1983). Sorbates. En: *Antimicrobials in Foods*, Branen, A.L. y Davidson, P.M. (eds). Dekker, New York.
- Sothornvit, R. y Krochta, J. (2005). Plasticizers in edible films and coatings. En: *Innovations in food packagings*, Han, J.H. (ed). Amsterdam, The Netherlands, Elsevier.
- Spiess, W. y Wolf, W. (1983). The results of the COST 90 project on water activity. En: *Physical Properties of Foods*, Jowitt, R. (ed). Applied Science Publisher, London.
- Srinivasa, P.C.; Ramesh, M.N. y Tharanathan, R.N. (2007). Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 21, 1113-1122.
- Steffe, J.F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*, segunda edición. Freeman Press, USA.
- Stephens, R.F. (2006). Understanding the Processing of Thermoplastic Starch. *Macromolecular Symposia*, 245-246(1), 571–577.

- Swinkels, J.J. (1985). Composition and Properties of Commercial Native Starches. *Starch/Stärke*, 37(1), 1–5.
- Synytysya, A.; Copikova, J.; Matejka, P. y Machovic, V. (2003). Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. *Carbohydrate Polymers*, 54, 97–106.
- Tarvainen, M.; Peltonen, S.; Mikkonen, H.; Elovaara, M.; Tuunainen, M.; Paronen, R.P. (2004). Aqueous starch acetate dispersions as a novel coating material for controlled release products. *Journal of Controlled Release*, 96, 179–191.
- Tarvainen, M.; Sutinen, R.; Peltonen, S.; Tiihonen, P. y Paronen, P. (2002). Starch acetate. A novel film-forming polymer for pharmaceutical coatings. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91, 282–289.
- Tharanathan, R. (2003). Biodegradable Films and composite coatings: past, present and future. *Critical Review in Food Science and Technology*, 14, 71-78.
- Thiré, M.S.; Simão, A.R. y Andrade, T.C. (2003). High resolution imaging of the microstructure of maize starch films. *Carbohydrate Polymers*, 54(2), 149-158.
- Thomas, D. J. y Atwell, W. (1999). Starch Modifications. En: *Starches*. Eagen Press Handbook. USA.
- Thomazine, M.; Carvalho, R. y Sobral, P. (2005). Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. *Journal of Food Science*, 70, 172-176.
- Thunwall, M.; Kuthanová, V.; Boldizar, A. y Rigdahl, M. (2008). Film blowing of thermoplastic starch. *Carbohydrate Polymers*, 71(4), 583-590.
- Tsai, M.L.; Li, C.F. y Lii, C.Y. (1997). Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. *Cereal Chemistry*, 74 (6), 750-757.
- Tsiapouris, A. y Linke, L. (2002). Water vapour sorption determination of starch based porous packaging materials. *Starch/Stärke*, 52(2-3), 53-57.
- Tunc, S.; Angellier H.; Cahyana, Y.; Chalier, P.; Gontard, N. y Gastaldi, E. (2007). Functional properties of wheat gluten/montmorillonite nanocomposite films processed by casting. *Journal of Membrane Science*, 289(1-2), 159-168.
- Ulloa, J.A.; Guatemala, G.M.; Arriola, E.; Escalona, H.B. y Díaz, L. (2009). Estimation of the diffusivities of sodium chloride, potassium sorbate and sodium bisulphite in mango slices processed by hurdle technology. *Journal of Food Engineering*, 91, 211–216.
- Van den Berg, C. (1985). Water Activity. En: *Concentration and Drying of Foods*, McCarthy, Q. (ed). Elsevier Applied Science Publisher, London.

- Van Soest, J.J. y Essers, P. (1997). Influence of amylose/amylopectin ratio on properties of extruded starch plastic sheets. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 34(9), 1665-1689.
- Van Soest, J.J.; Hulleman, S.H.; de Wit, D. y Vliegenthart J.F. (1996). Changes in the mechanical properties of thermoplastic potato starch in relation with changes in B-type crystallinity, *Carbohydrate Polymers*, 29(3), 225-232.
- Var, I.; Erginkaya, Z.; Güven, M. y Kabak, B. (2006). Effects of antifungal agent and packaging material on microflora of Kashar cheese during storage period. *Food Control* 17(2), 132–136.
- Vojdani, F. y Torres, J. A. (1989). Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coatings: effect of fatty acids. *Journal of Food Processing and Preservation*, 13, 417–430.
- Wang, N.; Yu, J.; Chang, P. y Ma, X. (2008). Influence of formamide and water on the properties of thermoplastic starch/poly(lactic acid) blends *Carbohydrate Polymers*, 71(1-5), 109-118.
- Weast, R.C. y Astle, M.J. (1983). *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 63rd ed. CRC
- Wesslén, K.B. y Wesslén, B. (2002). Synthesis of amphiphilic amylase and starch derivatives, *Carbohydrate Polymers*, 47(4), 303–311.
- Whistler, R.L.; BeMiller, J.N. y Paschall, E.F. (1984). *Starch: chemistry and technology*. Academic Press, Inc.
- Wilhelm, H.; Sierakowski, M.; Souza, G. y Wypych, F. (2003). Starch films reinforced with mineral clay. *Carbohydrate Polymers*, 52, 101–110.
- Wilpiszewska, K. y Szychaj, T. (2007). Chemical modification of starch with hexamethylene diisocyanate derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 70(3), 334-340.
- Wolf, W.; Spiess, W.E. y Jung, G. (1985). Standardization of isotherm measurements. En: Simatos, D. y Multon, J.L. (eds) *Properties of Water in Foods: In Relation to Food Quality and Stability*. Dordrecht, The Netherlands, Martinus Nijhoff Publishers.
- Woolnough, J.W.; Monro, J.A.; Brennan, C.S. y Bird, A.R. (2008). Simulating human carbohydrate digestion in vitro: a review of methods and the need for standardization. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(12), 2245–2256.
- Wu, C. (2003). Physical properties and biodegradability of maleated-polycaprolactone/starch composite. *Polymer Degradation and Stability*, 80, 127–134.
- Wurzburg, O. B. (1986). *Modified starches: Properties and uses*. Boca Raton, FL: CRC Press.

- Yin, Y.L.; Yao, K.D.; Cheng, G.X. y Ma, J.B. (1999). Properties of Polyelectrolyte Complex Films of Chitosan and Gelatin. *Polymer International*, 48, 429-433.
- Zhai, J.; Chen, H.; Colla, E. y Wu, T.B. (2003). Direct current field adjustable ferroelectric behaviour in (Pb, Nb)(Zr, Sn, Ti)O₃ antiferroelectric thin films. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 15, 963.
- Zhang, Y. y Han, J. (2006). Mechanical and thermal characteristics of pea starch films plasticized with monosaccharides and polyols. *Journal of Food Science*, 71, 109-118.
- Zhou, J.; Ren, R.; Tong, J.; Xie, L. y Liu, Z. (2009). Surface esterification of corn starch films: Reaction with dodecyl succinic anhydride. *Carbohydrate Polymers*, 78(4), 888-893.
- Zobel, H.F. (1988). Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch/Stärke*, 40, 1-7.